

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Helianthus annuus L.'DA

SIRASAL YAPRAK SENESENSİNİN DÜZENİ ÜZERİNE

MİNERAL BESİNLERİN VE BÜYÜME REGÜLATÖRLERİNİN

ETKİLERİ

66297

DOKTORA TEZİ

Serap SAĞLAM-ÇAĞ

Biyoloji Anabilim Dalı

(Bitki Fizyolojisi Programı)

Danışman : Prof. Dr. Yener OKATAN

KASIM-1997

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİZASYON MERKEZİ

ÖNSÖZ

Senesens ile ilgili literatür bilgileri gözden geçirildiği zaman, sırasal yaprak senesensinin düzeni üzerine yapılan incelemelerin, bu düzeni açıklayıcı kesin bilgilerden uzak olduğu görülmektedir. Bu nedenle, bu konu üzerine yapılacak birçok araştırmaya ihtiyaç vardır.

Bu konunun seçilmesi ve büyük bir özveriyle çalışmaların yürütülmesi sırasında hiçbir fedakarlığı esirgemeyen, bilimde daima titiz ve güvenilir olmayı öğreten çok değerli sayın hocam Prof. Dr. Yener OKATAN'a teşekkürlerimi sunuyorum. Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Nurten ÖNDER'e, anabilim dalındaki çalışmalarımı yürütebilmem için sağladığı destekten dolayı teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamın her aşamasında büyük destek sağlayan İ. Ü. Araştırma Fonuna teşekkür ve şükranlarımı sunuyorum. Tezimin bir bölümünü destekleyen İ. Ü. Fen Fakültesi Radyobiyojoloji ve Sağlık Fiziği Araştırma ve Uygulama Merkezine teşekkür ediyorum. Ayrıca, Biyoloji Bölümü Radyobiyojoloji Anabilim Dalında çalışmalarına izin veren Prof. Dr. Tulay ENGİZEK'e ve emeği geçen Biyolog Süreyya GÜNEBAKAN' a ve yardımını esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkürü borç biliyorum.

Yoğun çalışmalarım sırasında çocuklarımla bakımıyla ilgilenerek bana en büyük desteği sağlayan çok sevdiğim anneme ve babama; tüm maddi ve manevi imkanlarını sunan ve daima yanımda olan sevgili eşime; çalışmalarım nedeniyle yokluğumu, küçük yaşta anlayışla karşılayan biricik oğluma ve kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZ.....	IV
ABSTRACT.....	V
I. GİRİŞ.....	1
I. 1. Senesensin Tanımı.....	1
I. 2. Senesens Sırasında Hücrelerde Meydana Gelen Metabolik Değişimler.....	2
I. 3. Senesensin Çeşitleri ve Meydana Geliş Biçimleri.....	4
I. 4. Senesensin Meydana Gelişi Hakkında İleri Sürülen Başlıca Hipotezler	4
I. 5. Senesens Sinyalinin Özelliklerini Ortaya Koyan Veriler.....	8
I. 6. Senesensin Bitki Büyüme ve Gelişme Hormonları ile İlişkisi.....	9
I. 7. Tezin Konusu ve Amacı.....	10
II. MATERYAL VE METOD.....	12
II. 1. Bitkisel Materyal	12
II. 2. Fidelerin Yetiştirilmesi.....	13
II. 3. Çinko Miktarının Tayini	16
II. 4. Taze ve Kuru Ağırlığın Ölçülmesi ve Taze Materyaldeki Su % sinin Saptanması	17
II. 5. Senesens Derecesinin Tayini	18
II. 6. Klorofil Tayini	20
II. 7. Total Azot Tayini	20
II. 8. Bitkilere Sitokinin Verilmesi.....	22

II. 9. Dekapite Edilen Bitkilere Kesik Uçtan IAA Verilmesi.....	22
III. 10. Bitkilere Tepe Tomurcuğundan ve Yapraklardan ¹⁴ C-IAA Verilmesi.....	23
II. 11. Sonuçların İstatistik Değerlendirilmesi.....	23
III. BULGULAR.....	25
IV. 1. Senesensten Önceki Dönemde Kotiledonlardaki Kuru Madde ve Klorofil Miktarındaki Değişimler.....	25
III. 2. Mineral Beslenmenin Kuru Ağırlık Bazında Büyümeye Etkisi.....	29
III. 3. Mineral Beslenme Eksikliğinin Kotiledon Senesensi Üzerine Etkisi.....	32
III. 4. Büyüme Regülatörlerinin Kotiledon Senesensi Üzerine Etkisi.....	43
III. 4. 1. Senesens Sinyalinin Endogen Oksin Olduğu Varsayımına Göre Düzenlenen Deneyler.....	43
III. 4. 2. IAA'nın Senesens Sinyali Olması ile İlgili Varsayımın, Eksogen Oksin Uygulanarak Denenmesi.....	46
III. 4. 3. Gövde Ucundan Verilen ¹⁴ C-IAA'nın Bitkideki Dağılımı	49
III. 4. 4. Sitokinin Eksikliğinin Senesense Neden Olduğu Varsayımına Göre Düzenlenen Deneyler.....	55
IV. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	60
V. TÜRKÇE ve İNGİLİZCE ÖZETLER.....	68
V.1. ÖZET.....	68
V.2. SUMMARY.....	71
VI. KAYNAKLAR.....	74
VII. ÖZGEÇMİŞ	86

ÖZ

Helianthus annuus L.' DA SIRASAL YAPRAK SENESENSİNİN DÜZENİ
ÜZERİNE MİNERAL BESİNLERİN VE BÜYÜME REGÜLATÖRLERİNİN
ETKİLERİ

Sırasal yaprak senesensinin düzeni üzerine mineral maddelerin ve bitki büyüme regülatörlerinin etkileri, *Helianthus annuus* fidelerinde incelendi. Seyreltilmiş Hoagland çözeltilerinde yetiştirilen fidelerde senesensin hızlandığı gözlemlendi. Büyüme hormonlarından sitokininlerin senesensi engellediği, indol asetik asitin ise hızlandığı görüldü. Bu gözlemler total azot ve total klorofil tayinleriyle doğrulandı. ¹⁴C - IAA ile yapılan deneyler, IAA nın gövde ucundan doğrudan köklere taşındığını gösterdi. Sitokinin oksidazın allosterik aktivatörü olduğu bilinen IAA nın, köklerdeki sitokinin oksidasyonunu hızlandırdığı ve sitokinin yetersizliği nedeniyle de kotiledonlarda ve yaşlı yapraklarda senesensin meydana geldiği tartışıldı.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF MINERAL NUTRIENTS AND GROWTH REGULATORS
ON THE MECHANISM OF SEQUENTIAL LEAF SENESCENCE IN
Helianthus annuus L.

The effects of mineral nutrients and plant growth regulators on the mechanism of sequential leaf senescence in the seedlings of *Helianthus annuus* were investigated. Senescence increased in seedlings which were grown in diluted Hoagland solutions, due to nitrogen deficiency for cytokinin synthesis. It has been confirmed that cytokinins, among the growth hormones, inhibited senescence, whereas indolacetic acid increased it. These observations were verified by the determinations of total nitrogen and total chlorophyll in the cotyledons. Experiments done with ^{14}C -IAA have shown that, IAA from shoot apex was transported directly to the roots. Since IAA is known as an allosteric activators of cytokinin oxidase, it has been discussed if the IAA increases the cytokinin oxidations in the roots, and then senescence takes place in the cotyledones and older leaves, due to cytokinin deficiency.

I. GİRİŞ

I. 1. Senesensin Tanımı

Hücrelerin gelişme sürecinde, sonu ölümle biten bir aşama vardır. Söz konusu ölüm, çeşitli nedenlerden dolayı meydana gelebilir. Ancak, sebep-sonuç ilişkileri bağlamında incelendiği zaman, botanik literatüründe senesens; zooloji literatüründe ise apoptosis olarak tanımlanan sürecin, diğer ölüm süreçlerinden, fizyolojik anlamda farklı olduğu görülür. Gerek senesens gerekse apoptosis, programlanmış ölüm süreci olarak tarif edilmiştir (Noodén ve Leopold 1988; Sanders ve Wride 1995). Her ne kadar hücrelerde ölümle sonuçlanan diğer bazı olayların senesens sayılıp sayılmayacağı tartışılmaktaysa da (Gan ve Amasino, 1997), nekrosis gibi ölümle sonuçlanan olaylarda özel bir program olmadığı için bu ve bunun gibi patolojik nedenlere bağlı ölüm olaylarının senesens ile özdeş sayılamayacağı kabul edilmiştir (Sanders ve Wride, 1995). Canlılarda meydana gelen ve sonu ölümle biten diğer bir olay ise yaşlanmadır. Yaşlanmanın da belli bir genetik programa bağlı olmadan meydana gelen pasif bir süreç olduğunu; o nedenle de senesens ile özdeş sayılamayacağını belirten araştırmacılar vardır (Leopold, 1975). Öte yandan, senesens sırasında meydana gelen tüm biyokimyasal olayların, gen ekspresyonuna dayalı olduğu ileri sürülmüştür (Guamét ve ark., 1990; Thomas ve Villiers, 1996; Bleeker ve Patterson, 1997). Tetraploid mutant bitkilerde, senesensi geciktiren genin iki katına çıkmasıyla, senesensin sınırsız olarak ertelenebilmiş olması (Thimann, 1978), senesens-gen ilişkisini ortaya koyması bakımından ilginç bir örnektir.

Senesens ile ilgili ilk gözlemlerin, ondokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında ve yirminci yüzyılın ilk yarısında bazı araştırmacılar (Hildebrand, 1882; Molisch, 1928) tarafından yapılmaya başlandığı belirtilmektedir (Lindoo ve Noodén, 1976; Noodén ve Leopold, 1988). Bu konuya 1960'lı yıllardan itibaren çok sayıda araştırmacının ilgi duymasına ve yayınlanan makale sayısının büyük bir hızla artmasına karşın, senesens sürecinin fizyolojik düzeni henüz yeteri kadar aydınlatılabilmiş değildir. Çünkü, senesens sürecinde gözlenen olaylar, son derece birbirine bağımlı ve birbirini örten programlara göre meydana gelmektedir. Belli hücrelerde senesensin meydana gelmesine neden olan bir program, sadece o hücrelerin ölmesinden değil, aynı zamanda bitkinin başka bir organının gelişmesinden de sorumlu olduğu izlenimini vermektedir. Örneğin, sırasal yaprak senesensinde yaprakların ölümüne karşılık kök ve gövde ucunun büyümesi; monokarpik senesense bitkinin ölümüne karşılık tohumların gelişmesi ve besin depo etmesi gibi olaylardan hangisinin sebep hangisinin sonuç olduğu ve ikisi arasındaki haberleşmenin nasıl bir düzenle sağlandığı halen tartışılmaktadır.

I. 2. Senesens Sırasında Hücrelerde Meydana Gelen Metabolik Değişimler

Kesildikten sonra nemli bir ortamda karanlıkta bırakılan yulaf yapraklarında yapılan biyokimyasal incelemeler, senesensin başlamasından önce proteazların sentez edildiğini göstermiştir (Martin ve Thimann, 1972). Çeşitli bitkilerin yapraklarında meydana gelen senesens sırasında protoplazmik yapıların, özellikle zarların ve zar proteinlerinin yıkılmaya başladığı (Krul, 1974; Peterson ve Huffaker, 1975; Storey ve Beevers, 1977; Peoples ve Dalling, 1978), yaprak hücrelerinde klorofilin yıkıldığı

(Thomas ve Stoddart, 1975; Okatan ve ark., 1978; Peoples ve ark., 1980; Davies ve ark., 1990; Rodríguez ve Valpuesta, 1996) ve lipid yıkımının hızlandığı (Draper, 1969; Harwood ve ark., 1982) birçok araştırmacı tarafından saptanmıştır. Senesens sırasında, kloroplastlarda beliren osmiyofilik cisimlerin, tilakoit zarın yıkılmasından meydana gelen lipid damlalarından ibaret oldukları da belirtilmiştir (Noodén ve Leopold 1988c).

Senesens sürecinde kloroplastlar yıkıldığı için fotosentez veriminin ve fotofosforilasyonun giderek azaldığı da saptanmıştır (Wareing ve Phillips, 1981). Bununla beraber, gerek proteazların sentez edilmesi ve gerekse bazı metabolitlerin yapraklardan (source) depo organlarına ya da substrat olarak kullanılacakları organlara (sink) taşınması için enerji gerektiği bilinmektedir. Senesensin başlamasıyla birlikte önce kloroplastların yıkılmasına karşın, mitokondrilerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korumaya devam etmesi (Wareing ve Phillips, 1981; Satler ve Thimann, 1981), senesens sürecinde kullanılan enerjinin sağlanabilmesi için mitokondrilere gerek duyulduğunu göstermektedir. Senesensin en son aşamasında, hücre solunumunda klimakterik bir artışın meydana gelmesi de bu görüşü teyit etmektedir (Satler ve Thimann, 1981; Wareing ve Phillips, 1981).

Senesens sırasında, yapraklardan taşındığı belirtilen maddeler genellikle bazı mineral elementler ve özellikle azotlu bileşiklerdir (Derman ve ark. 1978). Örneğin, yapraktaki azotlu maddelerin %70 kadarını oluşturan kloroplast proteinlerinin yıkılması sonucunda meydana gelen amino asitler (Okatan ve ark. 1978; Kawakami ve Watanabe, 1988; Jiang ve ark., 1993; Gan ve Amasino, 1997), taşınan maddelerin başında gelmektedir.

1. 3. Senesensin Çeşitleri ve Meydana Geliş Biçimleri

Bitkilerde senesensin değişik biçimlerde meydana geldiğine ilişkin bazı gözlemler yapılmıştır. Bu gözlemlerden birine ve en klasik olanına göre (Leopold, 1961), bitkilerde senesens dört farklı biçimde meydana gelir: (1) Genellikle sonbaharda yapraklarını döken ağaçlarda meydana gelen **mevsimsel yaprak senesensi**, (2) Ömrü boyunca bir kez meyve veren (monokarpik) bitkilerde görülen ve tohum hariç tüm bitkinin ölümüne neden olan **monokarpik senesens**, (3) Genellikle otsu bitkilerde görülen ve sadece gövdenin ölümüne neden olan **gövde senesensi** (top senescence), (4) En yaşlısından başlayarak yaprakların sıra ile ölmesine neden olan **sırasal** (sequential veya progressive) **yaprak senesensi**. Bunlardan başka, bazı araştırmacılar tarafından hücre ve doku düzeyinde meydana gelen senesens çeşitleri de ortaya konulmuştur (Nutman, 1939; Noodén, 1988a; Noodén, 1988b). Örneğin, Monstera yapraklarında görülen doku senesensi (Melville ve Wrigley, 1969), petiyolün belli bir bölgesindeki (abscisyon zonu) hücrelerin ölmesi (Noodén ve Leopold, 1978), ksilogenezis olayı ve sklerenkima liflerinin meydana gelmesi (Jacobs, 1952; Cutter, 1979), bazı bitkilerde apikal hücrenin ölmesi (Lockhart, 1961) diğer senesens çeşitleri arasında sayılmıştır.

1. 4. Senesensin Meydana Gelişi Hakkında İleri Sürülen Başlıca Hipotezler

Bitkilerde senesensin çeşitli şekillerde meydana gelmesine bağlı olarak, senesensin meydana gelişini açıklamaya yönelik bazı hipotezler ileri sürülmüştür. Bu hipotezlerden bitki fizyolojisinin ilgi alanına girenleri, başlıca iki grup altında

toplanabilir. Bunlardan biri besin boşalımı (Nutrient Drain) hipotezi, diğeri ise senesens sinyali hipotezidir.

Besin boşalımı hipotezi:

Senesens sırasında, hücrelerdeki makromoleküllerin yıkılarak buradan başka organlara taşınmasını; yani, senesens meydana gelen hücrelerden boşaltılan maddelerin başka hücrelerce besin olarak kullanılmasını göz önüne alan birçok araştırmacı, hücre içeriğinin boşalmasını senesensin nedeni olarak yorumlamıştır (Leonard, 1962; Kawakami ve Watanabe, 1988; Noodén ve Leopold, 1988). Literatürde “**nutrient drain**” hipotezi olarak geçen (Noodén ve Leopold, 1978; Noodén, 1988a) bu hipotez, Türkçe “Besin boşalımı hipotezi” olarak tanımlanabilir. Özellikle, monokarpik bitkilerde, tohumların gelişmeye başlamasına paralel olarak, vegetatif organlardan tohumlara doğru madde taşınmasının saptanmış olması (Williams, 1955; Blomquist ve Kust, 1971; Derman ve ark., 1978) bu hipotezi destekleyen bir olgudur. Çiçekleri ya da meyvaları koparılan ve hatta meyvalarından tohumları çıkarılan monokarpik bitkilerde senesensin geciktirilebilmesi, bu hipotezi daha da güçlendirmektedir (Leopold ve ark., 1959; Crafts-Brandner ve ark., 1984). Benzer bir şekilde, bazı tohumların embriyolarında besin deposu olarak görev yapan kotiledonların içerdikleri besinlerin, fide gelişmesi sırasında, gelişmekte olan organlara taşınması ile bu organlarda senesens meydana gelmesinin aynı zamanlara rastladığı da dikkati çekmektedir (Laidman, 1982; Murray, 1984; Noodén ve Leopold, 1988a). Gövde ucu koparılan fidelerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin engellenmesi (Leopold, 1961), bu görüşü destekleyen diğeri bir veri olarak değerlendirilmektedir. Hatta, bu olayın sadece kotiledonlarla sınırlı kalmayıp, en yaşlısından başlayarak diğeri

yapraklardaki besinlerin de büyümekte olan genç organlara taşınması da besin boşalımı hipotezini destekleyen diğer bir olaydır. Mineral madde bakımından fakir olan ortamlarda yetiştirilen bitkilerde senesensin erken başladığı ve hızla ilerlediği de bilinir (Thomas ve Stoddart, 1980). Bu olay, besin yetersizliği ile senesens arasında ilgi bulunduğu düşüncesini güçlendirmektedir.

Senesens sinyali hipotezi:

Senesens sinyali hipotezini savunan araştırmacılara göre (Lindoo ve Noodén, 1977; Okatan ve arkadaşları 1981; Noodén ve Murray, 1982) bu hipotez, gelişmekte olan organlar (meyveler, tohumlar ve apikal meristem dokusu) tarafından üretilen bir sinyalin, hedef hücrelere taşınması sonucunda senesensin meydana geldiğini ileri sürer. Buna göre, hedef hücrelerde yapısal makromoleküllerin yıkılması ve besinlerin hücrelerden boşalması, senesens sinyalinin hedef hücreler tarafından algılanmasıyla birlikte başlar. Başka bir deyişle, hücrelerde katabolik reaksiyonların başlaması gelişigüzel değil, belli bir program gereğince meydana gelir ve bu programda yer alan sistemler arasındaki korelasyon, hücreler arası haberleşme (sinyalizasyon) ile sağlanabilir.

Özellikle monokarpik bitkilerde senesensin, tohumların olgunlaşma süreci ile eş zamanlı biçimde meydana gelmesi; tohumların koparılması halinde ise senesensin duraklaması, sinyal hipotezini destekleyen olgulardır (Lindoo ve Noodén, 1977; Okatan ve ark. 1981; Noodén ve Leopold, 1988b). Bu hipotezin geçerliğini sınan ve monokarpik senesensin hormonal düzenini açıklamaya çalışan bazı araştırmacılar, bir monokarpik bitki olan soya fasulyesinde senesens sinyalinin sentez edildiği organlar olarak öngörülen, “genç meyvelerin” ya da “olgunlaşmakta olan tohumlar”ın

koparılması halinde, senesensin meydana gelmediğini göstermişlerdir. Ayrıca bu bitkilerde çiçeklenmenin devam ederek yeni meyveleri ve tohumları ürettiği; böylece toplanan çok sayıda prematüre tohumun tümünde biriken kuru maddenin, kontrol bitkilerin olgun tohumlarında biriken kuru madde miktarından fazla olduğu saptanarak, senesensin tohumlara madde taşınmasından dolayı meydana gelmediği gösterilmeye çalışılmıştır (Okatan ve ark., 1977). Hipogeik fidelerin kotiledonları toprak altında kaldığı için, kotiledonlardaki besin maddeleri gelişen fide tarafından tüketilir. Bu nedenle toprak altındaki kotiledonların boşalması ve ölmesi doğal karşılanabilir. Fakat ayçiçeğinde olduğu gibi, fideleri epigeik tipte gelişen bitkilerin kotiledonlarında bulunan besinler gelişmekte olan organlara taşınırsa da, kotiledonlar da bir yandan gerçek yapraklar gibi fotosentez yaparlar. Buna karşın, gelişmenin erken bir fazında kotiledonların öldükleri bilinir. Her ne kadar bu olay besin boşalımı hipotezini desteklemiş gibi görünse de, yaprakları ve apikal ucu sürekli karanlığa kapatılan, sadece kotiledonlarının ışık almasına izin verilen ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında senesensin meydana gelmediği görülmüştür. Söz konusu araştırmada, hazırlanan deney koşulları gereğince tüm bitkinin beslenmesinden sorumlu tutulan kotiledonlarda senesensin meydana gelmemesi, yapraklardan besin boşalımı hipotezinin geçerli olmadığına tersine sinyal hipotezinin daha inandırıcı olduğuna bir kanıt olarak yorumlanmıştır (Sağlam ve Okatan, 1990). Fakat günümüze kadar yapılan araştırmalara rağmen, söz konusu sinyalin henüz izole edilemediği de belirtilmektedir (Moore, 1979; Ridge, 1991).

I. 5. Senesens Sinyalinin Özelliklerini Ortaya Koyan Veriler

Kimyasal yapısı hakkında her hangi bir bilgi bulunmasa da, senesens sinyalinin özellikleri hakkında bazı ip uçları elde edilmiştir. Örneğin, soya fasulyesinde senesens sinyalinin ksilem ile taşındığı saptanmıştır (Wood ve ark., 1986). Öte yandan, ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında senesens meydana gelmeden birkaç gün önce, kotiledonların üzerindeki ilk internodyumun orta bölgesinden, 1cm. kadar kısmının kızgın su buharıyla haşlanmasından sonra kotiledonlarda senesensin geciktiği görülmüştür (Sağlam, 1989; Sağlam ve Okatan, 1990). Bu sonuç, gövde ucunda ve genç yapraklarda sentez edilen sinyalin, canlı hücreler tarafından bazipetal doğrultuda taşındığı ve bu hücrelerin haşlanarak öldürülmesi halinde (taşıyıcı hücrelerin öldürülmüş olması nedeniyle), kotiledonlara ulaşamadığı şeklinde yorumlanmıştır. Aynı araştırmacılar, sırasal yaprak senesensine neden olan sinyalin gövde ucunda sentez edilerek bazipetal doğrultuda taşınmasının, indolasetik asitin (IAA) sahip olduğu özelliklere benzediğini göz önüne alarak, söz konusu sinyalin IAA ile özdeş olup olmadığını ortaya koymaya yönelik bazı araştırmalar da yapmışlardır. Bu araştırmaların birinde, yerçekiminin lateral etkisi altında bırakılan fidelerde senesens sinyalinin, IAA gibi lateral doğrultuda taşınıp taşınmayacağı incelenmiştir. Bu amaçla, hipokotil büyümesi sona ermiş ve kotiledonlarında henüz senesens meydana gelmemiş olan ayçiçeği fideleri, bir kotiledonu aşağıda diğer kotiledonu yukarıda kalacak şekilde yatay durumda bırakılmış ve aşağıda kalan kotiledonda senesensin daha önce ve daha hızlı bir süreçte meydana geldiği görülmüştür. Bu sonuca dayanarak, senesens sinyalinin, bitki büyüme hormonu olan indolasetik asit gibi yerçekiminden etkilendiği vurgulanmıştır (Sağlam ve Okatan, 1990). Aynı laboratuarda yapılan bir başka

araştırmada, yapraklarına 2,3,5-Triiyodobenzoik asit (TIBA) püskürtölen fidelerde kotiledon senesensinin geciktiği görölmüştür (Okatan ve Ünal, 1996). TIBA nın bitkilerde bazipetal indolasetik asit taşınmasını inhibe ettiği (Thomson ve ark., 1973; Goldsmith, 1977; Jacobs ve Hertel, 1978; Noodén ve Noodén, 1985) göz önüne alınarak, yapraklarına TIBA püskürtölen ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında senesensin gecikmesi, senesens sinyalinin bazipetal taşınmasının yavaşlamasına bağlanmış ve bu yüzden, senesens sinyalinin indol asetik asit tabiatında olduğu ihtimalinin güçlendiği belirtilmiştir. Buna benzer olarak, horizontal klinostat üzerinde yetiştirilen bitkilerde bazipetal IAA taşınmasının yavaşladığı bilindiğinden (Lyon, 1965; Naqvi ve Gordon, 1966; Lyon, 1971), aynı koşullar altında yetiştirilen ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında senesensin gecikip gecikmeyeceği de araştırılmış ve bitkilerin kotiledonlarında senesensin gecikmesi, senesens sinyalinin indolasetik asit ile benzer tabiatta olduğu düşüncesini güçlendiren diğer bir veri olarak değerlendirilmiştir (Ünal ve Okatan, 1996).

I. 6. Senesensin Bitki Büyüme ve Gelişme Hormonları ile İlişkisi

Literatürde, gibberellinlerin senesensi geciktirdiği ve absisik asitin de bu etkiyi ortadan kaldırdığını (antagonizm) bildiren verilere rastlanmaktadır (Noodén ve Leopold, 1988). Ayrıca, poliaminlerin antisenesens etkiye sahip olduğunu belirten araştırıcılar da (Galston ve Shawney, 1990) vardır. Öte yandan, özellikle absisyon zonunun oluşmasında (Jackson ve Osborne, 1970) ve meyvelerin olgunlaşması ile ilgili senesens olaylarında etilenin etkili olduğu bilinmektedir (Burg ve Thimann, 1960; Burg ve Burg, 1962). Fakat, genellikle sitokininlerin senesensi geciktirici etkisini

açıklayan verilere çok yaygın olarak rastlanmaktadır (Osborne ve Hallaway, 1960; James ve ark., 1965; Osborne, 1967). Örneğin, bazı araştırmacılar (Even-chen ve ark., 1978), yapraklarda senesensin başlangıcında ve sonucunda, hormonların konsantrasyonunu kronolojik olarak incelemiş ve senesensin başlangıcında koparılan olgun yapraklarda sitokinin aktivitesinin ve oksin miktarının düşük, mutlak senesens anında sitokinin miktarının düşük oksin miktarının yüksek olduğunu görmüşlerdir. Öte yandan, bazı araştırmacılar, tohumların olgunlaşması sırasında, köklerdeki sitokinin sentezinin azaldığını belirtmişlerdir (Sitton ve ark., 1967; Heindl ve ark., 1982). Diğer bazı araştırmacılar da, sitokinin miktarında meydana gelen azalmanın senesense neden olabileceğini vurgulamışlardır (Noodén ve Guiamét, 1989; Noodén ve ark. 1990).

I. 7. Tezin Konusu ve Amacı

Yukarıda ana hatlarıyla gözden geçirilen literatürden, araştırmacıların bir kısmının bazı verilere dayanarak, senesensin nedenini besin boşalımı hipotezi ile açıklamaya çalışırken; diğer bir kısmının da aynı verileri kullanarak sinyal hipotezini destekledikleri görülmektedir. Örneğin besin boşalımı hipotezini savunan araştırmacılar, monokarpik bitkilerde olgunlaşmakta olan tohumların koparılması halinde senesensin gecikmesini, yapraklardan taşınacak maddeleri kabul edecek olan organların ortadan kaldırılmış olmasına bağlarken; sinyal hipotezini savunan araştırmacılar ise, tohumların koparılmasıyla senesens sinyalinin sentez edildiği organların ortadan kaldırılmış olduğunu ve bu nedenle senesensin meydana gelmediğini ileri sürmektedirler. Bu araştırmanın amacı genel olarak, senesensi hızlandırdığı gözlenmiş olan mineral beslenme yetersizliği ile, senesensi geciktirdiği veya hızlandırdığı gözlenmiş olan bazı

hormonların etkilerini özel olarak düzenlenen koşullar altında deneyerek, senesens sürecinde hangi faktörlerin primer, hangilerinin sekonder etkiye sahip olduğunu ve aralarında ne gibi ilişkiler bulunduğunu açıklamaya çalışmaktır.



II. MATERYAL ve METOD

II. 1. Bitkisel Materyal

Bu araştırmada, sistematik tanımlaması aşağıda gösterilen ayçiçeği bitkisinin 17 günlük fideleri kullanılmıştır.

Familya: Compositae

Cins: *Helianthus*,

Tr: *annuus* L.

Bu bitkinin deney materyeli olarak seçilmesinin nedenleri:

1. Aslında monokarpik senesensin incelenmesi için de uygun bir materyal olan ayçiçeği bitkisi özellikle, gübresiz, kumsal ve kıraç topraklarda yetiştirildiği zaman büyüme ve gelişmenin gerilemesinden başka, vegetatif gelişme süresi içinde sahip olduğu yaprak sayısının 1/3 kadarının, aşağıdan yukarıya doğru sıra ile ölmektedir (Sağlam ve Okatan, 1990). Bu olaylara dayanarak, sırsal yaprak senesensinin meydana gelmesinde beslenme ile senesens sinyali arasındaki ilişkinin araştırılabilmesi için de ayçiçeğinin uygun bir deney materyeli olabileceği dşnld.

2. Ayçiçeği bitkisi ile yapılan önceki araştırmalarda (Sağlam ve Okatan, 1990; Okatan ve nal, 1996; nal ve Okatan, 1996) gözlenen sırsal yaprak senesensinin, fizyolojik düzeni hakkında yapılan yorumlara daha fazla açıklık getirebilmek ve yapılan bazı gözlemleri değerlendirebilmek için, aynı bitkinin deney materyeli olarak kullanılması uygun görüldü.

3. Yukarıda belirtilen nedenlerin yanı sıra kolay yetiştirilebilmesi, uygulanan ışık şiddetine göre internodyum uzunluğunun ayarlanabilmesi ve oldukça kısa zamanda

deney objesi haline gelmesi, bu bitkinin deney materyali olarak seçilmesinin nedenleri arasında sayılabilir.

II. 2. Fidelerin Yetiştirilmesi

Hipoklorik asitin % 5 lik çözeltisi ile 5 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulan akenler, musluk suyu ile çalkalanarak 2 saat süreyle ıslatıldı. Eşit büyüklükteki akenler seçilerek, nemli filtre kağıdı içeren petri kutularına dizildi. Sıcaklığı 25 °C ye ayarlanmış bir etüvde 48 saat bırakılarak, karanlıkta çimlendirilen tohumlardan homojen çimlenme gösterenleri seçilerek deiyonize su içeren kaplara geçirildi. Floresan ve flamanlı lambaların karışımından elde edilen 6000 luks ışık şiddetinde, 12 saat fotoperyot altında ve sıcaklığı 26 °C $\pm$ 2 dereceye ayarlanmış bir iklim odasında 5 gün süreyle büyümeye bırakıldı. Bu sürenin sonunda eşit boyda büyümüş olan fideler seçilerek, yapılacak deneyin gereğine göre bazı mineralleri değişik oranlarda seyreltilmiş ya da eklenmiş olan Hoagland çözeltisi içeren kaplara alındı. Bu koşullar altında, internodyum uzunlukları yapılması planlanan deneylerin amacına uygun olan fideler elde edildi.

Deneylerde kullanılan Hoagland çözeltisinin orijinal içeriği Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hoagland Çözeltisi. Tabloda görülen mineral tuzların, deiyonize su ile hazırlanan stok çözeltilerinden, aşağıda belirtilen miktarlarda alınarak deiyonize suya eklenmiş ve son hacim deiyonize su ile 1000 ml ye tamamlanmıştır.

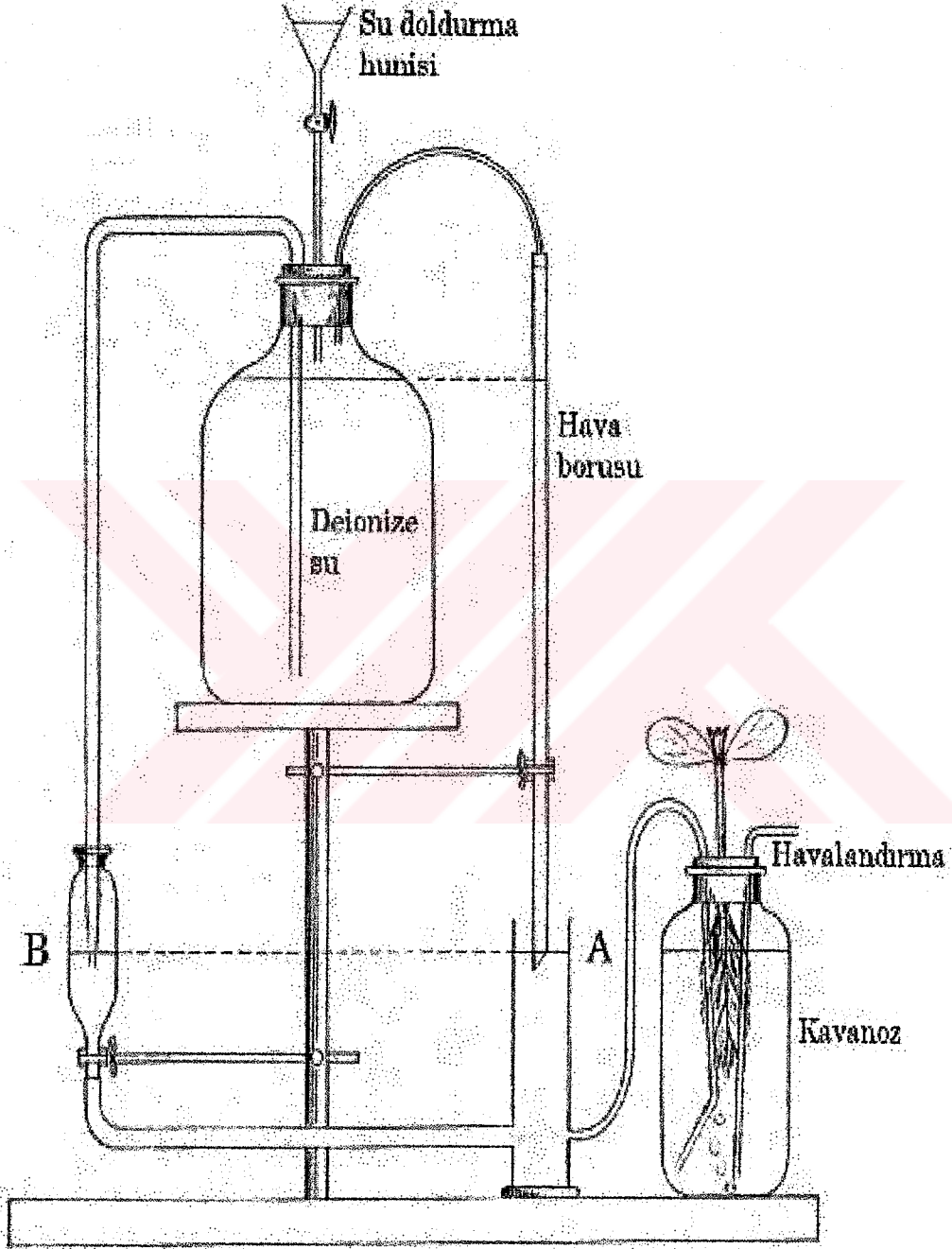
Mineral tuzlar	Konsantrasyon	1 litre için alınacak miktar
Ca (NO ₃) ₂	1 M	5 ml
KNO ₃	1 M	5 ml
MgSO ₄	1 M	2 ml
KH ₂ PO ₄	1 M	1 ml
Fe EDTA (*)	0.1 M	1 ml
Mikro elementler	bakınız(**)	1 ml

Bitkilerin, belli bir zaman dilimi içinde, besi suyundan absorbladıkları mineral tuzların miktarı ile transpirasyonla atılan su miktarının doğru orantılı olmaması nedeniyle (Papadopoulos ve ark., 1985), tuz konsantrasyonunun giderek artmasının önüne geçebilmek için çalışma düzeni Şekil 1'de gösterilen otomatik sulama sistemi kullanıldı. 3.5 litre Hoagland çözeltisine 10 bitki konuldu. Zamanla, mineral tuzların da absorblanarak eksileceği göz önüne alınarak, fideler ilk 15. günden sonra her hafta yeni hazırlanmış Hoagland çözeltisine transfer edildiler. Böylece, bitkilere verilen mineral tuzların, mümkün olduğu kadar sabit konsantrasyonda kalmasına çalışıldı.

(*) Fe EDTA (etilen diamin tetra asetik asitin Fe kompleksi) stok çözeltide 5 mg / ml Fe içerecek şekilde hazırlanmıştır.

(**) Mikro elementleri içeren stok çözeltinin 1 litresinde bulunan mineral tuzların miktarları:

2.86 g H₃BO₃, 1.81 g MnCl₂ . 4 H₂O, 11 g ZnCl₂, 0.05 g CuCl₂, 0.025 g Na₂MoO₄



Şekil 1. Hoagland çözeltisinin konsantrasyonunu sabit tutmak amacıyla düzenlenen otomatik sulama sisteminin şeması.

Otomatik sulama sisteminin çalışması ile ilgili açıklamalar:

1- Bitkinin transpirasyon yapması sonucunda, kavanozdaki çözeltinin ve buna bağlı olan A kabındaki suyun seviyesi bir miktar düşer.

2- Başlangıçta suya batmış olan hava borusunun ucu açığa çıkar ve deiyonize su deposuna hava kabarcığı gider.

3- Böylece depodan B kabına sifonla su akmaya başlar.

4- A ve B kapları biri birine bağlı olduğundan, A kabındaki su seviyesi yükselince hava borusunun ucu tekrar suya batar ve havanın geçiş yolu tıkanır. Bu nedenle depodan su boşalması durur.

5 - Böylece eksilen miktar kadar su, kavanoza eklenmiş olur.

Not : Bu araştırmada, Şekil 1' de görülen sistemdeki kavanozun yerine, her birinde 10 bitki bulunan 3.5 litrelik 8 adet plastik kap kullanıldı.

II. 3. Çinko Miktarının Tayini

Çinkonun bitkilerdeki IAA stabilizasyonunu sağladığı bilinmektedir (Skoog, 1940; Takaki ve Kushizaki, 1970). Senesens sinyalinin IAA tabiatında bir madde olduğuna ilişkin belirtilerin ortaya çıkmış olmasından dolayı, bitkilerin çinko eksikliğinde yetiştirilmesi halinde senesensin gecikip gecikmediği görülmek istendi. Bu amaçla yapılan deney serileri için hazırlanan 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisine çinko eklenmedi. Ancak, yetiştirme ortamına çinko eklenmeyen bitkilerin tohumlarında doğal olarak ne kadar çinko içerdikleri de atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) kullanılarak ölçüldü. Bunun için Kjeldahl tüplerine konulan 200 mg kuru materyal üzerine 5 ml % 65 HNO₃ ilave edildi. 280-300 °C sıcaklıkta yaş

yakma işlemine tabi tutuldu. Tüplerdeki HNO_3 eksildikçe belli aralıklarla (5 defa) 1 ml HNO_3 eklendi. Böylece, örneklerdeki organik maddelerin oksidasyonu sağlandı ve deney materyalinde bulunan mineraller organik maddelerden arındırılmış oldu. Yaş yakma işleminden sonra, açık sarı renge dönüşen örnekler distile su ile 25 mililitreye tamamlandıktan sonra çözelti, silikat parçacıklarından arındırılmak için filtre kağıdından (Whatman 42,9 cm) süzüldü. Böylece elde edilen tortusuz çözeltiler stok olarak kullanıldı. Stoktan alınan örneklerde bulunan çinko miktarı, standart çinko serisinin değerleri ile kıyaslanarak saptandı.

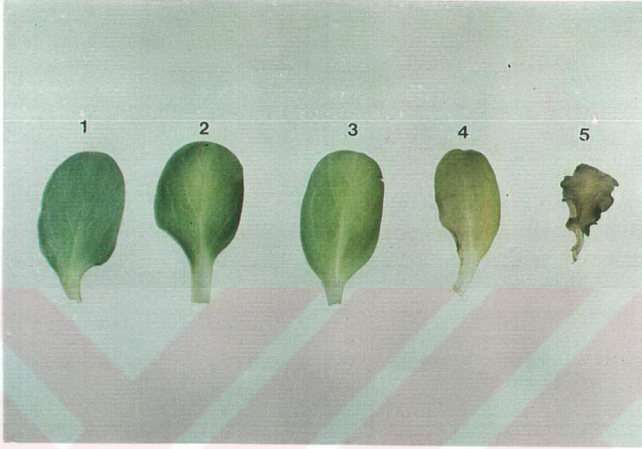
II. 4. Taze ve Kuru Ağırlığın Ölçülmesi ve Taze Materyaldeki Su % sinin Saptanması

Bitkisel materyal, darası önceden tespit edilmiş olan alüminyum folyo ile tartıldı. Elde edilen değerden alüminyum folyonun ağırlığı çıkarılarak materyalin taze ağırlığı bulundu. Alüminyum folyo içinde bulunan materyal, sıcaklığı 80 °C ye ayarlanmış bir etüvde 3 gün boyunca kurutuldu (Okatan ve ark., 1981). Kurutulan materyal, alüminyum folyo ile birlikte tartıldı ve elde edilen değerden alüminyum folyonun ağırlığı çıkarılarak materyalin kuru ağırlığı bulundu. Taze materyalin içerdiği suyun % sini bulmak için aşağıdaki formül kullanıldı :

$$\% \text{ Su} = \text{Taze ağırlık} - \text{Kuru ağırlık} / \text{Taze ağırlık} \times 100$$

II. 5. Senesens Derecesinin Tayini

Senesensin meydana geldiğini gösterebilmek ve derecesini ölçebilmek için klorofil ve total azot miktarlarının azalması ya da hidrolazların ve peroksidaz aktivitesinin artması gibi bazı olaylar, kriter olarak önerilmiştir (Patra ve Mishra, 1976; Lindoo ve Noodén, 1976; Thomas ve Villiers, 1996). Bu kriterlerden en yaygın olarak kullanılanları klorofil ve total azot miktarının tayinidir. Genellikle bu kriterler kullanılarak senesens hızının ölçülmesi halinde materyalin öldürülmesi gerekmektedir. Örneğin klorofil tayini ile sararmanın (senesens derecesinin) saptanması için, materyalin hasat edilerek klorofil ekstraksiyonunun yapılması söz konusudur. Halbuki çoğu zaman, deney ve kontrol grubunda meydana gelen senesens sürecinin zaman içindeki seyrini karşılaştırmak gerekmektedir. Bunu sağlayabilmek için araştırmacılar (Lindoo ve Noodén, 1976), uyguladıkları bir yöntemle soya fasulyesinin anoka varyetesinde meyve olgunluk derecesini ve yaprak sararma % sini esas alan indekslerle (Plastokron indeks) bitkileri öldürmeden senesensin zamana karşı değişimini sürekli olarak ölçmeyi başarmışlardır. Bu araştırmada, Lindoo ve Noodén'in uyguladığı söz konusu yöntem, ayçiçeği kotiledonlarına uyarlanarak kullanıldı. Daha önce de başarı ile kullanılan (Sağlam, 1989; Sağlam ve Okatan, 1990; Okatan ve Ünal, 1996; Ünal ve Okatan, 1996) bu yöntemle, bitkiler tahrip edilmeden kotiledonlarında meydana gelen senesensin seyri günlerce izlenebildi. Buna göre, kotiledonlarda meydana geldiği gözlenen sararmanın ya da yeşil kalmış alanın % si Fotoğraf 1 de gösterilen indekse göre belirlendi. Ancak, kullanılan plastokron indeks ile, kotiledonların klorofil içeriği de karşılaştırılarak, senesensin plastokron indeks ile ne derecede doğru değerlendirilebildiği de kontrol edildi.



Fotograf 1. *Helianthus annuus* kotiledonlarındaki senesens derecesinin yeşil alan % si cinsinden belirtilmesi (Plastokron indeksi) : 1. % 100 yeşil, 2. % 75 yeşil, 3. % 50 yeşil, 4. % 25 yeşil, 5. % 00 yeşil (kurumuş)

Deney ve kontrol gruplarını oluşturan bitki kümelerinin, belli bir zamanda eriştikleri senesens derecesinin saptanarak karşılaştırılması gerektiğinde, aşağıdaki denklem kullanılarak her iki gruptaki bitkilerin ortalama senesens derecesi (ortalama yeşil alan %'si cinsinden) saptandı (Sağlam, 1989):

$$\text{O.Y.A. \% 'si} = \frac{(n_1 \times 1) + (n_2 \times 0.75) + (n_3 \times 0.50) + (n_4 \times 0.25) + (n_5 \times 0.00)}{\sum n}$$

Bu denklemde:

O. Y. A. %'si = Kotiledonların Ortalama Yeşil Alan %'sini;

n_1 = Tamamı yeşil kotiledonların sayısını;

n_2 = % 75 kadarı yeşil (% 25 kadarı sararmış) kotiledonların sayısını;

n_3 = % 50 kadarı yeşil (% 50 kadarı sararmış) kotiledonların sayısını;

n_4 = % 25 kadarı yeşil (% 75 kadarı sararmış) kotiledonların sayısını;

n_5 = % 0 yeşil (tamamen kuru görünümlü) kotiledonların sayısını;

Σn = Kotiledonların toplam sayısını ($n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5$) göstermektedir.

II. 6. Klorofil Tayini

Klorofil miktarı saptanacak materyal, taze ağırlığı tartıldıktan sonra % 80 aseton ile ekstre edildi. Homogenat 3000 g de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantın hacmi belirlendikten sonra, 645 ve 663 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri spektrofotometrede ölçüldü. Elde edilen değerlerden, Arnon (1949) yöntemiyle total klorofil miktarı hesaplandı.

II. 7. Total Azot Tayini

Senesens sırasında yapraklardaki total azot miktarının azalması senesens derecesinin belirlenmesinde diğer bir parametre olarak kabul edildiğinden, bu araştırmada, plastokron indekse göre, senesensin çeşitli evrelerinde bulunan yaprakların içerdiği total azot miktarına da bakıldı.

Total azot tayini için Kjeldahl yönteminin, spektrofotometrik ölçme yöntemiyle birleştirilmesinden oluşan bir yöntem kullanıldı. Lindoo ve Noodén (1976) tarafından uygulanan bu yönteme göre, azot miktarı tespit edilecek olan materyaller, darası önceden alınmış 20 mililitrelik Kjeldahl tüplerine konularak tartıldı ve taze ağırlıkları alındı. Materyaller, Kjeldahl tüplerinin içinde, 80 °C'lik etüvde 3 gün kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları da tartıldı. Her bir tüpe 1 ml yaş yakma çözeltisi^(*) ilave edildi. Tüplerdeki materyaller, 300 °C sıcaklıktaki kum banyosunda, berraklaşmaya kadar kaynatılarak yakıldı. Böylece, materyaldeki azotun tümü $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ şekline dönüştürülmüş oldu. Yaş yakma sonucunda berraklaşan materyal, soğuduktan sonra üzerine 9 ml saf su ilave edilerek 10 misli sulandırıldı. Sulandırılan örnekler stok olarak kullanıldı. Stoktan alınan 1 ml örnek üzerine, sıra ile 4 ml saf su, 1 ml 10 N NaOH, 1 ml 0.6 N sodyum tartarat, 1 ml % 2 arap zamkı (yeni hazırlanmış ve süzölmüş) ve 2 ml süzölmüş Nessler belirteci ilave edildi. Meydana gelen parlak sarı rengin sabitleşmesi için 30 dakika beklendi. 420 nm dalga boyundaki absorpsiyon değeri spektrofotometre ile ölçüldü. Standart olarak, yukarıdaki işlemlere tabi tutulan glisin çözelti serisi; Blank olarak içinde azot bulunmayan ve yukarıdaki işlemlere tabi tutulan yaş yakma çözeltisi (digest solution) kullanıldı.

Materyalin içerdiği azot miktarı, standart seriye ait grafiğin eğim ve kesen (slop ve intercept) değerleri kullanılarak hesaplandı.

(*) Yaş yakma çözeltisi (digest solution) : Derişik H_2SO_4 içinde % 0.2 w/v Na_2SeO_4 ve % 0.1 w/v $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

II. 8. Bitkilere Sitokinin Verilmesi

1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında senesens meydana gelmeden önce hipokotile, kotiledonun yaklaşık 3 cm altından başlayan ve iki kotiledonu birbirinden ayırarak 1. internodyuma kadar uzanan bir çentik açıldı. Hipokotilin kök ile ilişkisi kesilen tarafı, içinde 10^{-5} M sitokinin (Benzil Adenin = BA) çözeltisi bulunan bir tüpe daldırıldı. Bu işlemden sonraki günlerde, bitkinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin hızı plastokron indeks ile saptanarak, karşısındaki kotiledonla ve kontrol olarak sitokinin yerine deiyonize su verilen bitkilerin kotiledonlarıyla kıyaslandı.

II. 9. Dekapite Edilen Bitkilere Kesik Uçtan IAA Verilmesi

Bu işlem için her şeyden önce, bir popülasyonda senesensin başlama günü belirlendi. Bundan sonra, kotiledonlarda senesensin başlama tarihinden bir-iki gün önce 1. internodyum, kotiledonların 3 cm kadar yukarisından kesilmek suretiyle, bitkiler dekapite edildi ve bitkilere kesik uçtan oksin (IAA ya da NAA) çözeltisi verildi. Bunun için, iğne takılacak kısmı kesilmiş ve deliği 4 mm lik matkapla genişletilmiş olan, 10 mililitrelik polietilen enjektörlere 10^{-5} M. oksin çözeltisi çekilerek dolduruldu. Dekapite edilen bitkilerin kesik ucu, enjektörün altına açılan delikten içeri geçirilerek, enjektördeki oksin çözeltisinin içerisine sokuldu. Bu durumda bir desteğe tutturulan enjektördeki oksin çözeltisi eksildikçe, alttaki delikten (bitkinin geçirildiği delik gövdeden biraz geniş olduğundan) enjektör haznesine hava girdiği için, bitki ucunun sürekli olarak oksin çözeltisi içinde kalması sağlandı. Aynı

şekilde hazırlanan fakat oksin çözeltisi yerine saf su konulan bitkiler, kontrol olarak kullanıldı.

II. 10. Bitkilere Tepe Tomurcuğundan ve Yapraklardan ^{14}C -IAA Verilmesi

Spesifik aktivitesi 40 mCi / mmol. olan Sigma ürünü ^{14}C -IAA dan, 10^{-5} mol. stok çözeltisi hazırlandı. 4 °C de muhafaza edilen bu çözeltiden, alınan her 1 mililitresine 1 damla % 1 tween-20 eklendi. Böylece adhezyon gücü artırılan IAA çözeltisinden, bitkinin tepe tomurcuğu üzerine (60 μl ve 120 μl); ya da ikinci nodyumdaki yapraklardan birine (80 μl) damlatıldı. İndol asetik asitin ışıktaki bozulmasına (foto inaktivasyona) engel olmak için, bu işlem bitkilerin karanlık periyoda geçmelerinden hemen önce yapıldı. Belirli bir süre sonra bitkilerin yaprak, kotiledon ve kök gibi organlarının tamamı, gövdenin de eşit uzunluktaki internodyumları β sayıcısının özel kaplarına konularak 80°C etüvde kurutuldu. ^{14}C Ölçümleri, β sayıcısı ile yapıldı. Her materyal, 5 dakika süren seanslarla üç kez ölçüldü. Elde edilen sayımlardan zemin radyasyonu (back-graund) değerleri çıkarılarak materyalin 5 dakikadaki sayım değeri (cp5m = count per 5 minute) bulundu.

II. 11. Sonuçların İstatistik Değerlendirilmesi

Deneyler, farklı zamanlarda yapılan en az üç seri halinde tekrarlandı ve her deney de en az üç bitkide ölçüm yapıldı (Elde edilen sonuçların kaç deney ortalaması olduğu tabloların üst yazısında belirtildi). Deney ve kontrol gruplarından elde edilen

sonuçların istatistik bakımdan değerlendirilmesi için standart hata hesabı yapıldı. Sonuçlar arasındaki farkların, $\pm$ değerlerinin karelerinin toplamının karekökü, 3 ile çarpıldığı zaman elde edilen sayının, değerler arasındaki farktan küçük bulunması halinde, farkın istatistik bakımdan anlamlı (significant) olduğuna karar verildi.

¹⁴C-IAA ile yapılan deneylerde, radyoaktivitesi ölçülecek organın tamamı β sayıcısında sayılacak şekilde hazırlandı. Bitkisel materyalin içerdiği radyoaktivite miktarı her preparat için üç kez sayıldı. Her bir sayım 300 saniyede (5 dakika) yapıldı ve üç sayımın ortalaması alınarak bir deney sonucu elde edildi. Ölçüm yapıldığı günlerde zemin radyasyonu da belirlendi. 23 gün süreyle yapılan zemin radyasyonu ölçümlerinin ortalaması alındı. Yapılan her ölçümden zemin radyasyonu ortalaması çıkarıldı. Böylece, materyaldeki radyoaktivite miktarı hesaplandı. Elde edilen değer (materyaldeki radyasyonun zemin radyasyonundan farkı) istatistik bakımdan anlamlı olup olmadığı, yukarıda belirtildiği gibi hesaplandı.

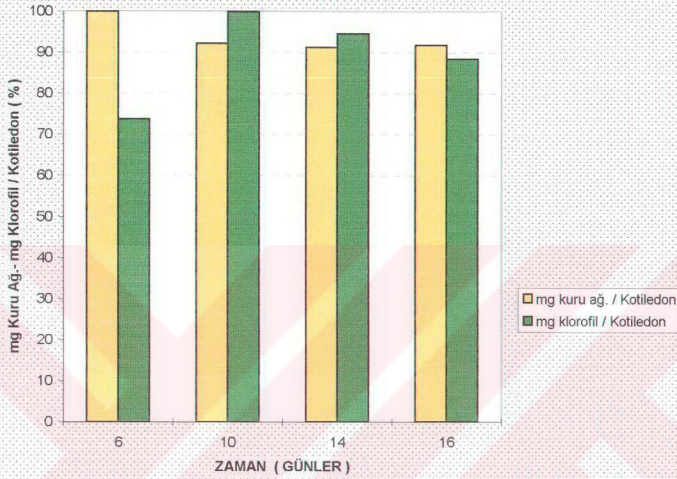
III. BULGULAR

III. 1. Senesensten Önceki Dönemde Kotiledonlardaki Kuru Madde ve Klorofil Miktarındaki Değişimler

Sararmanın gözle fark edilmesine kadar geçen süre içinde kotiledonların klorofil ve kuru madde içeriklerindeki değişimler incelendiğinde, klorofil miktarının 10. günde maksimum düzeye çıktığı, sonraki günlerde yavaş yavaş azaldığı ve ardışık ölçümler arasında görülen farkların anlamlı (significant) olmadığı saptandı. Kotiledonlardaki kuru madde miktarının da 6. günden sonra azalarak belli bir düzeyde plato oluşturduğu görüldü. Buna göre, kotiledonlarda meydana gelen kuru madde miktarındaki azalışın, klorofilin artan miktarına bağlı olarak hızlanan fotosentez nedeniyle durduğu söylenebilir (Tablo 2, Şekil 2).

Tablo 2. Kotiledonların 6.–16. günler arasındaki klorofil ve kuru madde miktarlarının değişimi.

Günler	g kuru ağırlık Kotiledon	% Kuru Ağırlık Kotiledon	mg klorofil Kotiledon	% Klorofil Kotiledon
6	12.32 ± 0.0004	100.0	0.0965 ± 0.0043	73.8
10	11.36 ± 0.0003	92.2	0.1303 ± 0.0084	100.0
14	11.25 ± 0.0007	91.3	0.1235 ± 0.0072	94.6
16	11.31 ± 0.0006	91.8	0.1152 ± 0.0065	88.5



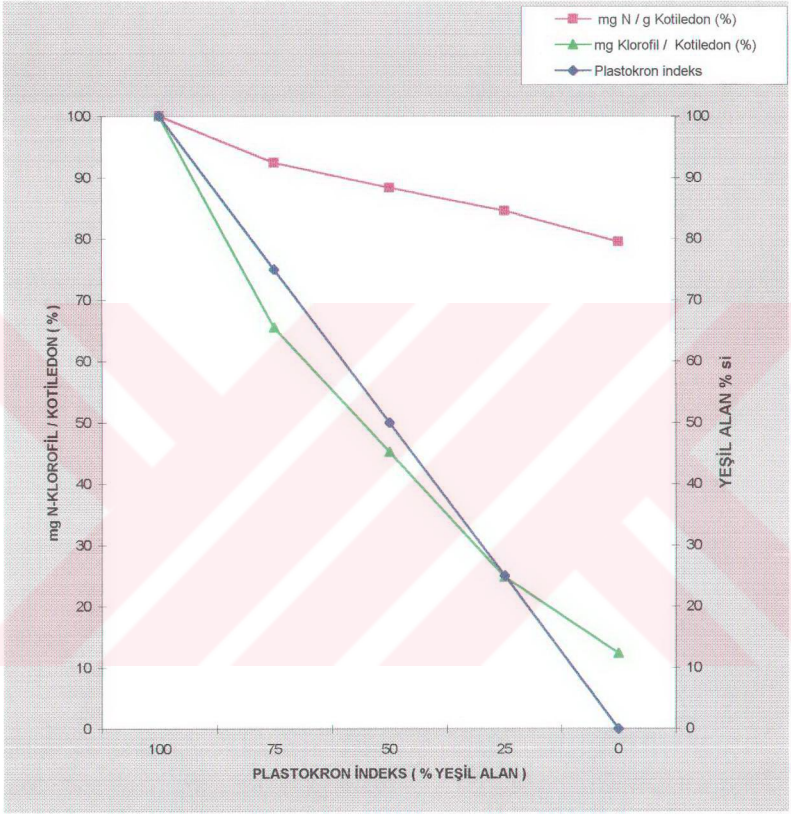
Şekil 2. Kotiledonların 6. - 16. günler arasındaki klorofil ve kuru madde miktarlarının değişimi.

Kotiledonlarda meydana gelen klorofil yıkımının, plastokron indeks ile uyumlu olup olmadığını görebilmek için yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar, Tablo 2 de ve Şekil 2 de gösterildi. İlgili tablo ve şekilden de izleneceği gibi, kotiledonlarda senesens başlamadan hemen önce, % 100 yeşil görümlü kotiledonların içerdiği klorofil miktarı (mg klorofil/ kotiledon) 100 kabul edildiği takdirde, plastokron indekse

göre % 75 yeşil olarak saptanan kotiledonların klorofil içeriğinin % 65.5 olduğu görüldü. % 50 yeşil olarak saptanan kotiledonların klorofil içeriği % 45.2 ; % 25 yeşil olan kotiledonların klorofil içeriği % 24.8; % 0 yeşil olan kotiledonlarda ise % 12.3 klorofil bulunduğu anlaşıldı. Bu değerlere dayanılarak çizilen grafikten (Tablo 3, Şekil 3), plastokron indeks ile saptanan senesens derecesi ile kotiledonlarda meydana gelen klorofil kaybının oldukça paralel gittikleri görüldü.

Tablo 3. Kotiledonlarda meydana gelen senesensin çeşitli aşamalarını gösteren plastokron indeksin, kotiledonlardaki klorofil ve azot miktarları

O.Y.A % si	Örnek sayısı	mg N g Kotiledon	(%)	Örnek sayısı	mg Klorofil Kotiledon	(%)	Plastokron İndeks
100	19	133.617 ± 7.016	100	20	0.1167 ± 0.006	100	100
75	18	123.519 ± 4.328	92,4	12	0.0764 ± 0.005	65,5	75
50	20	117.986 ± 2.887	88,3	18	0.0528 ± 0.003	45,2	50
25	12	112.935 ± 3.346	84,5	12	0.0289 ± 0.003	24,8	25
0	10	106.238 ± 2.994	79,5	16	0.0144 ± 0.001	12,3	0



Şekil 3. Kotiledonlarda meydana gelen senesensin çeşitli aşamalarını gösteren plastokron indeksin kotiledonlardaki klorofil ve azot miktarı ile karşılaştırılması

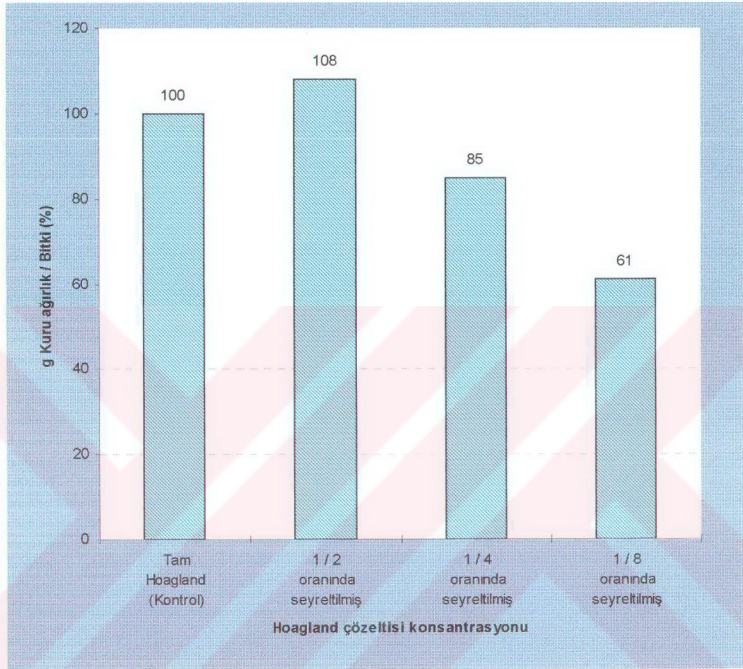
Aynı grafikte kotiledonların içerdiği total azot miktarının da giderek azaldığı görülmektedir. Ancak, bu dönemde total azot kaybının klorofil kaybına göre daha yavaş olduğu dikkati çekmektedir.

III. 2. Mineral Beslenmenin Kuru Ağırlık Bazında Büyümeye Etkisi

Mineral beslenmenin, bitki büyümesi ve sırasal yaprak senesensi üzerine etkisini araştırabilmek için deney bitkileri 1/2, 1/4 ve 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltilerinde, otomatik sulama düzeninde yetiştirildiler. Tam Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkiler ise kontrol olarak kullanıldılar. Fideler 15 günlük olduktan sonra, çözeltiler her hafta yenilendi. 30 günlük fidelerin taze ve kuru ağırlıkları alınarak bitkilerin kuru ağırlık bazında büyümeleri saptandı. Elde edilen değerler % cinsinden hesaplanarak fidelerin büyümeleri karşılaştırıldı. Sonuçlar, Tablo 4 ve Şekil 4 de gösterildi.

Tablo 4. Hoagland çözeltisinin değişik konsantrasyonlarında yetiştirilen fidelerin kuru ağırlıklarının değişimi (55 örnek ortalamasıdır).

Hoagland çözeltisi konsantrasyonu	g kuru ağırlık / bitki	%
Tam Hoagland (Kontrol)	1.05 ± 0.11	100
1 / 2 oranında seyreltilmiş	1.13 ± 0.08	108
1 / 4 oranında seyreltilmiş	0.89 ± 0.07	85
1 / 8 oranında seyreltilmiş	0.64 ± 0.04	61



Şekil 4. Hoagland çözeltisinin değişik konsantrasyonlarında yetiştirilen fidelerin kuru ağırlıklarının % cisinden karşılaştırılması (Tam Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkilerin kuru ağırlığı 100 olarak kabul edilmiştir).

Bitkilerin g kuru ağırlık / bitki bazında büyümleri incelendiği zaman Şekil 4 de görüldüğü gibi, 1/2 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde tam Hoagland çözeltisinden daha iyi büyüdüğü görüldü. Daha fazla seyreltilen serilerde

mineral elementlerin azalmasına paralel olarak gelişmenin yavaşladığı (Fotograf 2) ve kuru madde miktarının da giderek azaldığı saptandı.



Fotograf 2. Hoagland çözeltisinin değişik oranlarda seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen *H. annuus* fideleri. A: Tam Hoagland, B: 1/2 Hoagland, C: 1/4 Hoagland, D: 1/8 Hoagland (Kontrol grubunda bulunan bitkilerin kotiledonlarında senesens derecesi plastokron indekse göre ~50'ye eriştiği zaman, fotoğrafta görülen diğer bitkilerin her biri kendi grubundaki 20 bitkinin ortalama tipi olarak seçildi).

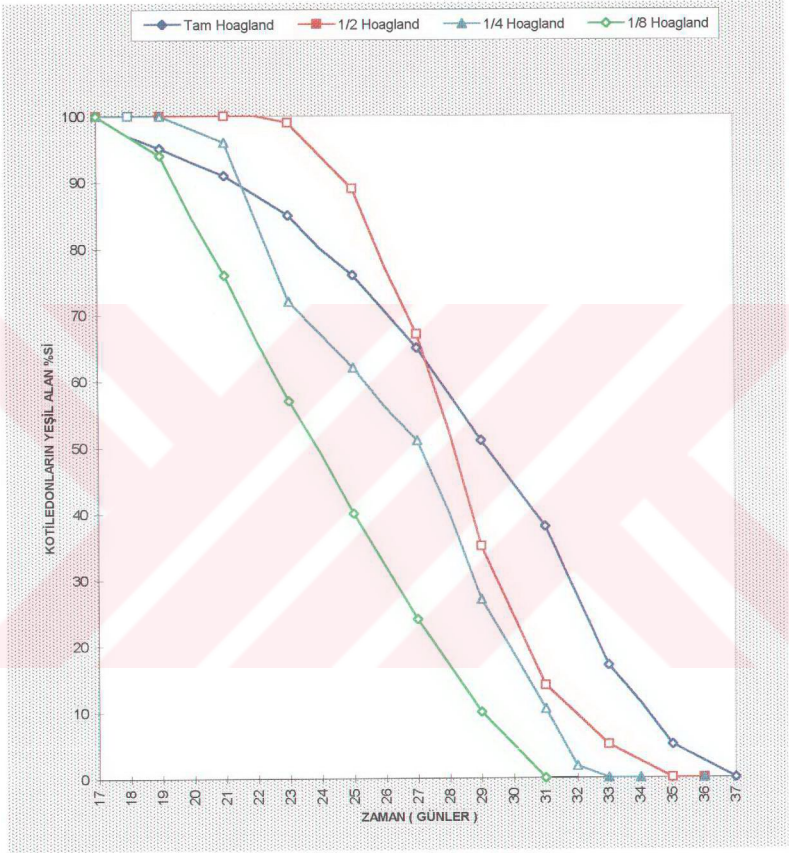
III. 3. Mineral Beslenme Eksikliğinin Kotiledon Senesensi Üzerine Etkisi

Mineral maddelerin değişik konsantrasyonlarında yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin hızı ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, Tablo 5 ve Şekil 5 de sunuldu.

Tablo 5. Hoagland çözeltisinin değişik konsantrasyonlarında yetiştirilen *H. annuus* fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin plastokron indeks (ortalama yeşil alan % si) cinsinden belirlenmesi (Sonuçlar, 55 kotildonun ortalamasıdır).

KOTİLEDONLARIN ORTALAMA YEŞİL ALAN % Sİ

Günler	Tam Hoagland	1/2 Hoagland	1/4 Hoagland	1/8 Hoagland
17	100	100	100	100
19	95	100	100	94
21	91	100	96	76
23	85	99	72	57
25	76	89	62	40
27	65	67	51	24
29	51	35	27	10
31	38	14	4	0
33	17	5	0	
35	5	0		
37	0			



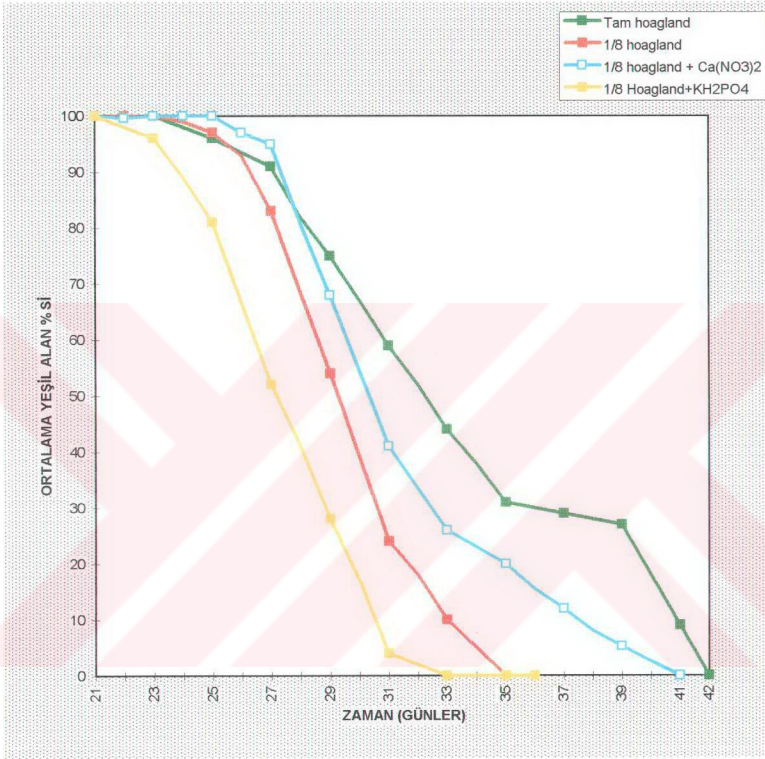
Şekil 5. Hoagland çözeltisinin değişik konsantrasyonlarında yetiştirilen *H. annuus* fidelerinin kotiledonlarının yeşil alan % sinin zamanla değişimi.

Hoagland çözeltisinin seyreltilmesine paralel olarak, kotiledonlarda ortalama yeşil alan %'sinin azaldığı, yani senesensin hızlandığı görüldü. Böylece, mineral madde eksikliğinde sırasal yaprak senesensinin hızlandığı teyit edildi.

Sırasal yaprak senesensinin önlenmesinde hangi minerallerin etkin olduğunu görebilmek için, 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisi ve bu çözeltiye $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ veya KH_2PO_4 gibi tuzların tam Hoagland çözeltisindeki miktarlarının ilavesiyle elde edilen besi suyu kullanıldı. Bu seride, tam Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkiler kontrol olarak kabul edildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 6 ve Şekil 6 da gösterildi.

Tablo 6. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisine, bazı minerallerin tam Hoagland çözeltisindeki miktarları eklenerek hazırlanan çözelti serilerinde yetiştirilen *H. annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki yeşil alan % sinin zamanla değişimi.

Günler	Tam Hoagland	1/8 Hoagland	1/8 Hoagland + $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1/8 Hoagland + KH_2PO_4
21	100	100	100	100
23	100	100	100	96
25	96	97	100	81
27	91	83	95	52
29	75	54	68	28
31	59	24	41	4
33	44	10	26	0
35	31	0	20	
37	29		12	
39	27		4	
41	9		0	
42	0			



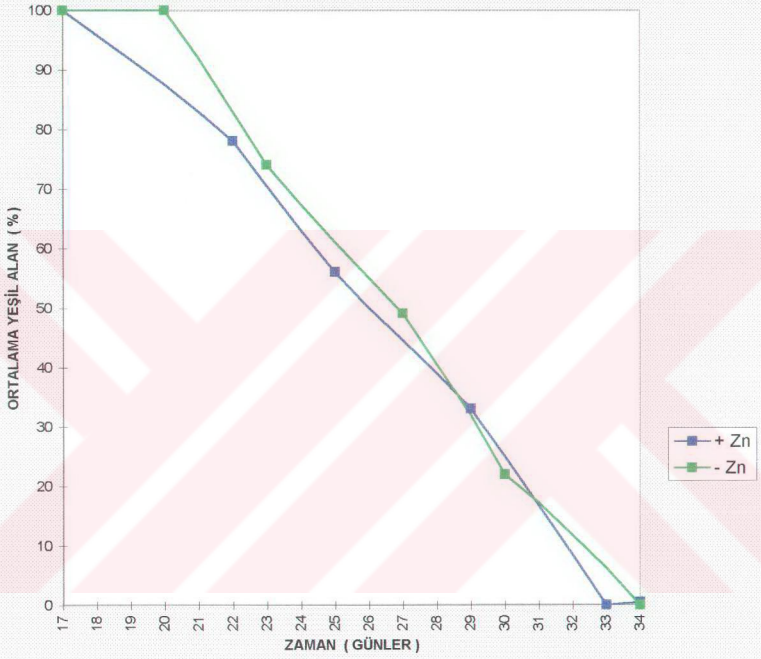
Şekil 6. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisine, bazı minerallerin tam Hoagland çözeltisindeki miktarları eklenerek hazırlanan çözelti serilerinde yetiştirilen *H. annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki yeşil alan % sinin zamanla değişimi (Kontrol:tam hoagland).

Çinkonun bitki dokularında IAA stabilizasyonunu sağladığı ve çinko eksikliğinde, IAA miktarının azaldığı bilindiğinden (Skoog, 1940; Takaki ve

Kushizaki, 1970), bu mineralin eksikliğinde kotiledonlarda senesensin hızlanıp hızlanmayacağı görölmek istendi. Bu amaçla, hazırlanan 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltilerinden bir serisine hiç Zn eklenmedi. - Zn olarak tanımlanan bu ortamda deney bitkileri yetiştirildi. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinin diğer serisine ise tam Hoagland çözeltisinde bulunan miktar kadar Zn eklendi. + Zn şeklinde tanımlanan bu çözeltide yetiştirilen bitkiler de kontrol olarak kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, Tablo 7 ve Şekil 7 de gösterildi. Şekil 7 deki grafiklerin karşılaştırılmasından, -Zn çözeltisinde yetiştirilen deney grubu fidelerinin kotiledonlarında senesensin üç gün kadar geç başladığı, fakat senesensin başlamasından 5 gün sonra kontrol grubunun senesens hızına paralel bir gelişme gösterdiği anlaşıldı.

Tablo 7. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisine, tam Hoagland çözeltisindeki miktar kadar çinko konularak hazırlanan seride (1/8 Hoagland+Zn) ve hiç çinko içermeyen 1/8 Hoagland çözeltisinde (1/8 Hoagland-Zn) yetiştirilen *H. annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki ortalama yeşil alan % sinin zamanla değişimi.

<u>1/8 HOAGLAND + Zn</u>		<u>1/8 HOAGLAND - Zn</u>	
GÜNLER	ORTALAMA YEŞİL ALAN % Sİ	GÜNLER	ORTALAMA YEŞİL ALAN % Sİ
17	100.00 ± 0.00	20	100.00 ± 0.00
22	78.00 ± 0.26	23	73.93 ± 1.62
25	56.34 ± 1.42	27	49.45 ± 1.23
29	32.73 ± 2.46	30	21.61 ± 1.72
33	0.00 ± 0.00	34	0.00 ± 0.00

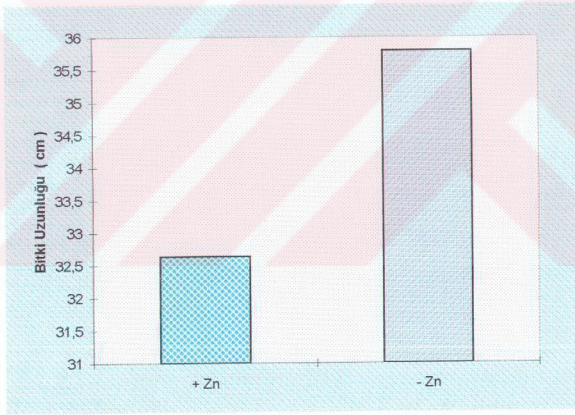


Şekil 7. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland + Zn ve 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland - Zn ortamında yetiştirilen *H. annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki ortalama yeşil alan % sinin zamanla değişimi.

Senesens ile ilgili gözlemler yapıldıktan sonra , 40. Günde fidelerin boyları hipokotil başlangıcından apikal uca kadar ölçüldü ve Şekil 8 den de anlaşılabacağı gibi, çinko eksikliğinde yetişen fidelerin + Zn ortamındakilere göre daha uzun oldukları ve aradaki boy farkının istatistik bakımdan anlamlı olduğu saptandı.

Tablo. 8. Çinkolu (+Zn) ve Çinkosuz (-Zn) Hoagland çözeltisinde yetişen 40 günlük fidelerin uzunlukları (cm)

Yetiştirme ortamı	Bitki Uzunluğu (cm)
1/8 Hoagland + Zn	32.64 ± 0.54
1/8 Hoagland - Zn	35.79 ± 0,75

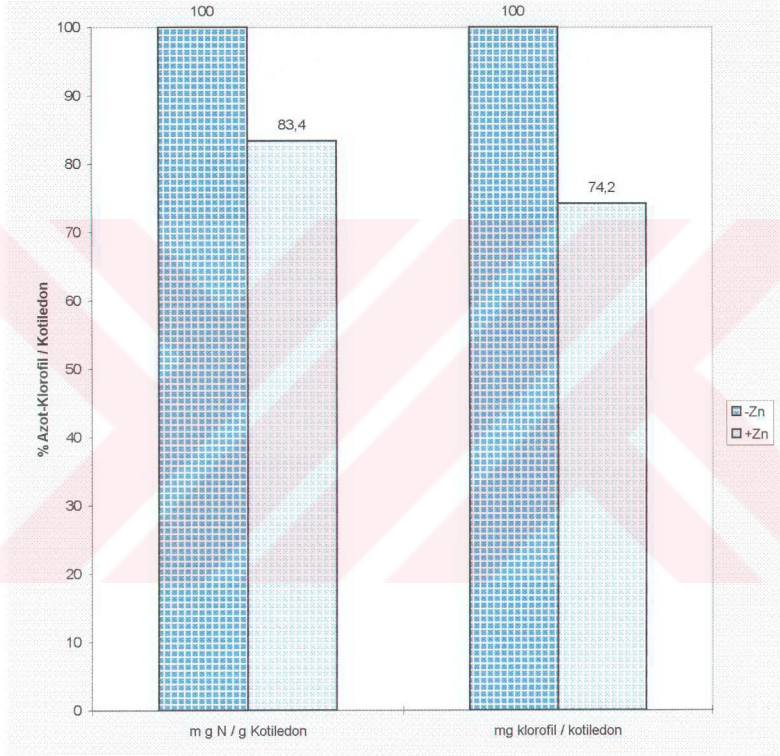


Şekil 8. Çinkolu (+Zn) ve Çinkosuz (-Zn) Hoagland çözeltisinde yetişen 40 günlük fidelerin uzunlukları (cm)

Ayrıca, 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisine Zn eklenerek ve eklenmeyerek hazırlanan çözeltilerde yetiştirilen bir deney serisinde bitkilerin, kotiledonlarında bulunan total klorofil; diğer bir deney serisinde ise total azot miktarları ölçülerek karşılaştırıldı. Bu deneylerde, 1/8 Hoagland + Zn ortamında yetiştirilen (kontrol) bitkilerde kotiledon senesensi, plastokron indekse göre %50 ye eriştiği günde, deney ve kontrol gruplarındaki tüm fidelerin kotiledonları hasat edildi (Bu deney serilerinde, kontrol grubunda % 50 senesens 28. günde meydana geldi). Tüm kotiledonlarda bulunan total klorofil miktarı, kotiledon sayısına bölünerek “mg klorofil / kotiledon” bazında hesaplandı. Total azot miktarı ise “mg N / g kuru kotiledon” bazında ölçüldü. Zn eksikliğinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarındaki klorofil ve azot miktarı, + Zn ortamında yetişen fidelerin kotiledonlarındakinden fazla bulundu.

Tablo 9. 1/8 Hoagland + Zn ortamında yetiştirilen (kontrol grubu) bitkilerin kotiledonlarında O.Y.A % si 50 ye eriştiği zaman hasat edilen kontrol ve 1/8 Hoagland -Zn çözeltisinde yetiştirilen (deney grubu) fidelerin kotiledonlarındaki total klorofil (mg klorofil / kotiledon) ve total azot (mg N / g kuru kotiledon) miktarlarının karşılaştırılması.

Yetiştirme ortamı	O.Y.A. (%)	mg N g kotiledon	%	mg klorofil kotiledon	%
1/8 Hoagland + Zn (Kontrol)	50	108.109 ± 2.562	83.4	0.0435 ± 0.001	74.2
1/8 Hoagland -Zn (Deney)	64	129.603 ± 4.256	100	0.0586 ± 0.005	100



Şekil 9. Kontrol grubu fidelerinde O.Y.A. % si nin 50 ye eriştiği gün hasat edilen fidelerin kotiledonlarında bulunan klorofil (mg total klorofil / kotiledon) ve total azot (mg N / g kuru kotiledon) miktarlarının % cinsinden karşılaştırılması (+ Zn Kontrol grubu bitkilerini, - Zn deney grubu bitkilerini göstermektedir).

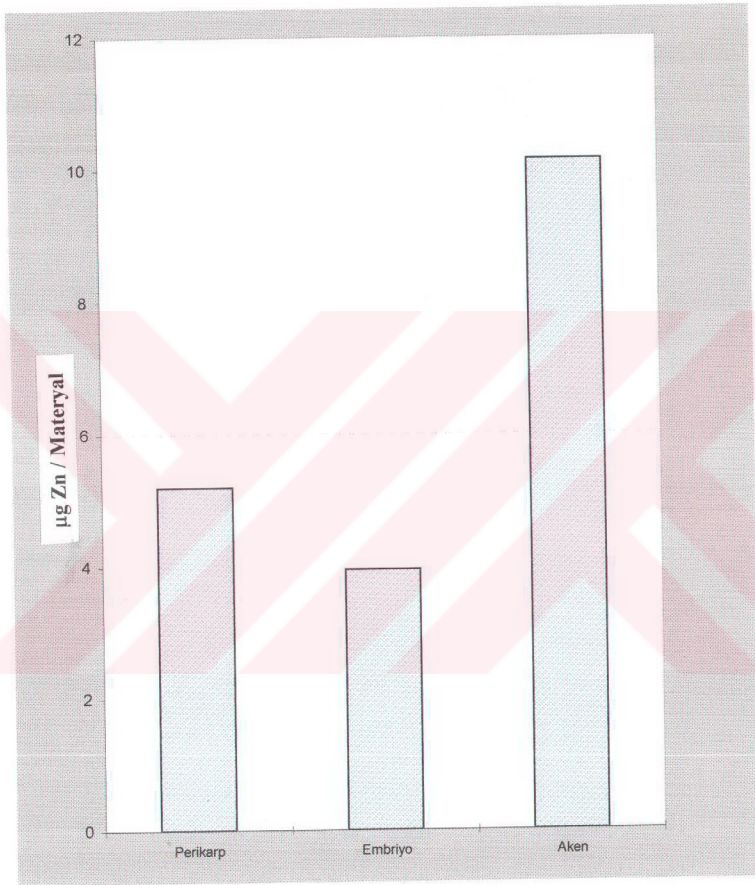
Diğer taraftan, ayçiçeği akenlerinde doğal olarak bir miktar Zn bulunabileceği göz önüne alınarak, 1/8 Hoagland-Zn ortamında yetiştirilen fidelerin sahip olabileceği çinko miktarı da ölçüldü. Elde edilen değerler Tablo 10 ve Şekil 10 da gösterildi.

Tablo 10. Ayçiçeği akenlerinde doğal olarak bulunan Zn miktarı (* = anlamlı)

Materyal	mg kuru ağırlık materyal	µ g Zn / materyal
Perikarp	25.99 ± 0.95	5.1939 ± 0.229*
Embriyo	51.94 ± 0.22	3.9479 ± 0.262 *
Aken	74.43 ± 0.95	10.1479 ± 0.660*

Tablo 10 da görülen değerlerden de anlaşılacağı gibi, akende bol miktarda çinko bulunduğu, en fazla çinkonun da perikarpta birikmiş olduğu görüldü. *

+ Zn ortamında yetiştirilen bitkilerde IAA stabilizasyonunun sağlanması yanında, tohumda bulunan Zn miktarına Hoagland çözeltisindeki çinkonun eklenmesiyle bitki gelişmesi üzerinde toksik etki yapmış; o nedenle de + Zn ortamında yetiştirilen fidelerin boyları kısa kalmış olabilir. Aslında, Tablo 4. ve Şekil 4. te görüldüğü gibi bitkiler tam Hoagland çözeltisinde de biraz yavaş büyüdüler.



Şekil 10. Ayçiçeği akenlerinin, perikarp ve embriyosunda doğal olarak bulunan Zn miktarı.

III. 4. Büyüme Regülatörlerinin Kotiledon Senesensi Üzerine Etkisi

I. internodyumu haşlanan fidelerin kotiledonlarında senesensin geciktiği bilindiği için, gövde ucu ile kotiledonlar arasındaki haberleşmenin, IAA ya benzer bir sinyal ile sağlanabildiği üzerinde durulmuştu (Sağlam ve Okatan, 1990). Bu konuda daha da ayrıntılı bilgiler elde edebilmek üzere bu araştırmada bazı yeni deneyler düzenlendi:

III. 4. 1. Senesens Sinyalinin Endogen Oksin Olduğu Varsayımına Göre Düzenlenen Deneyler

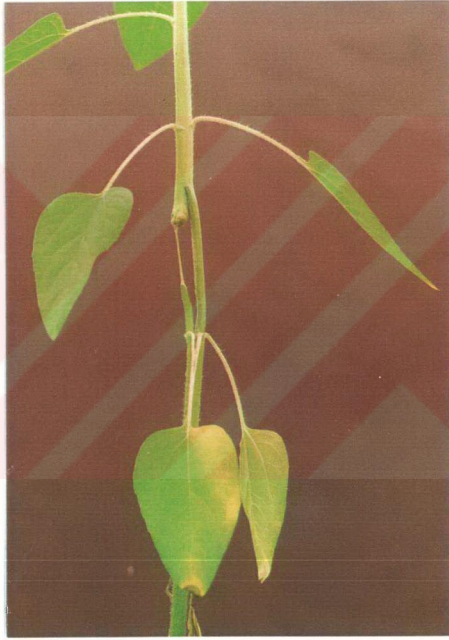
1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltilinde yetiştirilen fideler, kotiledonlarında senesens meydana gelmeden önce, 2. nodyumun hemen altından başlayarak 1. internodyum boyunca ve iki kotiledondan birini diğerinden ayıracak şekilde, longitudinal doğrultuda yarıldı. Böylece ikiye ayrılmış olan 1. internodyumun bir yarısı, kızgın su buharı ile haşlandı. Haşlanan tarafın altında kalan kotiledon, deney materyali olarak değerlendirildi. Internodyumun diğer yarısına haşlama işlemi yapılmadı ve o tarafta kalan kotiledon da kontrol olarak kullanıldı. Bu şekilde düzenlenen deney bitkilerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin kinetiği, plastokron indeks ile kıyaslandı. Bu tür deneylerde kullanılan fidelerin hepsinde, haşlanan bölgenin altındaki kotiledonun daha uzun yaşadığı saptandı (Fotograf 3).



Fotograf 3. 2. nodyumun hemen altından başlayarak 1. internodyum boyunca ve iki kotiledondan birini diğerinden ayıracak şekilde, longitudinal doğrultuda yarılan ve 1. İnternodyumunun bir yarısı kızgın su buharı ile haşlanan fidelerde haşlanan tarafın altındaki kotiledonda senesensin gecikmesi.

Benzer bir şekilde düzenlenen diğer bir deney serisinde, bitkilerin her hangi bir nodyumdaki yaprağının petiyölü, gövde ile birlikte longitudinal doğrultuda ikiye ayıracak şekilde yarıldı. İnternodyumun bir yarısı kızgın buharı ile haşlandı. Bu

bitkilerde ise, laminanın, haşlanan yarım gövdeye bağlı olan tarafında senesensin geciktiği görüldü (fotograf 4).



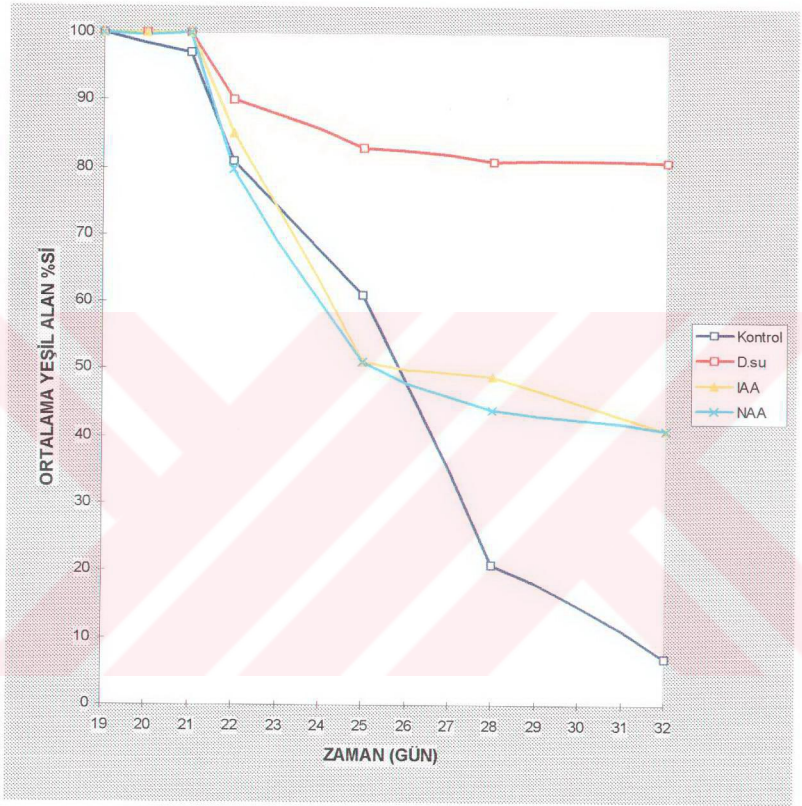
Fotograf 4. Petiyolünün bir yarısı gövdenin haşlanmış tarafına, diğer yarısı haşlanmamış tarafına bağlı olan yapraklarda, laminanın haşlanmış tarafa bağlı yarısında senesensin gecikmesi.

III. 4. 2. IAA nın Senesens Sinyali Olması ile İlgili Varsayımın, Ekzogen Oksin Uygulanarak Denenmesi

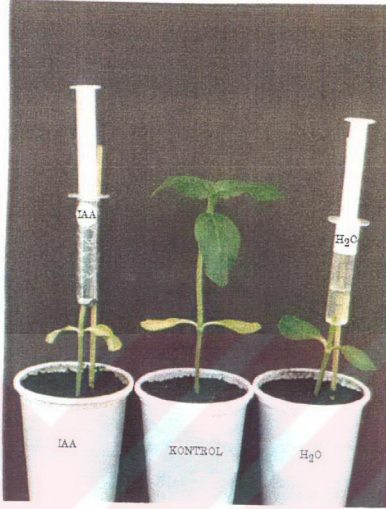
1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkilerin birkaç tanesinin kotiledonunda senesens meydana geldiği gün (19. gün), kotiledonları henüz yeşil olan bitkiler seçilerek üç gruba ayrıldı. Bu gruplardan biri kontrol grubu olarak bırakıldı. Diğer iki gruptaki bitkiler, ikinci nodyumun hemen altından kesilerek dekapite edildi. Bu gruplardan birine kesik uçtan distile su; diğer gruba da IAA verildi (ikinci bir seri deneyde ise IAA yerine NAA çözeltisi verildi). Bu şekilde işlem gören bitkilerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin kinetiği, plastokron indeks ile ölçülerek kıyaslandı. Elde edilen sonuçlar, Tablo 11 ve Şekil 11 de ve Fotograf 5 de görülmektedir.

Tablo 11. İkinci nodyumun altından kesilerek dekapite edilen bitkilerin kesik ucundan Distile su, veya 10^{-5} M IAA ya da 10^{-5} M NAA verilen ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesens kinetiğinin kontrol (dokunulmamış) bitki grubu ile kıyaslanması.

KOTİLEDONLARIN YEŞİL ALAN % Sİ				
GÜNLER	Kontrol	D. su	IAA	NAA
19	100	100	100	100
21	97	100	100	100
22	81	90	85	80
25	61	83	51	51
28	21	81	49	44
32	7	81	41	41



Şekil 11. İkinci internodyumun altından dekapite edilen ve kesik uçtan 10^{-5} M IAA, 10^{-5} M NAA veya H_2O verilen 19 günlük *H. annuus* fidelerinin deney materyali ve kontrol (intact) olan kotiledonlarında, ortalama yeşil alan % si.



Fotograf 5. 19.günde kotiledonları henüz yeşil olan fidelerin ikinci nodyumun hemen altından kesilerek dekapite edilmesinden sonra kesik uçtan H_2O verilen bitkilerin kotiledonlarında senesens meydana gelmemesine karşın, 10^{-5} M IAA (diğer bir seride 10^{-5} M NAA) verilen bitkilerin kotiledonlarında senesensin meydana gelişi (kontrol : dokunulmamış bitki)

IAA ve NAA uygulanan deney bitkilerinin kotiledonlarında senesens meydana geldiği halde distile su verilen bitkilerin büyük bir çoğunluğunda kotiledonların yeşil kaldığı görüldü.

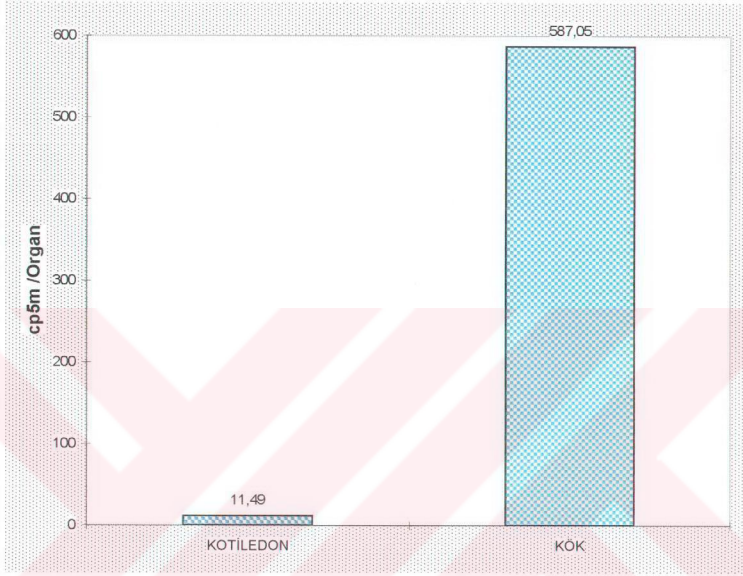
Yukarıda anlatılan deneylere paralel olarak yapılan başka bir deney serisinde ise, 17 günlük bitkiler (hiç bir bitkide senesens meydana gelmeden önce) aynı işleme tabi tutuldular. Bu seride, kontrol (dokunulmamış) bitkilerin kotiledonlarında senesens meydana geldiği halde, her nedense, deney gruplarının hiç birinde (ister IAA veya NAA; isterse su verilmiş olsun) senesens meydana gelmedi.

III. 4. 3. Gövde Ucundan Verilen ^{14}C -IAA nın Bitkideki Dağılımı

İndolasetik asitin senesens ile ilişkisini daha da ayrıntılı bir şekilde anlayabilmek için, gövde ucunda sentez edildiği ve buradan bazipetal doğrultuda aşağıya doğru taşındığı bilinen bu hormonun, deney bitkisinin ilk önce hangi organına taşındığı incelendi. Bunun için, 1/4 oranında seyreltilen Hoagland çözeltisinde yetiştirilen 29 günlük bitkilerin kotiledonlarında % 75 senesens meydana geldiği zaman, tepe tomurcuğu üzerine 10^{-5} M IAA çözeltisinden 120 μl damlatıldı. IAA nın foto oksidasyonunu önlemek amacıyla, IAA damlatma işlemi bitkilerin karanlık periyoda girecekleri sırada yapıldı. 12 saat karanlık periyodun ardından bitkilerin kök ve kotiledonları hasat edildi. 80 °C etüvde kurutulan örnekler, β sayıcısında sayıldılar. Değerler Tablo 12 da görülmektedir.

Tablo 12. Tepe tomurcuğuna ^{14}C -IAA çözeltisi damlatılan ayçiçeği fidelerinin kök ve kotiledonlarında bulunan ^{14}C miktarı (Tablodaki değerlerin her biri, 11 bitkiye ait 11 kök ve 22 kotiledonun ortalamasıdır. Organlara ait değerlerin her biri için üç ölçü yapılmış ve ortalaması alınmıştır).

Organ	cp5m	Zemin radyasyonu	Fark
Kotiledon	299.85 $\pm$ 31.25	288.36 $\pm$ 3.015	11.49
Kök	875.41 $\pm$ 29.09	288.36 $\pm$ 3.015	587.05 *



Şekil 12. Tepe tomurcuğuna ^{14}C -IAA çözeltisi damlatılan ayçiçeği fidelerinin kök ve kotiledonlarında saptanan ^{14}C miktarı

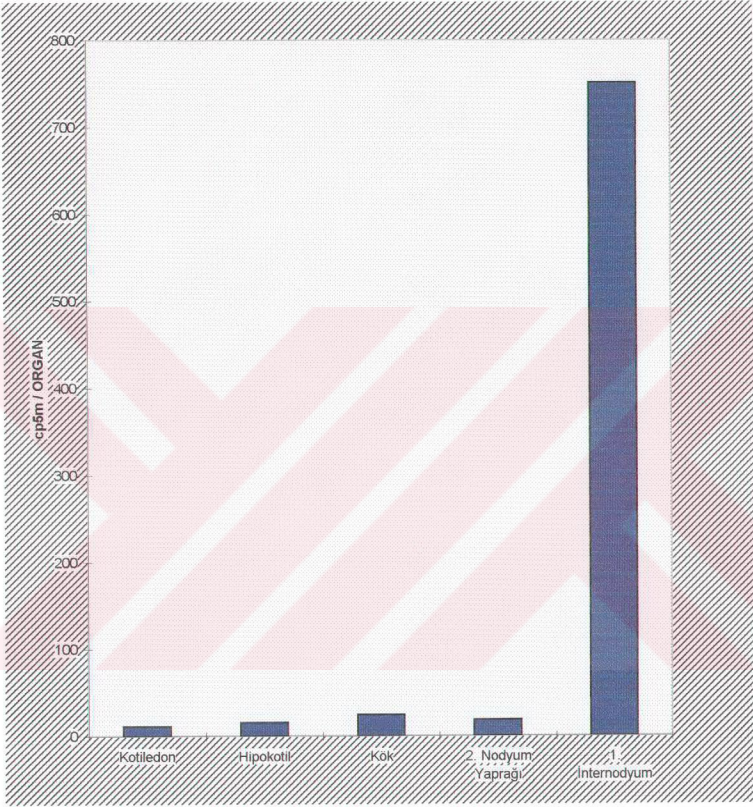
Ölçülen değerlerden zemin radyasyon değeri çıkarıldı ve organdaki radyasyon miktarı bulundu. İstatistik bakımından anlamlı olanları asteriks ile işaretlendi. Bununla beraber, kökte bulunan radyoaktivitenin kotiledondakinin 20 katından fazla olduğu görüldü. Elde edilen değerlerden, tepe tomurcuğundan verilen IAA'nın hızla köke doğru taşındığı anlaşıldı.

Diğer bir seri deneylerde ise, 1/4 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelerin 1. internodyumunun ortasından 1 cm kadar bir bölgesi, 17. günde kızgın su buharı ile haşlandı. 32. günde, kotiledonları henüz %100 yeşil olan

bitkilerin tepe tomurcuğuna 60 µl 10⁻⁵M IAA + tween-20 damlatıldı. Bu işlem bitkiler karanlık periyoda girmeden önce yapıldı. 12 saat sonra (ışık periyodun başlangıcında) bitkilerin farklı organları hasat edildi. Bu organlarda bulunan radyoaktivite miktarları Tablo 13 ve Şekil 13 de gösterildi.

Tablo 13. 1/4 oranında seyreltilen Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve 1. internodyumun ortasından 1 cm kadar bir bölgesi su buharı ile haşlanan bitkilerin tepe tomurcuğuna ¹⁴C-IAA damlatıldıktan 12 saat sonra bitkilerin çeşitli organlarındaki radyoaktivite sayımları

Organ	cp5m	Zemin radyasyonu	Fark
2. nodyum yaprağı	306.92 ± 7.05	288.36 ± 3.015	18.56
1. internodyum (haşlanan kısmın üstü)	1039.33 ± 57.63	288.36 ± 3.015	750.97 *
%100 yeşil kotiledon	299.87 ± 7.66	288.36 ± 3.015	11.51
Hipokotil	304.00 ± 11.82	288.36 ± 3.015	15.64
Kök	313.00 ± 10.64	288.36 ± 3.015	24.64



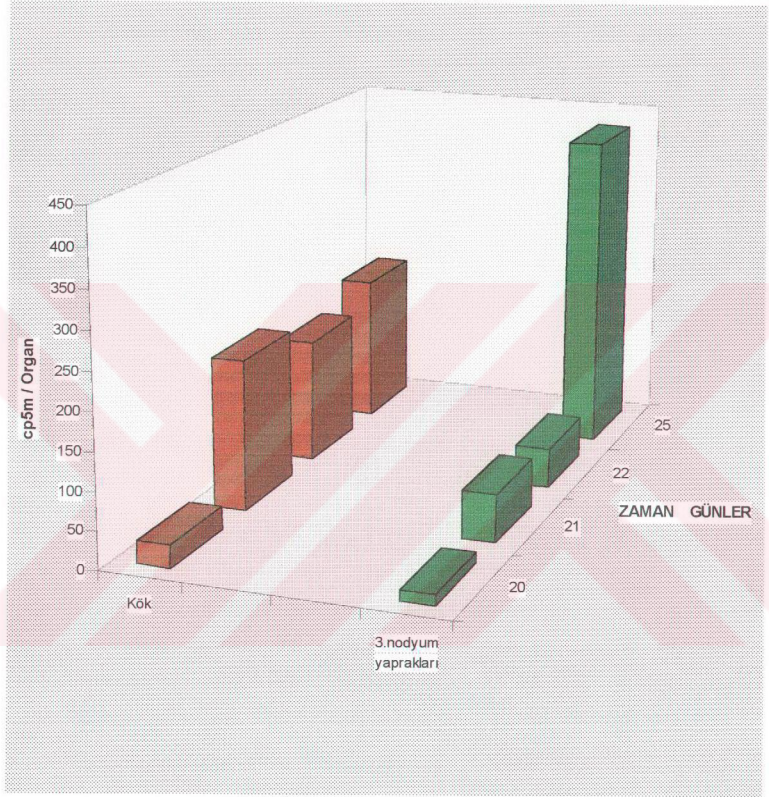
Şekil 13. 1/4 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve 1. internodyumun ortasından su buharı ile haşlanan bitkilerin tepe tomurcuğuna ^{14}C -IAA damlatıldıktan 12 saat sonra bitkilerin çeşitli organlarında bulunan radyoaktivite miktarları.

1. internodyumun haşlanan kısmından aşağıdaki organlarda sayılan radyoaktivite farkının istatistik bakımından anlamsız olmasından, radyoaktivitenin haşlanan bölgeden aşağıya eser miktarda geçebildiği anlaşıldı. Radyoaktivitenin çok büyük bir miktarının, internodyumun haşlanan kısmı üzerinde birikmiş olduğu saptandı. Bununla beraber, haşlanan kısmın üzerinde bulunmasına rağmen 2. internodyumdaki yapraklarda istatistik bakımından önemli miktarda bir radyoaktiviteye rastlanmadı.

Gövde ucundan verilen ^{14}C IAA'nın, yapraklara uğramadan köke taşındığı görüldükten sonra, 2. nodyum yaprağından verilen IAA'nın da köke mi yoksa daha genç yapraklara doğru mu taşındığını saptamak amacıyla, başka bir deney serisi düzenlendi. Bu seride, 19 günlük bitkilerin 2. nodyumdaki yapraklarına 40'ar μl olmak üzere toplam 80 μl ^{14}C -IAA damlatıldı. Bitkiler bu işlemten itibaren 1, 2, 3 ve 6 gün sonra (20., 21., 22. ve 25. günlerde) hasat edildiler. Köklerindeki ve 3. nodyum yapraklarındaki radyoaktivite miktarı ölçüldü. Sonuçlar, Tablo 14 ve Şekil 14 de gösterildi.

Tablo 14. 19 günlük bitkilerin 2. nodyum yapraklarına uygulanan 80 μl ^{14}C -IAA'nın, farklı günlerde kök ve 3. nodyum yapraklarındaki radyoaktivite sayımları

Hasat Günü	Kök (cp5m)	3.nodyum yaprakları (cp5m)	Zemin radyasyonu (cp5m)	Fark (kök)	Fark (3.nodyum yaprakları)
20	318,44 $\pm$ 11.627	302,67 $\pm$ 3.567	288.36 $\pm$ 3.015	30.08	14.31 *
21	489,11 $\pm$ 34.310	352,22 $\pm$ 10.97	288.36 $\pm$ 3.015	200.75*	63.86 *
22	454.00 $\pm$ 45.287	342.00 $\pm$ 14.09	288.36 $\pm$ 3.015	165.64 *	53.64 *
25	485,67 $\pm$ 11.794	712,89 $\pm$ 131.27	288.36 $\pm$ 3.015	197.31 *	424.53 *



Şekil 14. 19 günlük bitkilerin 2. nodyum yapraklarına uygulanan $80 \mu\text{l } ^{14}\text{C}$ -IAA nm, farklı günlerde kök ve 3. nodyum yaprağındaki radyoaktivite miktarları

2. nodyum yapraklarına uygulanan ^{14}C -IAA'nın önce köke; daha sonra da kökten yapraklara doğru taşındığı saptandı. Şekil 14 deki kökle ilgili grafiğin, 22. ve 25. günlerine rastlayan değerler arasındaki farklar istatistik bakımından anlamlı bulunmadı. Aynı şekilde, 3. nodyum yaprağı ile ilgili grafiğin 21. ve 22. günlere rastlayan değerleri arasındaki farkların da anlamlı olmadığı saptandı.

III. 4. 4. Sitokinin Eksikliğinin Senesense Neden Olduğu Varsayımına Göre Düzenlenen Deneyler

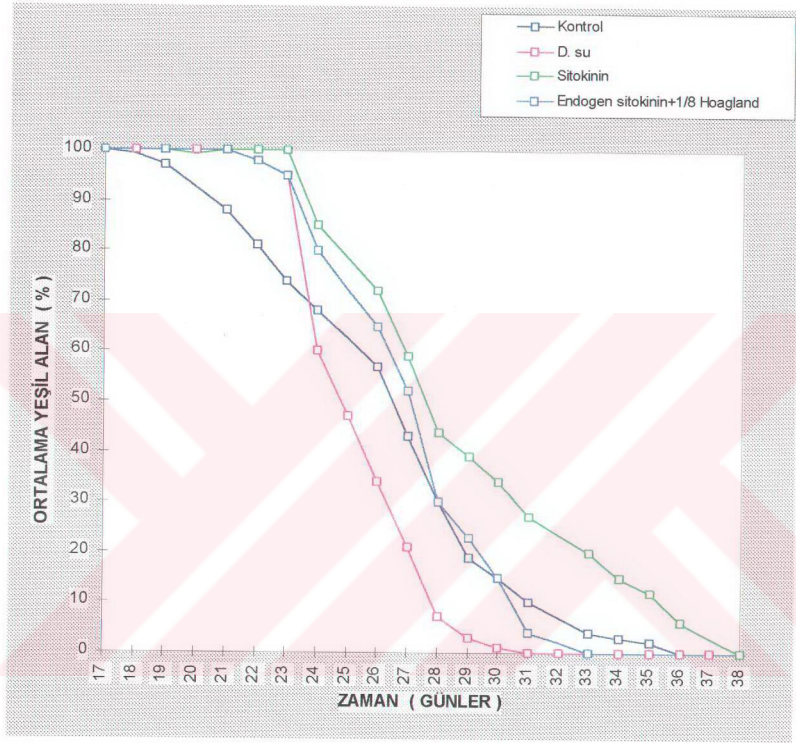
Eksogen IAA uygulamasında olduğu gibi, 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelerin birkaç tanesinde kotiledonların sararmaya başladığı gün, mevcut fidelerin kotiledonları henüz % 100 yeşil olanları seçildi ve bunlar da üç gruba ayrıldı. Bu gruplardan biri kontrol olarak bırakıldı. Diğer iki gruptaki bitkilerin hipokotillerine, kotiledonun yaklaşık 3 cm altından başlayan ve kotiledonların birini diğerinden ayırarak 1. internodyuma kadar uzanan bir çentik açıldı. Böylece çentikle ayrılan taraftaki kotiledonun kök ile ilişkisi kesilmiş oldu. Hipokotiline çentik açılan bitkilerin bir grubunun çentiği sitokinin (Benzil adenin) çözeltisi doldurulmuş tüplere, diğer grubunun çentiği ise distile su doldurulmuş tüplere daldırıldı. Bu şekilde düzenlenen bitkilerde deney ve kontrol grubunun kotiledonlarında meydana gelen senesensin kinetiği, plastokron indeks ile ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Fotoğraf 6, Tablo 15 ve Şekil 15 de gösterildi.



Fotograf 6. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve çentikle ayrılan hipokotilin kök ile ilişkisi kesilen ucu distile suya (A) ve sitokinin çözeltisine (B) daldırılan *H. annuus* fideleri

Tablo 15. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve çeşitli işlemlere tabi tutulan bitkilerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin ortalama yeşil alan (O.Y.A.) cinsinden kinetiği

Günler	KOTİLEDONLARIN ORTALAMA YEŞİL ALAN % Sİ			
	KONTROL	H ₂ O Verilen kotiledon	Sitokinin verilen kotiledon	karşı kotiledon (kökten beslenen)
	100	100	100	100
19	97	100	100	100
21	88	100	100	100
22	-	98	100	98
23	74	95	100	95
24	68	60	85	80
26	57	34	72	65
27	43	21	59	52
28	30	7	44	30
29	19	-	-	-
30	-	-	34	15
31	10	0	27	4
33	4	0	20	0
34	-	0	15	0
35	2	0	12	0
36	0	0	-	0
38	0	0	0	0



Şekil 15. 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve Tablo 8 de belirtilen işlemlere tabi tutulan bitkilerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin, ortalama yeşil alan % cinsinden kinetiği

Yukarıdaki şekil 15 den de izleneceği gibi, distile su verilerek mineral besinlerden ve sitokininden yoksun bırakılan ya da kökten beslenen kotiledonlarda senesens erken meydana gelirken, minerallerden yoksun bırakılıp sadece sitokinin verilen kotiledonlarda senesensin geciktiği görüldü.

IV. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada, 1/2 oranından fazla seyreltilmiş Hoagland çözeltilerinde yetiştirilen ayçiçeği fidelerinde, büyümenin yavaşladığı ve sırasal yaprak senesensinin kontrole göre daha erken meydana geldiği gözlemlendi. Seyreltilmiş çözeltilerdeki azot eksikliğinin giderilmesi halinde ise, sırasal yaprak senesensinin geciktiği saptandı. Bu sonuçlar, genelde olduğu gibi, ayçiçeği fidelerinde meydana gelen sırasal yaprak senesensinin de azot metabolizmasıyla yakından ilişkili olduğunu doğrulamıştır. Öte yandan, azot yetersizliğinin bitkilerdeki büyüme regülatörlerinin sentezi ile doğrudan ilişkili olduğu (Avery ve ark., 1937) ve özellikle sitokininlerin senesensi geciktirdiği eskiden beri bilindiğinden (Fletcher, 1969; Paranjothy ve Wareing, 1971; Noodén ve ark., 1979; Salisbury ve Ross, 1992; Gan ve Amasino, 1995), ayçiçeği fidelerinde meydana gelen sırasal yaprak senesensinin, azot eksikliğine bağlı sitokinin yetersizliği bağlamında açıklanması kabul edilebilir bir yaklaşım olarak görülebilir. Özellikle doğal bir sitokinin olan kinetinin purin halkasında 5 tane azot atomunun bulunduğu göz önüne alınca, bitkilerin beslenme ortamındaki azot yetersizliğinin sitokinin biyosentezini olumsuz yönde etkileyeceği açıktır (Avery ve ark., 1937; Horgan ve Wareing, 1980). Azot bakımından fakir ortamlarda yetiştirilen bitkilerin yapraklarında, tomurcuklarında, köklerinde ve kökten salgılanan sıvılarda (kök exudatlarında) sitokinin miktarının çok az oluşu da (Salama ve Wareing, 1979) besi ortamındaki azot miktarı ile bitkideki sitokinin miktarı arasında doğru orantılı bir ilişki bulunduğunu ortaya koymaktadır. Bu araştırmada elde edilen verilerden bir kısmı, örneğin 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkilerde senesensin hızlanmasına karşılık, beslenme ortamına yeteri kadar azot ilave edilince

senesensin gerilemesi (Şekil 6) ve hipokotile açılan bir çentikten bitkiye sitokinin verilmesi halinde senesensin gecikmesi (Şekil 15), literatür bilgilerine son derece uygun düşmektedir. Bununla beraber, bazı deneylerin IAA'nın senesensi teşvik ettiğini ortaya koyması, yukarıda vurgulanan açıklamalara ters düşüyor gibi görünmektedir. Çünkü, 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve dekapite edilerek, kesik uçtan H₂O verilen bitkilerin kotiledonlarında senesens meydana gelmediği halde IAA veya NAA verilen bitkilerde senesensin meydana gelmesini, ortamdaki azot eksikliği ile açıklamak mümkün değildir. Özellikle bitkilerde büyüme hormonu olarak iş gördüğü bilinen IAA molekülünde 1 tane N atomunun bulunduğu göz önüne alınırsa, azot yetersizliği ile senesens arasında IAA'nın rolü bulunduğunu ileri sürmek, tutarlı ve inandırıcı olmayabilir. Fakat, ¹⁴C-IAA kullanılarak yapılan deneylerden elde edilen bulgular ile literatürde yer alan bir takım verilerin karşılaştırılması halinde, senesensin meydana gelmesinde IAA'nın nasıl bir rol oynadığı oldukça açık bir biçimde ortaya çıkmaktadır. Bu sonucun görülebilmesi için, literatürde yer alan bilgiler ile bu araştırmada elde edilen deneysel verilerin aşağıda belirtilen sıra ile karşılaştırılması gerekmektedir:

1. IAA'nın, gövde ucu ile genç yapraklarda sentez edildiği ve buradan gövdenin canlı dokuları üzerinden bazipetal doğrultuda aşağıya doğru taşındığı (Went ve Thimann, 1937; Behringer ve Davies, 1992), ksilem tarafından taşınmadığı (Morris ve Kadir, 1972; Morris ve ark., 1973) eskiden beri bilinmektedir.

Bu araştırmada, 1. internodyumunun 1 cm kadar kısmı kızgın su buharı ile haşlanarak oradaki canlı dokuları öldürülen bitkilerde, gövde ucundan verilen ¹⁴C-IAA'nın haşlanan bölgeden aşağıya geçemediği kesin olarak saptanmıştır. Buna paralel olarak yapılan diğer bir seri deneylerde ise, haşlanan bölgenin altındaki kotiledonlarda

veya yapraklarda senesensin geciktiği de gözlenmiştir (Fotograf 3). IAA'nın haşlanan bölgeden aşağıya geçememesi sonucunda, bu bölgenin altında kalan kotiledonlarda ya da yapraklarda senesensin gecikmesi senesensin meydana gelmesinde, IAA'nın rol oynadığını ortaya koymaktadır. Öte yandan, 19. günde dekapite edilen ve kesik uçtan IAA veya NAA verilen bitkilerde senesens meydana gelmesi, IAA'nın sırasal yaprak senesensinde rolü olduğunu gösteren diğer bir veri olarak değerlendirilebilir. Bu araştırmada elde edilen bir başka sonuç da, çinko eklenmeden hazırlanan ve 1/8 oranında seyreltilen Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkilerin kotiledonlarında senesensin gecikmesidir. Çinkonun IAA stabilitesini sağladığı göz önüne alınırsa (Skoog, 1940; Takaki ve Kushizaki, 1970) bu sonuç, çinko eksikliğinde bitkilerdeki IAA stabilizasyonunun sağlanamadığını ve IAA'nın yıkılarak ortadan kalkmasına paralel olarak senesensin de geciktiği şeklinde yorumlanabilir. Yukarıda belirtilen deney verilerini destekleyen literatür verileri de mevcuttur. Örneğin, IAA'nın bazipetal taşınmasını inhibe eden Triiodobenzoik asit (TIBA) gibi kimyasal; veya horizontal klinostat etkisi gibi fiziksel faktörlerin, kotiledonlarda senesensin gecikmesine neden olduğu saptanmıştır (Okatan ve Ünal, 1996; Ünal ve Okatan, 1996). Senesensin gecikmesi ile IAA'nın bazipetal taşınmasındaki gecikme arasındaki uyumluluk, sırasal yaprak senesensinin hormonal mekanizmasında IAA'nın rol oynadığına işaret edebilir. Nihayet, hipokotil büyümesi sona ermiş ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında senesens meydana gelmeden önce bir kotiledonu aşağıya, diğer kotiledonu yukarıya gelecek şekilde horizontal konumda bırakıldıkları takdirde aşağıdaki kotiledonda senesensin daha erken başlaması (Sağlam ve Okatan, 1990) senesens sinyalinin yerçekimi etkisi ile lateral taşındığını ve bu özelliği ile de IAA ya benzediğini göstermesi ilginçtir. Ayrıca ksilogenezis gibi hücre ve doku düzeyinde programlanmış ölüm olayında da

IAA'nın rol oynadığı bilinmektedir (Altman ve Wareing, 1975; Even-chen ve ark. 1978; Cutter, 1979).

2. Gövde ucunun koparılması halinde kotiledonlarda senesensin meydana gelmemesi (Leopold, 1961), besinlerin taşınacağı dokuların ortadan kaldırılmasına bağlanarak açıklanabileceği gibi sinyal kaynağının ortadan kaldırılmasına da bağlanabilir. Fakat yapılan bir deney de (Sağlam ve Okatan, 1990), ayçiçeği kotiledonlarında senesens meydana gelmeden önce, kotiledonları hariç tüm yaprakları ve gövde ucu karanlıkta bırakılan fidelerin kotiledonlarında, senesensin geciktiği gözlenmiştir. Bu bitkilerde, kökü ve (sürekli karanlıkta bırakıldıkları için fotosentez yapmayan) tüm yaprakları beslemek durumunda kalan kotiledonlarda senesensin meydana gelmemesi, besin boşalımı hipotezini zayıflatan ve sinyal hipotezini destekleyen bir veri olarak değerlendirilebilir.

3. Yukarıda gözden geçirilen literatür verileri ile deney sonuçları, senesensin meydana gelmesini açıklamaya çalışan hipotezlerden biri olan sinyal hipotezini desteklemekte ve bu sinyalin de IAA olabileceğini göstermekteyse de, ¹⁴C-IAA ile yapılan deneyler, gövde ucundan verilen IAA'nın yapraklara uğramadan, doğrudan doğruya köke gittiğini göstermiştir. Bu durumda, IAA'nın yapraklarda meydana gelen senesens ile ilgili olmadığı düşünülebilir. Fakat, sitokininlerin senesensi engellediği ve sitokinin biyosentezini engelleyen faktörlerin de (mineral beslenmede azot eksikliği gibi) senesensin meydana gelmesine neden olduğu göz önüne alınırsa, IAA'nın senesens olayındaki rolü anlaşılabilir. Bunun için de dikkatlerin, aşağıda sıralanan veriler arasındaki ilişkiler üzerine yoğunlaştırılması gerekebilir:

- a) Sitokininlerin, kök ucunda sentez edilerek, buradan bitkinin yapraklarına ve diğer organlarına ksilem yoluyla taşınması (Noodén ve Leopold, 1988; Taiz ve Zeiger, 1991; Lejeune ve ark., 1994);
- b) Köklerdeki sitokininin üretiminin azalması halinde yapraklardaki sitokinin miktarının da azalması (Noodén ve ark., 1990);
- c) IAA'nın gövde ucunda sentez edilip canlı hücreler üzerinden bazipetal taşınarak doğrudan köke inmesi ve orada sitokinin oksidaz enziminin aktivitesini allosterik aktivatör olarak artırması (Palni ve ark., 1988; Hare ve Staden, 1994);
- d) Bitkilerin ksilem özsuğunda bulunan sitokininlerin, polar oksin taşınma sisteminin kontrolü altında olması ve köklerden yapraklara doğru sitokinin akışında meydana gelen azalmanın senesens sinyali gibi önem taşıdığıın ileri sürülmüş olması (Noodén ve ark., 1990);
- e) Belli hücrelerin ölümünü kapsayan ksilogenezis olayında IAA'nın rol oynaması (Altman ve Wareing, 1975; Even-Chen ve ark., 1978; Cutter, 1979);
- f) Bir grup araştıracının da yapraklarda üretilen ve senesens olayında rol oynayan bir sinyalin köklere taşındığını belirtmiş olması (Lejeune ve ark., 1994) gibi veriler, IAA'nın senesens olayında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bununla beraber IAA'nın yukarıda sıralanan işlevleri, örneğin sitokinin oksidazın allosterik aktivatörü olarak iş görmesi, sinyal-reseptör kavramına, başka bir deyişle sinyal-reseptör sistemindeki sinyalin işlevine uygun düşmemektedir. Sinyal-reseptör (veya hormon-reseptör) sistemine göre (Darnell ve ark., 1990; Cooper, 1997) bir hormonun sinyal olarak iş görebilmesi için, hedef hücrelerin plazma zarında ya da intersellüler zar sisteminde o sinyali algılayacak reseptörlerin bulunması gerekmektedir. Bu koşul göz önüne alındığı zaman, herhangi bir biyokimyasal sürecin (örneğin senesensin)

başlaması için özel bir sinyalin gerektiği kadar, o sinyali algılayacak belli bir reseptör bulunmasının gerektiği de ortaya çıkmaktadır. Eğer bir hücrede senesens süreci ile ilgili reseptörler mevcut değilse, o hücrenin senesens sinyalini algılaması mümkün değildir. Bu durumda IAA'nın senesens sinyali olarak iş görebilmesi, hedef hücrelerde IAA'yı senesens sinyali olarak algılayacak reseptörlerin sentez edilmiş olmasına bağlı kalmaktadır. Bu bilgilerin ışığı altında, 17. günde dekapite edilen ve kesik uçtan IAA ya da NAA verilen fidelerin kotiledonlarında senesensin meydana gelmemesinin nedeni bu kotiledonlarda IAA'yı senesens sinyali olarak algılayacak reseptörlerin henüz sentez edilmemiş olmasıyla açıklamak, teorik olarak mümkündür. Literatürde bu ihtimali destekleyen verilere rastlanmıştır. Örneğin, mısır fidelerinin koleoptil hücrelerinin plazma zarında, IAA'yı bağlayan ve biri diğerinden farklı zamanda meydana gelen iki farklı (reseptör) proteinin saptanmış olması ve bunlardan birincisinin büyüme ile ilgili olduğu halde ikincisinin henüz ne ile ilgili olduğunun anlaşılamamış olması ilginçtir (Shimomura ve ark., 1988; Jones ve ark., 1989; Jones, 1994). Koleoptil gibi kısa ömürlü bir organda, IAA'yı bağlayan ikinci proteinin senesens sinyalinin reseptörü olması ihtimali üzerinde durulabilir. Belli bir kimyasal maddenin farklı reseptörler tarafından algılanması ve farklı biyokimyasal süreçlerde sinyal olarak iş görmesi olağandır (Darnell ve ark., 1990; Cooper, 1997). Bu durumda IAA'nın, önce sentez edilen bir reseptör tarafından algılanarak büyüme sürecinde, ondan sonra sentez edilen başka bir reseptör tarafından algılanarak bu sefer de senesens sürecinde sinyal olarak iş görmesi mümkündür.

Sonuç:

Yukarıdaki verilerin ışığında, IAA'nın senesens olayında iki şekilde rol oynayabileceği ortaya çıkmıştır:

1) Sinyal olarak: IAA'nın sinyal olarak senesens sürecini başlatabilmesi, hedef hücrelerde senesens ile ilgili IAA reseptörlerinin sentez edilmesine bağlı olabilir. Bu araştırmada, sırasal yaprak senesensi ile ilgili olarak, IAA'yı kapsayan bir sinyal-reseptör sisteminin var olabileceğini düşündürecek nitelikte bazı ip uçları ortaya çıkmışsa da, bu konuda somut bir veri elde edilememiştir.

2) Sitokininin metabolizmasını ve dağılımını etkileyen bir faktör olarak: IAA, bir yandan sitokininin metabolizmasını kontrol etmek; bir yandan da sitokininleri bitkinin diğer organlarına taşıyacak olan ksilemin formasyonunda rol oynamak suretiyle, sitokininlerin hem bitkideki konsantrasyonunu hem de dağılımını kontrol ederek, gövdenin proksimal organlarına yeteri kadar sitokinin gitmesini engellemekte ve böylece, söz konusu organlarda senesensin meydana gelmesine neden olmaktadır. Bu araştırmada IAA'nın senesens sürecindeki bu tür etkinliklerini doğrulayacak ve ortaya koyacak nitelikte, orijinal ve oldukça kesin veriler elde edilmiştir.

Ayrıca, bu araştırmadan elde edilen sonuçlar bundan sonra araştırılması gereken en az iki konu bulunduğunu ortaya koymuştur. Bunlardan birincisi, IAA'nın senesens sürecinde sinyal olarak görev yapıp yapmadığını anlayabilmek için, hedef doku hücrelerinde IAA'yı bağlayan ve senesens sürecini başlatan özel bir proteinin (reseptör) bulunup bulunmadığının araştırılması, ikincisi de senesens sırasında proksimal nodyumlara bağlı yapraklara ksilem yolu ile su akımının nasıl

engellendiğinin araştırılmasıdır. Çünkü: ^{14}C -IAA nın gövde ucundan köke taşınmasından sonra, ksilem yolu ile yapraklara iletildiği saptanmış olmakla birlikte, senesensin ileri fazındaki kotiledonlara ^{14}C -IAA nın gitmediği de grlmştr. Senesens sürecinde kotiledonların ya da yaprakların nodyuma bağlı oldukları halde su kaybederek kurumaları, proksimal nodyumlara bağlı yapraklara ksilem yolu ile su taşınmasının ve tabi diğer maddelerin de taşınmasının durduğunu göstermektedir.

V. TÜRKÇE VE İNGİLİZCE ÖZETLER

V.1. ÖZET

***Helianthus annuus* L.'da Sırasal Yaprak Senesensinin Düzeni Üzerine Mineral Besinlerin ve Büyüme Regülatörlerinin Etkileri**

Bitki gelişmesinde önemli bir süreç olan senesens, programlanmış ölüm olarak tanımlanmıştır (Leopold, 1961). Literatürde, senesensin fizyolojik düzenini açıklamaya çalışan farklı hipotezlere rastlanmaktadır. Bununla beraber, bu hipotezleri iki büyük gruba ayırmak mümkündür. Bunlardan biri senesensin nedenini beslenme yetersizliği ile açıklamaya çalışır. Özellikle yaşlı yapraklarda meydana gelen senesensin nedenini, bu yapraklardaki besinlerin gelişmekte olan organlara taşınmasına bağlayan besin boşalımı (nutrient drain) hipotezi (Leonard, 1962), sırasal yaprak senesensinin meydana geliş biçimine oldukça uygun bir açıklama gibi görünmektedir. Bununla beraber, olayın besin boşalımı hipotezi ile açıklanamayan yanları da vardır. İkinci gruptaki hipotezler ise senesensin meydana gelişini hormonal düzenle (sinyal-reseptör sistemi ile) açıklamaya çalışır (Noodén, 1988a; Noodén, 1988b).

Bu çalışmada ise, mineral besinlerin ve büyüme regülatörlerinin *Helianthus annuus* (Ayçiçeği) kotiledonlarında meydana gelen senesens üzerindeki etkileri incelenerek, sırasal yaprak senesensinin fizyolojik düzeni hakkında daha fazla bilgi edinilmesine çalışıldı.

Değişik oranlarda seyreltilmiş Hoagland çözeltilerinde yetiştirilen ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında ve yaşlı yapraklarında, belli bir eşikten itibaren çözeltinin

seyrelmesine paralel olarak senesensin erken başladığı görüldü. 1/8 oranında seyreltilmiş fakat azot oranı eksiltilmemiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelerde ise, 1/8 seyreltik azot içeren kontrole göre senesensin geciktiği görüldü. Böylece senesensin meydana gelmesinden azot eksikliğinin sorumlu olduğu teyit edildi. Diğer taraftan, 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelerin iki kotiledonunu birbirinden ayıracak şekilde hipokotilin longitudinal doğrultuda bir çentikle ikiye ayrılması ve çentik üzerinde kalan kotiledona sitokinin verilmesi halinde, senesensin karşı kotiledona göre gecikmesi ise mineral madde (özellikle azot) eksikliğinin sitokinin biyosentezini etkilemesinden dolayı senesense neden olduğu görüşünü teyit etti.

Çinkonun indolasetik asit (IAA) stabilizasyonunu artırdığını bildiren veriler (Jacobs, 1952; Nutmann, 1939) ile senesens sinyalinin IAA tabiatında bir madde olabileceğini gösteren veriler (Noodén ve Leopold, 1978; Sağlam ve Okatan, 1990; Ünal ve Okatan, 1996; Okatan ve Ünal, 1996) göz önüne alınarak , IAA ile senesens arasındaki ilişkileri ortaya çıkarmaya yönelik deneylere ağırlık verildi. Çinko eklenmeden hazırlanmış (- Zn) ve 1 / 8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelerin kotiledonlarında senesensin geciktiği tespit edildi. Ayrıca, 1/8 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisinde yetiştirilen ve senesens başlamadan önce ikinci nodyumun hemen altından kesilerek dekapite edilen fidelerin kotiledonlarında senesensin geciktiği teyit edildi. Bununla beraber, dekapite edilen fidelerin kesik ucundan IAA ya da IAA nın sentetik analogu olan naftalen asetik asit (NAA) çözeltisi verildiği zaman kotiledonlarda senesensin gecikmediği saptandı. Fakat her nedense, aynı işlemin, eşik gününden (19. gün) birkaç gün önce yapılması halinde senesensin meydana gelmediği görüldü. Bu sonucun elde edilmesi üzerine, kotiledonlarda

senesens meydana gelmesinden hemen önce, bitkideki IAA dağılımı incelendi. Bunun için, bitkiler karanlık periyoda girmek üzereyken tepe tomurcuğu üzerine ^{14}C -IAA çözeltisi damlatıldı. β sayıcısı ile yapılan izleme sonucunda, radyoaktif işaretli karbonun yapraklara ve kotiledonlara uğramaksızın, canlı dokular üzerinden bazipetal doğrultuda taşınarak köke indiği anlaşıldı.

Senesensi geciktiren sitokininlerin kökte sentez edildiği ve IAA'nın da sitokinin oksidasyonunu teşvik ettiği bilindiğinden (Lindoo ve Nooden, 1977; Moore, 1979; Palni ve ark., 1988; Hare ve Staden, 1994), sırasal yaprak senesensinin meydana gelmesinde, kök meristeminde meydana gelen IAA ya bağlı sitokinin oksidasyonu sonucunda, ksilem elemanlarına farklı konsantrasyonlarda sitokinin dağılımının söz konusu olabileceği tartışıldı. Sırasal yaprak senesensinin en yaşlı yapraktan başlayarak yukarıya doğru ilerleyen bir biçimde meydana gelmesi ise, yapraklara giden ksilem elemanlarının ontogenisindeki kronolojik farka bağlandı. Buna göre proksimal nodyumlardaki kotiledonlara ve yaşlı yapraklara giden ksilem elemanlarıyla daha az sitokinin taşınması yüzünden, senesensin en yaşlı yaprakta en erken meydana gelebileceği üzerinde duruldu. Sırasal yaprak senesensinin hormonal düzeninde IAA'nın bitkideki sitokinin konsantrasyonunu ve dağılımını kontrol ettiği, sitokinin eksikliğinin de organlarda senesensin meydana gelmesine neden olduğu sonucuna varıldı.

V.2. SUMMARY

The Effects of Mineral Nutrients and Growth Regulators on the Mechanism of Sequential Leaf Senescence in *Helianthus annuus* L.

Senescence has been described as a programmed death which is an important procedure in plant development (Leopold, 1961). In literature, different hypotheses are found trying to explain the physiological mechanism of senescence. However, these hypotheses can be classified into two major groups. One of them is trying to explain the cause of senescence with the nutrient deficiencies. Especially, **nutrient drain** hypothesis (Leonard, 1962) relates the occurrence of senescence in aging leaves to the transfer of nutrient to the developing organs, seems to be a good explanation to the way of appearance of the sequential leaf senescence. However, there are some aspects of the event that cannot be explained by nutrient drain hypothesis. The other group of hypotheses is trying to explain the occurrence of senescence with the hormonal (signal-receptor) relations (Noodén, 1988a; Noodén, 1988b).

In this study, in order to obtain more information on the physiological mechanism of sequential leaf senescence, the effects of mineral nutrients and growth regulators on cotyledon senescence of the *Helianthus annuus* (sunflower) seedlings were investigated.

Senescence occurs in the cotyledons and ageing leaves of sunflower seedlings grown in diluted Hoagland's solutions, after a certain threshold, parallel to the dilution of the solutions. However, in the seedlings grown in 1/8 strong Hoagland's solution, with an efficient amount of nitrogen, retarded senescence has been observed when

compared to the ones grown in 1/8 rarefied nitrogen. Thus, it has been confirmed that nitrogen deficiency is responsible for the occurrence of senescence. On the other hand, two cotyledons of the seedlings grown in 1/8 strong Hoagland's solution, are separated from one another in a way in which the hypocotyl is separated into two longitudinally, and then, when the cytokinin is given into the cotyledons on the tongue, through the opened rotch, the delay of senescence compared to the other cotyledon confirms the opinion that the mineral (especially nitrogen) deficiency's effect on the biosynthesis of the cytokinin and causes senescence.

It was taken into consideration the data showing zinc increases the indolacetic acid (IAA) (Skoog, 1940; Takaki and Kushizaki, 1970) and the data showing the senescence signal may be a substance in nature of IAA (Noodén and Leopold, 1978; Sağlam and Okatan, 1990; Ünal and Okatan, 1996; Okatan and Ünal, 1996), it was tired to make the experiments that bring into light the relations between IAA and senescence. In the cotyledons of the seedlings prepared without adding zinc (-Zn) and grown 1/8 strong Hoagland solution, it has been seen that senescence is retarded. In addition, in the cotyledons of the seedlings, grown in 1/8 strong Hoagland's solution and decapitated by cutting just under the second nodium before the senescence begins, it is confirmed that senescence is delayed. However, when IAA or its synthetic analog Naphthalene acetic acid (NAA) solution is given to the cut ends of the decapitated seedlings senescence occurred. On the other hand, if the same treatment was done in some early day before day of threshold (19. day), it has been observed that senescence in cotyledons isn't retarded. After this observation, the IAA distribution in plant is examined in a phase just before the senescence begins in cotyledons. It is done by dropping ^{14}C -IAA solution on the top buds, just before as the plants enter the dark

period. Observation by the β counter has shown that radioactive carbon carried in basipetal direction over the living tissues goes down to the roots without entering into the leaves or cotyledons.

Since cytokinin are synthesized in the roots, it can be discussed that the IAA encourages cytokinin oxidation (Lindoo and Noodén, 1977; Moore, 1979; Palni and colleagues, 1988; Hare and Staden, 1994) may take place in the root system. As a result, different concentrations of cytokinin distribution to the xylem elements can be considered. On the other hand, it must be remembered that IAA plays a role in the xylogenesis. Thus one can think that sequential leaf senescence occurs starting from the oldest leaf continuing upwards, related with chronological difference in the ontogeny of the xylem elements which is going to different nodiums on the shoot. According to these events, less cytokinin is carried by xylem elements to the cotyledons and the oldest leaves in the proximal nodiums. We have reached one of the possible conclusion that, in the hormonal mechanism of the sequential leaf senescence, IAA controls the concentration and distribution of cytokinin in the plant, and then the cytokinin deficiency causes the senescence.

VI. KAYNAKLAR

ALTMAN, A., and WAREING, F. (1975): The Effect of IAA on Sugar Accumulation and Basipetal Transport of ^{14}C -labelled Assimilates in Relation to Root Formation in *Phaseolus vulgaris* Cuttings. *Physiol. Plant.*, 33: 32-38.

ARNON, D. I. (1949) : Copper Enzymes in Isolated Chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant. Physiol.*, 24 : 1-15.

AVERY, G. S., BURKHOLDER, Jr., P. R. and CREIGHTON, H. B. (1937) : Nutrient Deficiencies and Growth Hormone Concentration in *Helianthus* and *Nicotiana*. *Amer. Jour. Bot.*, 24 : 553-557.

BEHRINGER, F. J., and DAVIES, P. J. (1992) : Indole-3-acetic Acid Levels After Phytochrome-Mediated Changes in the Stem Elongation Rate of Dark-and Light-grown *Pisum* Seedlings. *Planta*, 188 : 85-92.

BLEECKER, A. B., and PATTERSON, S. E. (1997) : Last Exit: Senescence, Abscission, and Meristem Arrest in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 9 : 1169-1179.

BLOMQUIST, R. V. Ve KUST, C. A. (1971) : Translocation Pattern of Soybeans as Effected by Growth Substances and Maturity. *Crop. Sci.*, 11 : 390-393.

BURG, S. P., and BURG, E. A. (1962) : Role of Ethylene in Fruit Ripening. *Plant Physiol.*, 37 : 179-189.

BURG, S. P., and THIMANN, K. V. (1960) : Studies on the Ethylene Production of Apple Tissue. *Plant Physiol.*, 35 : 24-35.

COOPER, G. M. (1997) : The Cell : a Molecular Approach. ASM Pres. Washington, D.C Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. p : 521-560.

CRAFTS-BRANDNER, S. J., BELOW, F. E., HARPER, J. E., and HAGEMAN, R. H. (1984) : Effects of Pod Removal on Metabolism and Senescence of Nodulating and Nonnodulating Soybean Isolines. I. Metabolic Constituents. *Plant Physiol.*, 75 : 311-317.

CUTTER, E. G. (1979) : *Plant Anatomy. Part I Cells and Tissues. Second Edition* p: 156.

DARNEL, J., LODISH, H., and BALTIMORE, D. (1990) : *Molecular Cell Biology. Second Ed. Scientific American Books. W. H. Freeman Company, New York.* p : 709-762

DAVIES, T. G. E., THOMAS, H., THOMAS, B. J., and ROGERS, L. J. (1990) : Leaf Senescence in a Nonyellowing Mutant of *Festuca pratensis*. *Plant Physiol.*, 93 : 588-595.

DERMAN, B. D., RUPP, D. C., and NOODEN, L. D. (1978) : Mineral Distribution in Relation to Fruit Development and Monocarpic Senescence in Anoka Soybeans. *Amer. J. Bot.*, 65 (2) : 205-213.

DRAPER, S.R. (1969) : Lipid Changes in Senescing Cucumber Cotyledons. *Phytochem.*, 8 : 1641-1647.

EVEN-CHEN, Z., ATSOM, D., and ITAI, C. (1978) : Hormonal Aspects of Senescence in Detached Tobacco Leaves. *Physiol. Plant.*, 44 : 377-382.

FLETCHER, R. A. (1969) : Retardation of Leaf Senescence by Benzyladenine in Intact Bean Plants. *Planta, (Berl.)*, 89 : 1-8.

GALSTON, A. W., and SHAWNEY, R. K. (1990) : Polyamines in Plant Physiology. *Plant Physiol.*, 94 : 406-410.

GAN, S., and AMASINO, R. M. (1995) : Inhibition of Leaf Senescence by Autoregulated Production of Cytokinin. *Science*, 270 : 1986-1988.

GAN, S., and AMASINO, R. M. (1997) : Making Sense of Senescence. *Molecular Genetic Regulation and Manipulation of Leaf Senescence*. *Plant Physiol.*, 113 : 313-319.

GOLDSMITH, M. H. M. (1977) : The Polar Transport of Auxin. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 28: 439-478.

GUIAMET, J. J., TEERĪ, J. A., and NOODEN, L. D. (1990) : Effect of Nuclear and Cytoplasmic Genes Altering Chlorophyll Loss on Gas Exchange During Monocarpic Senescence in Soybean. *Plant Cell Physiol.*, 31 (8) : 1123-1130.

HARE, P. D., and van STADEN, J. (1994) : Cytokinin Oxidase: Biochemical Features and Physiological Significance. *Physiol. Plant.*, 91 : 128-136.

HARWOOD, J. L., JONES, A. V. H. M. and THOMAS, H. (1982) : Leaf Senescence in a Non-Yellowing Mutant of *Festuca pratensis*. III. Total Acyllipids of Leaf Tissue During Senescence. *Planta*, 156 : 152-157.

HEINDL, J. C., CARLSON, D. R., BRUN, W. A., BRENNER, M. L. (1982) : Ontogenetic Variation of Four Cytokinins in Soybean Root Pressure Exudate. *Plant Physiol.*, 70 : 1619-1625.

HILDEBRAND, F. (1982) : Die Lebensdauer und Vegetationsweise der Pflanzen, Ihre Ursache und ihre Entwicklung. *Botan. Jahrb.*, 2 : 51-135.

HORGAN, J. M., and WAREING, P. F. (1980) : Cytokinins and the Growth Responses of Seedlings of *Betula pendula* Roth. and *Acer pseudoplatanus* L. to Nitrogen and Phosphorus Deficiency. *J. Exp. Bot.*, 31(121) : 525-532.

- JACKSON, M. B., and OSBORNE, D. J. (1970) : Ethylene, the Natural Regulator of Leaf Abscission. *Nature* (London), 225 : 1019-1022.
- JACOBS, W. P. (1952): The Role of Auxin in Differentiation of Xylem Around a Wound. *Amer. J. Bot.*, 39 : 301-309.
- JACOBS, M. and HERTEL, R. (1978) : Auxin Binding to Subcellular Fractions from Cucurbita Hypocotyls: in Vitro Evidence for an Auxin Transport Carrier. *Planta*, 142: 1-10.
- JAMES, A. L., ANDERSON, I. C., and GREER, H. A. L. (1965) : Effect of Naphthalenacetic Acid on Field-grown Soybeans. *Crop. Sci.*, 5 : 472-474.
- JONES, A. M., LAMERSON, P., and VENIS, M. A. (1989) : Comparison of Site I Auxin-binding and a 22-kilodalton Auxin-binding Protein Maize. *Planta*, 179: 409-413.
- JONES, A. M. (1994) : Auxin-binding Proteins. *Ann. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol.*, 45 : 393-420.
- KAWAKAMI, N., and WATANABE, A. (1988) : Senescence-Specific Increase in Cytosolic Glutamine Synthetase and Its mRNA in Radish Cotyledons. *Plant Physiol.*, 88 : 1430-1434.
- KRUL, W. R. (1974) : Nucleic Acid and Protein Metabolism of Senescing and Regenerating Soybean Cotyledons. *Plant Physiol.*, 54 : 36-40.
- LAIDMAN, D. L. (1982) : Control Mechanisms in the Mobilisation of Stored Nutrients in Germinating Cereals. In "The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination " (A. A. Khan, ed.), pp. 371-405. Elsevier, Amsterdam.
- LEJEUNE, P., BERNIER, G., REQUIER, M.C., and KINET, J.M. (1994) :

Cytokinins in Phloem and xylem Saps of *Sinapis alba* during Floral Induction. *Physiol. Plant.*, 90 : 522-528.

LEONARD, E. R. (1962) : Inter-relations of Vegetative and Reproductive Growth, with Special Reference to Indeterminate Plants. *Bot. Rev.*, 28 : 353-410.

LEOPOLD, A. C. (1961) : Senescence in Plant Development. *Science*, 134 : 1727-1732.

LEOPOLD, A. C. (1975) : Aging, Senescence and Turnover in Plants. *BioScience*, 25 : 659-662.

LEOPOLD, A. C., NIEDERGANG-KAMIEN, E., JANICK, J. (1959) : Experimental Modification of Plant Senescence. *Plant Physiol.*, 34 : 570-573.

LINDOO, S. S. and NOODEN, L. D. (1976) : The Interrelation of Fruit Development and Leaf Senescence in Anoka Soybeans. *Bot. Gaz.*, 137 : 218-223.

LINDOO, S. J. and NOODEN, L. D. (1977) : Studies on the Behavior of the Senescence Signal in Anoka Soybeans. *Plant Physiol.*, 59 : 1136-1140.

LOCKHART, J. A., and GOTTSCHALL, V. (1961) : Fruit-Induced and Apical Senescence in *Pisum sativum* L. *Plant Physiol.*, 36 : 389-398.

LYON, O. C. J. (1965) : Action of Gravity on Basipetal Transport of Auxin. *Plant Physiol.*, 40 : 953-961.

LYON, C. J. (1971) : Growth Responses of Plants to Gravity. In: Gravity and the Organism (S. A. Gordon and M.J. Cohen Eds.). The University of Chicago Press, Chicago and London., 427-438.

MARTIN, C., and THIMANN, K. V. (1972) : The Role of Protein Synthesis in the Senescence of Leaves. I. The Formation of Protease. *Plant Physiol.*, 49 : 64-71.

- MELVILLE, R., and WRIGLEY, F. A. (1969) : Fenestration in the Leaves of *Monstera* and its Bearing on the Morphogenesis and Colour Patterns of Leaves. J. Linn. Soc. Bot., 62 : 1-16.
- MOLISCH, H. (1928) : Die Lebensdauer der Pflanze. G. Fisher Verlag, E. H. Fulling, Eng. Trans., Science Press, Lancaster, 1938.
- MOORE, T. C. (1979) : Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. In Chapter 6, Ethylene. Springer Verlag, New York, 208-229.
- MORRIS, D. A. and KADIR, G. O. (1972) : Pathways of Auxin Transport in the Intact Pea Seedling (*Pisum sativum* L.). Planta : 107, 171-182.
- MORRIS, D. A., KADIR, G. O., and BARRY, A. J. (1973) : Auxin Transport in Intact Pea Seedlings (*Pisum sativum* L.) : the Inhibition of Transport by 2,3,5-Triiodobenzoic Acid. Planta, 110 : 173-182.
- MURRAY, D. R. (1984) : Axis-Cotyledon Relationships During Reserve Mobilization. In "Seed Physiology. Vol. 2: Germination and Reserve Mobilization" (D. R. Murray, ed.), pp. 247-280. Academic Press, Orlando, Florida.
- NAQVI, S. M. and GORDON, S. A. (1966) : Auxin Transport in *Zea mays* L. Coleoptiles I. Influence of Gravity on the Transport of Indol Acetic Acid-2-¹⁴C¹. Plant. Physiol., 41: 1113-1118.
- NOODEN, L. D. (1988a) : The Phenomena of Senescence and Aging. In: Senescence and Aging in Plants (L. D. NOODEN and A. C. LEOPOLD eds.). Academic press, San Diego. p. 1-50.
- NOODEN, L.D. (1988b) : Abscissic Acid, Auxin and Other Regulators of Senescence. In: Senescence and Aging (L. D. NOODEN and A. C. LEOPOLD eds.). Academic press, San Diego. p. 329-368.

- NOODEN, L. D., and GUIAMET, J.J. (1989) : Regulation of Assimilation and Senescence by the Fruit in Monocarpic Plants. *Physiol. Plant.*, 77 : 267-274.
- NOODEN, L. D., KAHANAK, G. M., and OKATAN, Y., (1979) : Prevention of Monocarpic Senescence in Soybeans with Auxin and Cytokinin. *Science*, 206 : 841-843.
- NOODEN, L. D. and LEOPOLD, A. C. (1978) : Phytohormones and the Endogenous Regulation of Senescence and Abscission. In D.S. Letham, PB Goodwin, T. J. Higgins, eds., *Phytohormones and Related Compounds- A Comprehensive Treatise*, vol II. Elsevier/North Holland, Amsterdam, p : 329-369.
- NOODEN, L. D. and LEOPOLD, A. C. (1988a) : Senescence and Aging in Plants. Academic press, San Diego, p : 303.
- NOODEN, L. D. and LEOPOLD, A. C. (1988b): Senescence and Aging in Plants. Academic press, San Diego. p : 413.
- NOODEN, L. D. and LEOPOLD, A. C. (1988c) : Senescence and Aging in Plants. Academic press, San Diego, p : 86-104.
- NOODEN, L. D., and MURRAY, B. J. (1982) : Transmission of the Monocarpic Senescence Signal Via the Xylem. *Plant Physiol.*, 69, No.4 : 754-756.
- NOODEN, L. D. and NOODEN, S. M. (1985) : Effect of Morphactin and Other Auxin Transport Inhibitors on Soybean Senescence and Pod Development. *Plant. Physiol.*, 78 : 263-266.
- NOODEN, L. D., SINGH, S., and LETHAM, D. S. (1990) : Correlation of Xylem Sap Cytokinin Levels with Monocarpic Senescence in Soybean. *Plant Physiol.*, 93 : 33-39.

NUTMAN, P. S. (1939) : Studies in Vernalisation of Cereals. VI. The Anatomical and Cytological Evidence for the Formation of Growth-Promoting Substances in the Developing Grain of Rye. *Ann. Bot.*, 3 : 731-757.

OKATAN, Y., KAHANAK, G. M., and NOODEN, L. D. (1977) : Interrelation of Seed Development and Foliar Senescence in Anoka Soybeans. *Plant Physiol.*, 59 : 112S.

OKATAN, Y., KAHANAK, G. M., and NOODEN, L. D. (1981) : Characterization and Kinetics of Soybean Maturation and Monocarpic Senescence. *Physiol. Plant.*, 52 : 330-338.

OKATAN, Y. ve ÜNAL, M. (1996) : *Helianthus annuus* L. Fidelerinde Sırsal Yaprak Senesensi Üzerine TIBA Etkisi. XII: Ulusal Biyoloji Kongresi Bildirisi, 17-20 Eylül, İstanbul, Cilt 1: 22-31.

OSBORNE, D. J. (1967) : Hormonal Regulation of Leaf Senescence. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 21 : 305-321.

OSBORNE, D. J., and HALLAWAY, M. (1960) : Auxin Control of Protein-Levels in Detached Autumn Leaves. *Nature (London)*, 188 : 240-241.

PALNI, L. M. S., BURCH, L., and HORGAN, R. (1988) : The Effect of Auxin Concentration on Cytokinin Stability and Metabolism. *Planta*, 174 : 231-234.

PAPADOPOULUS, I., RENDING, V. V. and BROADBENT, F. E. (1985) : Growth, Nutrition and Water Uptake of Tomato Plants with Divided Roots Growing in Differentially Salinized Soil. *Agronomy Jour.*, 77: 21-26.

PARANJOTHY, K., and WAREING, P. F. (1971) : The Effect of Absciscic Acid, Kinetin and 5-Fluorouracyl on Ribonucleic Acid and Protein Synthesis in Senescing Radish Leaf Discs. *Planta*, 99 : 112-119.

PATRA, H. K., and MISHRA, D. (1976) : Pyrophosphatase, Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities During Leaf Development and Senescence. *Plant Physiol.*, 63 : 318-323.

PEOPLES, M. B. And DALLING, M. J. (1978) : Degradation of Ribulose-1,5 Biphosphate Carboxilase by Proteolytic Enzymes from Crude Extract of Wheat Leaves. *Planta*, 138 : 153-160.

PEOPLES, M. B., BEILHARZ, W. C., WATERS, S. P., SIMPSON, R. J., and DALLING, M. J. (1980) : Nitrogen Redistribution During Grain Growth in Wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Chloroplast Senescence and the Degradation of Ribulose-1,5-BiP Carboxilase. *Planta*, 149 : 241-251.

PETERSON, L. W., and HUFFAKER, R. C. (1975) : Loss of Ribulose 1,5 Diphosphate Carboxilase and Increase in Proteolytic Activity During Senescence of Detached Primary Barley Leaves. *Plant Physiol.*, 55 : 1009-1015.

RIDGE, I. (1991) : Plant Physiology. In Chapter 7. The Regulation of Plant Growth. Hodder and Stoughton. The Open University. p : 282-333.

RODRIGUEZ, J. P., and VALPUESTA, V. (1996) : Expression of Glutamine Synthetase Genes During Natural Senescence of Tomato Leaves. *Physiol. Plantarum*, 97: 576-582.

SAĞLAM, S. (1989) : *Helianthus annuus* L. Fidelerinde Sekuensiyel Senesensin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İ. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.

SAĞLAM, S. ve OKATAN, Y. (1990) : Bazı Epigeik Fidelerde Sırasal Yaprak Senesensi Üzerine İncelemeler. X. Ulusal Biyoloji Kongresi, Botanik Bildirileri, Cilt. 1., 249-257.

- SALAMA, A. M. S. E., and WAREING, P. F. (1979) : Effect of Mineral Nutrition on Endogenous Cytokinins in Plants of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). Jour. Exper. Bot., 30 (118) : 971-981.
- SALISBURY, F. B., and ROSS, C. W. (1992) : Plant Physiology. Fourth Edition. Wadsworth Publishing Company Belmont, California p : 386-388.
- SANDERS, E. J., and WRITE, M. A., (1995) : Programmed Cell Death in Development. International Review of Cytology, 163 : 105-173.
- SATLER, S. O., and THIMANN, K. V. (1981) : Respiration of Oat Leaves During Senescence. Plant Physiol., 67 Supp., 381.
- SHIMOMURA, S., INOHARA, N., FUKUI, T., and FUTAI, M. (1988) : Different Properties of Two Types of Auxin-binding Sites in Membranes from Maize Coleoptiles. Planta, 175 : 558-566.
- SITTON, D., ITAI, C., KENDE, H. (1967) : Decreased Cytokinin Production in the Roots as a Factor in Shoot Senescence. Planta, 73 : 296-300.
- SKOOG, F. (1940) : Relationships Between Zinc and Auxin in the Growth of Higher Plants. Amer. Jour. Bot., 27 : 939-951.
- STOREY, R., and BEEVERS, L. (1977) : Proteolytic Activity in Relationship to Senescence and Cotyledonary Development in *Pisum sativum* L. Planta, 137 : 37-44.
- TAIZ, L. and ZEIGER, E. (1991) : Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company. Inc. Redwood City, California 94065. 452-472.
- TAKAKI, H., and KUSHIZAKI, M. (1970) : Accumulation of Free Tryptophan and Triptamine in Zinc Deficient Maize Seedlings. Plant and Cell Physiol., 11 : 793-804.
- THIMANN, K. V. (1978) : Senescence : In Controlling Factors in Plant Development. Special Issue of the Botanical Magazine, Tokyo, 1 : 19-43.

THOMAS, H., and STODDART, J. L. (1975) : Separation of Chlorophyll Degradation from Other Senescence Processes in Leaves of a Mutant Genotype of Meadow Fescue (*Festuca pratensis* L.). *Plant Physiol.*, 56 : 438-441.

THOMAS, H., and STODDART, J. L. (1980) : Leaf Senescence. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31 : 83-111.

THOMAS, H., and VILLIERS, L. (1996) : Gene Expression in Leaves of *Arabidopsis thaliana* Induced to Senescence by Nutrient Deprivation. *Jour. Exp. Bot.*, 47, No. 305 : 1845-1852.

THOMSON, K. S., HERTEL, R. and MULLER, S. (1973) : 1-N-Naphthylphthalamic acid and 2,3,5 Triiodobenzoic Acid. In Vitro Binding to Particulate Cell Fractions and Actions on Auxin Transport in Corn Coleoptiles. *Planta*, 109: 337-352.

UEDA, J., and KATO, J. (1980) : Isolation and Identification of a Senescence-Promoting Substance from Wormwood (*Artemisia absinthum* L.). *Plant Physiol.* 66 : 246-249.

ÜNAL, M. ve OKATAN, Y. (1996) : Yerçekimi Dengelenmesinin *Helianthus annuus* L. Fidelerinde Sırsal Yaprak Senesensine Etkisi. XIII: Ulusal Biyoloji Kongresi Bildirisi, 17-20 Eylül 1996 İstanbul, Cilt 1: 32-41.

WAREING, P. F., and PHILLIPS, I. D. J. (1981) : Growth and Differentiation in Plant. Pergamon Press, Oxford, Third Edition.

WENT, F. W. and THIMANN, K. V. (1937) : Phytohormones. Biology Monographs. Mc Millan, New York.

WILLIAMS, R. F. (1955) : Redistribution of Mineral Elements During Development. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 6 : 25-42.

WOOD, L. J., MURRAY, B. J., OKATAN, Y., and NOODEN, L. D. (1986) : Effect of Petiole Phloem Disruption on Starch and Mineral Distribution in Senescing Soybean Leaves. *Amer. J. Bot.*, 73 : 1377-1383.

VII. ÖZGEÇMİŞ

1963 Karadeniz (Kdz.) Ereğli doğumluyum. İlk öğrenimimi, 1970-1975 yılları arasında Ereğli'deki Cumhuriyet İlkokulunda, orta-lise öğrenimimi 1975-1981yılları arasında Ereğli Lisesinde tamamladıktan sonra 1982'de Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümünde üniversite eğitimine başladım. Üniversite eğitimini dört yılda tamamladıktan sonra 1986-1987 yılları arasında Ereğli'de bulunan özel bir dershanede Biyoloji öğretmeni olarak görev yaptım. 1987 yılının Aralık ayında, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Yine aynı yıl, Fen Bilimleri Enstitüsünde "Bitki Fizyolojisi" Bilim Dalında Yüksek Lisans yapmaya hak kazandım. Eylül-1989'da "*Helianthus annuus* Fidelerinde Sekuensiyel Senesensin İncelenmesi " başlıklı Yüksek Lisans Tezimi tamamladım ve Ekim-1989'da aynı bilim dalının Doktora programına kaydımı yaptırdım. Eylül-1992'de Doktora yeterlik sınavını başarıyla geçtikten sonra, 1997 yılında, "*Helianthus annuus* L. da Sırsal Yaprak Senesensinin Düzeni Üzerine Mineral Besinlerin ve Büyüme Regülatörlerinin Etkileri " başlıklı tezimi tamamladım. Federation of European Societies of Plant Physiology (FESPP) derneğine üyeyim.

Evliyim ve biri erkek diğeri kız olmak üzere iki çocuk annesiyim.

Bilimsel Faaliyetler

Bildiri

Narçin-Palavan Ünsal (Prof. Dr.), Zepür Zehir (Araş. Gör.) ve Serap Sağlam (Araş. Gör.)

Inhibition of Alpha Amylase Release from Germinating Wheat Embryos by Absciscic Acid and Cyclohexylammonium.

Fifth Annual Penn State Symposium in Plant Physiology

May 17-19, Pennsylvania State University, U. S. A.

Polyamines and Ethylene : Biochemistry, Physiology and Interactions.

E. Flores, R. N. Arteca, J. C. Shannon. Eds. American Society of Plant Physiologists, pp. 353-357. 1990

Bildiri

Serap Sağlam (Araş. Gör.), Yener Okatan (Prof. Dr.)

Bazı Epigeik Fidelerde Sırasal Yaprak Senesensi Üzerine İncelemeler.

X. Ulusal Biyoloji Kongresi

18-20 Temmuz 1990, Erzurum, sayfa : 249-257

Abstract

Narçin Palavan-Ünsal (Prof. Dr.), Zepür Zehir (Araş. Gör.) ve Serap Sağlam (Araş. Gör.)

Detection of Absciscic Acid and Difluoromethylornithine Inhibited Alpha Amylase Release from Wheat Embryos. Plant Physiol., Supp., 93 : 147. 1990

Abstract

Narçin Palavan-Ünsal (Prof. Dr.), Serap Sağlam-Çağ (Araş. Gör.), Zepür Zehir (Araş. Gör.) ve Yener Okatan (Prof. Dr.)

The Investigation of Seed-Induced Senescence in Non-Monocarpic *Gleditchia* Pods.
Plant Physiol., Supp., 96 : 153. 1991

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ