



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***Tropaeolum majus* L YAPRAKLARININ UZUN SÜRE KARANLIKTA
BIRAKILDIKTAN SONRAKİ FOTOSENTEZ YAPABİLME YETENEĞİNE
HORMONLARIN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Hazırlayan: İlhami KARATAŞ
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Lokman ÖZTÜRK

TOKAT - 2007

Tropaeolum majus L YAPRAKLARININ UZUN SÜRE KARANLIKTA
BIRAKILDIKTAN SONRAKİ FOTOSENTEZ YAPABİLME YETENEĞİNE
HORMONLARIN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

İlhami KARATAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2007 – TOKAT

T.C
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Tropaeolum majus* L YAPRAKLARININ UZUN SÜRE KARANLIKTA
BIRAKILDIKTAN SONRAKİ FOTOSENTEZ YAPABİLME YETENEĞİNE
HORMONLARIN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**İlhami KARATAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez, ... /... / 2007 tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı _____ İmza

Başkan : Prof. Dr. Zekeriya ALTUNER

Üye :Doç. Dr. İsa TELCİ

Üye :Yrd.Doç. Dr. Lokman ÖZTÜRK

ONAY

Bu tez, 17/01/ 2007 tarih ve 03 sayılı Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen jüri üyelerince kabul edilmiştir.

.../.../ 2007
Enstitü Müdürü

Bu tez 2005 / 18'nolu Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir.

.

ÖZET

***Tropaeolum majus* L YAPRAKLARININ UZUN SÜRE KARANLIKTA
BIRAKILDIKTAN SONRAKİ FOTOSENTEZ YAPABİLME YETENEĞİNE
HORMONLARIN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

İlhami KARATAŞ

**Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi
2007, 51 sayfa**

Danışman :Yrd. Doç. Dr. Lokman ÖZTÜRK

Jüri : Prof. Dr.Zekeriya ALTUNER

Jüri : Doç.Dr. İsa TELCİ

Jüri : Yrd. Doç. Dr. Lokman ÖZTÜRK

Bu çalışmada uzun süre karanlık bırakılmak suretiyle senesensi tetiklenmiş *Tropaeolum majus* L. yapraklarının fotosentez yeteneği ve senesens parametrelerine bitki hormonların etkisi incelendi. Bu amaçla 10^{-5} ve 10^{-6} M indol-3-asetik asit (IAA), indol-3-bütirik asit (IBA), naftalen asetik asit (NAA), gibberellik asit (GA_3) ve 6-benzilaminopürin (BAP) uygulanarak karanlığa kapatılan yapraklarda klorofil, karotenoid, nişasta, protein, hidrojen peroksit miktarları, katalaz ve peroksidaz aktiviteleleri belirlendi. IAA, IBA ve NAA senesens sürecinde klorofil ve protein miktarında oluşan kaybı hızlandırırken BAP ve GA_3 geciktirmektedir. Karanlık periyotta nişasta yıkımındaki hızlı düşüşü hiçbir hormon engelleyemezken karanlık periyottan sonra yapraklarda nişasta sentez kapasitesini BAP ve GA_3 önemli oranda artırmıştır. H_2O_2 seviyesi ve peroksidaz aktivitesini IAA, IBA ve NAA artırırken BAP ve GA_3 azaltmıştır. Katalaz aktivitesini oksinler azaltırken BAP ve GA_3 artırmıştır.

Anahtar Kelimeler : Fotosentez, hormonlar, katalaz, peroksidaz, senesens

ABSTRACT**INVESTIGATIONS OF EFFECTS OF HORMONES ON PHOTOSYNTHETIC
ABILITY OF *Tropaeolum majus* L. LEAVES AFTER PROLONGED DARKNESS
EXPOSURE****İlhami KARATAŞ****Gaziosmanpaşa University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Biology****Masters Thesis
2007, 51 page****Supervisor : Yrd. Doç. Dr. Lokman ÖZTÜRK****Jüry : Prof. Dr.Zekeriya ALTUNER
Jüry : Assoc. Prof. Dr. İsa TELCİ
Jüry : Asst. Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK**

In this study, effects of plant hormones on senescence parameters and photosynthesis in detached leaves of *Tropaeolum majus* L during dark-induced senescence were investigated. For this purpose, chlorophyll, carotenoid, starch, protein, hydrogen peroxide amounts, catalase and peroxidase activities of leaves kept in darkness after 10^{-5} and 10^{-6} M indole acetic acid (IAA), indole butyric acid (IBA), naphthalene acetic acid (NAA), gibberellic acid (GA_3) and 6-benzylaminopurine (BAP) were determined. In the senescence process IAA, IBA and NAA increased the losses in chlorophyll and protein contents while BAP and GA_3 decreased. No hormone could prevent rapid losses in starch amount under dark conditions. However, BAP and GA_3 significantly protected starch forming capacity of leaves after the dark period. IAA, IBA and NAA increased hydrogen peroxide level and peroxidase activity while BAP and GA_3 decreased. Auxins decreased catalase activity while BAP and GA_3 increased.

Key Words : Catalase, hormones, peroxidase, photosynthesis, senescence

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım esnasında her türlü desteğini, yardımını ve ilgisini esirgemeyen danışman hocam değerli Yrd. Doç.Dr. Lokman ÖZTÜRK'e, tez konumun seğilmesinde ve projemin yazılmasında benden desteklerini esirgemeyen ve emekliliği nedeniyle danıőmanlıęımdan ayrılmak zorunda kalan değerli hocam Prof. Dr. Yener OKATAN'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ayrıca her konuda benim yanımda olan ve bana moral veren sevgili aileme de sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ VE LİTERATÜR ÖZETİ.....	1
1.1. Senesensin Tanımı.....	1
1.2. Bitkilerde Görülen Senesens Çeşitleri.....	2
1.3. Senesens Sürecinde Oluşan Biyokimyasal ve Yapısal Değişiklikler.....	3
1.3.1. Klorofil Miktarı.....	4
1.3.2. Protein Miktarı ve Enzim Aktiviteleri.....	5
1.3.2.1. Katalaz.....	7
1.3.2.2. Peroksidaz.....	7
1.3.3. Karbohidrat İçeriği.....	8
1.3.4. Hidrojen Peroksit.....	8
1.4. Senesens Sürecini Etkileyen Faktörler.....	9
1.4.1. İç Faktörler.....	9
1.4.2. Dış Faktörler.....	10
1.5. Senesensin Bitki Hormonları ile İlişkisi.....	10
1.5.1. Gibberellinler.....	11
1.5.2. Oksinler.....	13
1.5.3. Sitokininler.....	14
1.5.4. Diğer Bitki Hormonları.....	15
1.6. Senesens ile İlgili Hipotezler.....	16
1.6.1. Besin Boşalım Hipotezi.....	16
1.6.2. Sinyal Hipotezi.....	17
2. MATERYAL VE METOD.....	18

2.1.	Materyal.....	18
2.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	18
2.1.2.	Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	18
2.1.3.	Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	19
2.2.	Metod.....	21
2.2.1.	Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Uygulamalar.....	21
2.2.2.	Klorofil ve Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi.....	22
2.2.3.	Protein Miktarının Belirlenmesi.....	22
2.2.4.	Nişasta Miktarının Belirlenmesi.....	23
2.2.5.	Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi.....	24
2.2.6.	Katalaz ve Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü İçin Homojenat Hazırlanması.....	25
2.2.7.	Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	25
2.2.8.	Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	25
3.	ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....	26
3.1.	Klorofil ve Karotenoid İçeriği.....	26
3.2.	Protein Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik.....	29
3.3.	Protein Miktarı.....	30
3.4.	Nişasta Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik.....	32
3.5.	Nişasta Miktarı.....	33
3.6.	Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik.....	36
3.7.	Hidrojen Peroksit İçeriği.....	37
3.8.	Katalaz Aktivitesi.....	38
3.9.	Peroksidaz Aktivitesi.....	40
4.	TARTIŞMA.....	43
	KAYNAKLAR.....	47
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Gibberellik asit (GA ₃).....	11
1.2. Oksinler.....	13
1.3. Sitokininler.....	14
3.1. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil miktarları.....	26
3.2. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M BAP ve GA ₃ ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil miktarları.....	27
3.3. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra karotenoid miktarları.....	28
3.4. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M BAP ve GA ₃ ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra karotenoid miktarları.....	28
3.5. Protein miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik.....	30
3.6. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra protein miktarları.....	30
3.7. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M BAP ve GA ₃ ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra protein miktarları.....	31
3.8. Nişasta miktarının tayinin de kullanılan standart grafik.....	32
3.9. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra nişasta miktarları.....	33
3.10. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M BAP ve GA ₃ ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra nişasta miktarları.....	33
3.11. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulanan yapraklardaki nişasta miktarları.....	34
3.12. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M BAP ve GA ₃ ile muamele edilen 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulanan yapraklardaki nişasta miktarları.....	35
3.13. Hidrojen peroksitin konsantrasyonunun tayininde kullanılan standart grafik.....	36
3.14. 10 ⁻⁵ M ve 10 ⁻⁶ M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyeleri.....	37

3.15. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyeleri.....	37
3.16. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi.....	39
3.17. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi.....	39
3.18. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi.....	41
3.19. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi.....	41

TABLOLAR LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil ve karotenoid miktarları (mg / g yaprak).....	29
3.2. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil ve karotenoid miktarları (mg / g yaprak).....	29
3.3. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra protein miktarları (mg / g yaprak).....	31
3.4. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra protein miktarları (mg / g yaprak).....	32
3.5. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyot ve bu periyotlar sonunda 12 saat ışık periyodu uygulamanın nişasta miktarları üzerine etkisi (mg / g yaprak).....	35
3.6. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyot ve bu periyotlar sonunda 12 saat ışık periyodu uygulamanın nişasta miktarları üzerine etkisi (mg / g yaprak).....	36
3.7. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyesi (μ M / g yaprak).....	38
3.8. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyesi (μ M / g yaprak).....	38
3.9. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi (EU / g yaprak).....	40
3.10. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi (EU / g yaprak).....	40
3.11. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi (EU / g yaprak).....	42
3.12. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi (EU / g yaprak).....	42

1. GİRİŞ VE LİTERATÜR ÖZETİ

Senesens programlanmış hücre ölümünün bir tipi olup hormonlar gibi iç faktörler ve ışık şiddeti gibi dış faktörlerle düzenlenen aktif bir süreçtir. Bazı faktörler senesens sürecini geciktirirken bazı faktörler de hızlandırmaktadır. Yapraklarda meydana gelen senesens programı çeşitli faktörler tarafından değiştirildiği bilinmektedir. Örneğin uzun süre karanlık periyot yaprak senesensini teşvik eden faktörlerden biridir. Bitki hormonlarının senesens sürecinde etkileri bilinmekle birlikte fakat mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bazı bitki hormonları senesens sürecini geciktirirken bazıları da hızlandırmaktadır.

Bitki, dokularının büyük bir kısmının ölü olması, bitkilerde senesens olayının önemini ortaya koymaktadır. Çünkü ölü dokuları olmazsa bitkiler varlıklarını sürdüremezler. Örneğin köklerden yapraklara su, mineral ve köklerde sentez edilen metabolitleri taşıyan odun boruları (ksilem) ölüdür. Aynı şekilde bitkilerin iskeleti denebilecek sklerenkima dokusu ölü hücrelerden meydana gelmiştir. Bu dokular ve burada değinilmeyen diğer ölü sistemler bitkilerde belli bir program gereğince meydana gelmektedir. Bu programın tam olarak anlaşılabilmesi hem temel bilime hem de uygulamalı bilime katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada karanlıkta bırakılmak suretiyle senesensi teşvik edilmiş *Tropaeolum majus* L yapraklarının, fotosentez yapabilme yeteneğine bitki hormonlarının etkisi incelendi. Ayrıca senesens sürecinde bitki hormonlarının protein miktarları, hidrojen peroksit seviyeleri, katalaz ve peroksidaz aktivitelerine etkileri araştırıldı.

1.1. Senesensin Tanımı

Senesens, bitkilerde meydana gelen ve tüm bitki, doku ya da hücre ölümü ile sonuçlanan önemli bir gelişme sürecidir (Gören, 2004). Bazı araştırmacılar senesensi yaprak gelişiminin son aşaması ve bitkilerde meydana gelen programlı hücre ölümünün bir çeşidi

olarak tanımlamaktadır (Quirino et al., 2000; Lim et al., 2003; Lin and Wu., 2004). Botanik literatüründe senesens olarak adlandırılan programlı hücre ölümü, zooloji literatüründe ise apoptosis olarak isimlendirilmektedir (Sağlam Çağ, 1997). Senesens genetik olarak düzenlenen birçoğu aktif oksijen türlerinin üretimine sebep olan pek çok bozulma reaksiyonlarını kapsayan süreçtir (Kukavica and Jovanovic, 2004). Yaprak senesensi; hücrenin, hücre makro moleküllerin ve hücresel yapıların bozulmasını ve yıkılan ürünlerin bitkinin diğer organlarına taşındığı oksidatif süreçtir (Prochazkova et al., 2001).

Senesens kuraklık, sıcaklık, azot eksikliği, yetersiz ışık, hastalık ve patojen saldırıları gibi elverişsiz çevre koşulları sonucunda meydana gelmesinin yanında, en uygun koşullarda yetişen sağlıklı bitkilerde de genetik olarak meydana gelmektedir. Elverişsiz çevre koşullarının sebep olduğu senesens sürecinde bitkide erken tohum gelişimi ve bitki ömrünün azalması şeklinde cevap vermektedir (Gören, 2004).

Senesens organizmanın gelişiminin pek çok aşamasında meydana gelen yaşam döngüsünün önemli bir süreci olarak tanımlamaktadır. Ölüm birkaç hücrede, yaprak ta olduğu gibi spesifik bir organda veya tüm organizmada meydana gelebilmektedir (Nooden et al., 1997).

Canlılar da meydana gelen ve sonu ölümle biten bazı olayların senesens sayılıp sayılmayacağı tartışılmaktadır. Örneğin yaşlanmanın belli bir genetik programa bağlı olmadan meydana gelen pasif bir süreç olduğundan senesens ile özdeş sayılmayacağını belirten araştırmacılar bulunmaktadır. Nekroz gibi patolojik nedenlere bağlı ölüm olaylarında özel bir program olmadığı için bir senesens çeşidi olarak kabul edilmemektedir (Sağlam Çağ, 1997).

1.2. Bitkilerde Görülen Senesens Çeşitleri

Senesens; hücre, doku, organ ya da tüm bitkiyi kapsayan ve ölümle sonuçlanan bir olaydır. Örneğin, *Monstrea* yapraklarında görülen doku senesensi, petiyolün belli bir

bölgesindeki (absisyon zonu) hücrelerin ölmesi, iletim doku elemanlarından trake ve trakeidlerin ölmesi ve sklerenkima liflerinin meydana gelmesi bazı senesens çeşitleridir (Gören, 2004).

Sağlam Çağ (1997) senesensi Leopold (1961)'u kaynak göstererek gruplandırmıştır.

1. Genellikle sonbaharda yapraklarını döken ağaçlarda meydana gelen mevsimsel yaprak senesensi,
2. Genellikle otsu bitkilerde görülen ve bitki kökünün yıllarca yaşamasına rağmen sadece gövdenin ölümüne neden olan gövde senesensi,
3. İlk nodyumdaki yaşlı yapraklardan başlayarak sırasıyla daha üst nodyumlardaki yapraklara doğru ilerleyen sırasal yaprak senesensi,
4. Ömrü boyunca bir kez çiçek açan bitkilerde görülen ve tohum hariç tüm bitkinin ölümüne neden olan monokarpik senesens,

1.3. Senesens Sürecinde Oluşan Biyokimyasal ve Yapısal Değişiklikler

Bitkilerde senesens sürecinde temel olarak protein ve yaprak hücrelerinde klorofil kaybı, lipid peroksidasyonu ve membran geçirgenliğinin artmasıyla karakterize edilmektedir. Yaprak senesensinin gözle görülebilen en karakteristik özelliği, yeşil yaprak renginin sarı ya da kırmızıya dönmesidir. Renk değişikliğine klorofillerin karotenoidlerden daha hızlı yıkılması sebep olmaktadır (Gören, 2004).

Senesensin bir diğer karakteristik özelliği membran bozulmasıdır. Bu özellik geçirgenliğin artmasına, iyonik gradientlerin kaybına ve iyon pompaları gibi önemli membran proteinlerinin fonksiyonunun azalmasına neden olur. Senesens sırasında membran bozulması, esas olarak fosfolipid metabolizmasına bağlıdır. Fosfolipaz D, fosfatidik asit, fosfataz, lipolitik açıl hidrolaz ve lipoksigenaz gibi lipolitik enzimler, senesens sürecindeki mikrozomal membranlarda bulunmuştur. Fosfolipaz D, fosfolipidlerin bozulmasını başlatan anahtar enzimdir. (Gören, 2004).

Genel olarak senesens, yaprakların uç bölgelerinde başlar ve vasküler demete yakın hücreler son olarak senesense uğramaktadır. Hücrelerde senesens ile ilgili değişiklikler ilk olarak kloroplastta gözlenirken, mitokondri ve nukleus senesensin son aşamasına kadar fonksiyonel olarak kalmaktadır (Gören, 2004).

Yaprak senesensi süresince besinler tohumlara veya yeni gelişen vegetatif organlara taşınmaktadır. Himelblau and Amasino (2001) yaptıkları bir çalışmada senesens halindeki *Arabidopsis thaliana* bitkisinin yapraklarından C, Cr, Cu, Fe, K, Mo, N, P, S, ve Zn'nin % 40 dan fazlası yeni gelişmekte olan tohum ve organlara taşındığı belirtilmiştir.

Senesens sırasında fotosentetik aktivitedeki düşüş; Rubisco (Ribuloz bisfosfat karboksilaz)'nun aktivitesi ve miktarı, CO₂ değişim oranı ve fotosentez ile ilişkili genlerin mRNA anlatımının düzeyi ile karakterize edilmektedir. Senesens süresince fotosentez azaldığı zaman, kloroplastlar daha az NADPH ve ATP üretir. Bununla birlikte, katabolik işlemler için enerji gerekli olduğundan senesens sırasında yapraklarda solunumun arttığı görülmüştür. Bu artış senesens sürecinde katabolik işlemler için gerekli olan ATP'nin temini açısından oldukça önemlidir (Gören, 2004).

Buğday yapraklarında (*Triticum aestivum*) senesens sürecinde fotosentetik enzimlerin aktiviteleri ve fotokimyasal süreç (elektron taşıma aktivitesi) incelenmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre fotosentetik enzimlerin aktiviteleri fotokimyasal aktiviteden önce düşmeye başlamıştır (Camp et al., 1982).

1.3.1. Klorofil Miktarı

Klorofil yıkımı yaygın olarak yaprak senesensi semptomu olarak kullanılır. Senesens sürecinde kloroplastlarda DNA ve RNA bozulması, tilakoid membranların yıkımı, pigment yıkımı ve protein yıkımı gibi pek çok katabolik reaksiyonlar meydana gelmektedir. Senesens sırasında kloroplastlarda, tilakoid zarın yıkılmasından meydana gelen lipid damlalarının meydana geldiği belirtilmiştir (Sağlam Çağ, 1997; Gören, 2004).

Klorofillaz klorofil yıkım reaksiyonlarını katalizleyen ilk enzim olduğu düşünülmektedir. Klorofillaz klorofil yıkımının ilk aşaması olan fitol'un uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Ancak senesens sürecinde klorofillaz aktivitesi düşme eğiliminde olduğundan, klorofil yıkımı klorofillaz'dan başka faktörler tarafından da kontrol edildiğini göstermektedir. Klorofil yıkımında ikinci aşaması fitol kısmı ayrılmış klorofil katabolitinden magnezyumun uzaklaştırılmasıdır. Üçüncü aşamada senesens halindeki yapraklarda sararmanın meydana geldiği safhadır. Bu safhada porfirinin oksijenik olarak açılmakta ve renkli klorofil katabolitleri meydana gelmektedir. Söz konusu reaksiyonun enzimi feoforbit α oksijenazdır. Klorofil katabolizmasındaki son aşama renkli klorofil katabolitlerinin renksiz klorofil katabolitlerine dönüştürülmesi ve bunların vakuole taşınmasıdır (Fang et al., 1997).

Senesens sürecinde klorofil yıkımının mekanizması sararmayan veya devamlı yeşil kalan mutantlardan yararlanılarak açıklanmaya çalışılmaktadır. Mutant *Festuca pratensis* de hem klorofillaz hem de Mg-deçelataz aktiviteleri yabani formuyla aynı olmasına rağmen mutantlarda feoforbit α oksijenaz aktivitesinin düşük olduğu belirtilmektedir (Fang et al., 1997).

Lipoksijenaz, klorofil oksidaz ve peroksidaz gibi oksidatif enzimler alternatif bir yolla klorofil katabolizmasına katılabilmektedir. Peroksidazın klorofil katabolizmasına olası katılımı çok öncelerden beri ileri sürülmektedir. Peroksidaz hidrojen peroksitle bir fenolik bileşiği katalizler ve klorofili renksiz bir bileşiğe indiren fenolik bir radikal üretmektedir (Costa et al., 2005).

1.3.2. Protein Miktarı ve Enzim Aktiviteleri

Senesens sürecinde zar proteinleri, rubisco ve glutamin sentaz gibi stroma proteinleri yıkılmaya başlamaktadır. Senesens sırasında klorofil ve total çözüner proteinler yıkılmaktadır. Temel protein kaybı ya da inaktivasyonu senesensin ayırt edici bir özelliğidir (Sağlam Çağ, 1997; Gören, 2004).

Yaprak senesensi sürecinde, birçok hidrolize edici ve oksidatif enzimlerin aktivitelerinin arttığını ya da azaldığını belirten çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Senesens süresince, besinlerin taşınmasında ve yıkılmasında rol oynayan birçok enzimlerin aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. Senesens sürecindeki bezelye yapraklarının peroksizomlarında superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin arttığı, katalaz aktivitesinin ise azaldığı gözlenmiştir. Yaprak senesensi sırasında, transkripsiyonu artan yaklaşık 100 gen domates, mısır, tütün, patates, fasulye gibi çeşitli bitki türlerinden izole edilmiştir. Bu genler proteinaz, nükleaz, lipaz, klorofillaz gibi yıkıcı enzimleri ve glutamat sentetaz gibi azot taşınmasını sağlayan enzimleri kodlamaktadırlar (Sağlam Çağ, 1997; Gören, 2004).

Senesens sürecindeki *Oryza sativa* yapraklarında katalaz, peroksidaz ve polifenol oksidaz enzimlerinin aktiviteleri belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre peroksidaz ve polifenol oksidaz enzimlerinin aktivitesi artarken katalaz'ın aktivitesi azalmaktadır (Kar and Mishra, 1976).

Senesens sırasında hücre zarlarında meydana gelen bozulma superoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^\cdot) gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasıyla bağlantılıdır. Yaprak senesensi sürecinde ROS'un seviyesinin yükselmesi antioksidan enzim aktivitesinin azalmasıyla mümkündür. Bitkilerde superoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APO), glutatyon redüktaz (GR), dehidro askorbat redüktaz (DHAR) ve katalaz (CAT) ROS temizleyen önemli enzimlerdir. Çeşitli antioksidan enzimlerin aktiviteleri kuraklığa, yüksek sıcaklığa, düşük sıcaklığa ve tuzluluğa yanıt olarak arttığı bilinmektedir (Sairam et al., 2003).

Salatalık (*Cucumis sativus*) bitkisinin kotiledonlarında meydana gelen doğal ve karanlıkla teşvik edilen senesens sürecinde yedi antioksidan enzim aktivitesinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre doğal senesens sürecinde superoksit dismutaz, katalaz, dehidro askorbat redüktaz ve glutatyon redüktaz aktiviteleri azalırken askorbat peroksidaz ve guaiacol peroksidaz yükselmektedir. Monodehidroaskorbat redüktaz aktivitesinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir (Kanazawa et al., 2000).

1.3.2.1. Katalaz

Katalaz, yüksek konsantrasyondaki hidrojen peroksit'in su ve oksijene dönüşmesini sağlayan ve prostetik grup olarak porfirin içeren yüksek moleküler ağırlığa sahip bir enzimdir. Katalaz bitkilerin yaprak, kotiledon ve köklerindeki hücrelerin peroksizomlarında ve glioksizomlarında, mısırdaki bulunan CAT III ise mitokondrilerde bulunmaktadır (Öztürk, 2002).

CAT' ın temel fonksiyonu, moleküler O_2 varlığında metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen, radikal karakterli H_2O_2 'nin ve ROOH gibi bir peroksit'in radikalliğini gidererek özellikle membranda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektir. Zira H_2O_2 , singlet oksijen ve hidroksil radikalının (OH^\cdot) potansiyel kaynağıdır (Öztürk, 2002).

1.3.2.2. Peroksidaz

Peroksidazlar, hidrojen peroksiti kullanarak çok sayıda organik ve inorganik substratın oksidasyonunu katalizleyen hem proteinlerdir. Molekül ağırlığı 35-100 kDa arasında değişmektedir. Peroksidazlar, fenoller, hidrokinonlar, hidrokinoidaminler (yalnızca benzidin türevleri) gibi çok sayıda aromatik bileşenlerin dehidrojenasyonlarında katalizlemektedir. POD, çeşitli aromatik bileşenleri substrat olarak kullanarak metabolizma esnasında ortaya çıkan H_2O_2 'yi etkisiz hale getirmektedir. POD; spesifik aktivite, substrat ilgisi, kofaktörler, inhibitörlere hassasiyet ve optimum pH gibi biyokimyasal özellikleri farklı olan çok sayıda izoenzimden meydana gelmiştir (Öztürk, 2002).

1.3.3. Karbohidrat İçeriği

Pelargonium yapraklarında karanlıkla teşvik edilen senesens suresince nişasta ve özenebilir karbohidratlar azalmıştır (Rosenvasser et al. 2006). *Brassica oleracea* bitkisinde yapılan bir çalışmada hasattan sonra 24 saat içinde nişasta ve özenebilir şeker içeriği hızlıca dştğ gözlenmiştir. Nişasta ve özenebilir şeker hasat'ın ilk anları suresince solunumun ana substrat kaynağıdır (Finger et al., 1999).

1.3.4. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2) oksidatif metabolizmanın bir öğesidir. Peroksizom ve kloroplastlardaki oksidatif reaksiyonların bir ürünüdür. H_2O_2 bir aktif oksijen türüdür. Hidrojen peroksit aynı zamanda eser miktarda Cu^{2+} veya Fe^{2+} varlığında süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek daha etkili serbest oksijen radikalleri ve hidrosil radikali oluşturmaktadır. Hidrosil radikalleri membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve proteinlerin bozulmasına neden olmaktadır. Serbest radikaller yaprak senesensini önemli bir ölçüde artırdığı yaygın olarak düşünülmektedir (Chang and Kao, 1998).

Hidrojen peroksit ve superoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) içeren reaktif oksijen trleri bitkilerde pek çok sayıda metabolik yollar vasıtasıyla kaçınılmaz bir şekilde üretilmektedir. Bunların varlığı nükleik asit, lipit ve protein gibi hüresel moleküllerde oksidatif zarara neden olmaktadır. $O_2^{\cdot-}$ mitokondri ve kloroplast elektron taşıma sisteminde üretilmektedir. Hidrojen peroksit gliksizomlarda ve peroksizomlarda üretilmektedir (Kanazawa et al., 2000).

1.3. Senesens Sürecini Etkileyen Faktörler

Yaprak senesensi hücre fizyolojisinde, biyokimyasında ve gen ifadesinde düzenli ve sırasal değişikliklerin meydana geldiği programlı bir süreçtir (Lim et al., 2003). Yaprak senesensi pek çok farklı yollarla kontrol edilen ve çeşitli faktörlerle teşvik edilen bir süreçtir (Buchanan Wollaston et al., 2003). Bitkilerde meydana gelen senesens aktif bir süreç olup iç faktörler ve dış faktörlerle düzenlenmektedir (Weaver and Amasino, 2001).

1.4.1. İç Faktörler

Senesens süreci nükleus tarafından kontrol edilmektedir (Nooden et al. 1997). Son yıllarda biyokimya ve moleküler alanlarında yapılan çalışmalar senesens sürecinin bazı genlerin transkripsiyonunu gerektiren aktif bir süreç olduğunu göstermiştir (Buchanan-Wollaston et al., 2003).

Senesensi artıran genleri sınıflandırmada farklı ifadeler kullanılmaktadır. Bu genler genelde SAG (senescence associated genes) olarak adlandırılır veya daha doğru bir ifadeyle SEN (senescence enhanced) genleri olarak adlandırılmaktadır. Söz konusu genlerin fonksiyonel analizleri bu genlerin senesensdeki rollerini belirlemek için önemlidir (Buchanan Wollaston et al., 2003).

Senesens sırasında meydana gelen taşınma ve bozulma olaylarına aracılık etmek ve hücre metabolizmasını kontrol etmek için yeni proteinler sentezlenmektedir. Senesens programına katıldığı düşünülen proteinleri kodlayan genlerin mRNA seviyeleri artarken, fotosentezle ilgili proteinleri kodlayan genlerin mRNA seviyeleri düşmektedir (Gören, 2004) .

Bitki hormonlarının senesensin düzenlenmesinde rol aldıkları bilinmektedir. Bitki hormonlarının bir kısmı senesens sürecini hızlandırırken bir kısmı da bu süreci

geciktirmektedir. Bitki hormonlarının senesens sürecindeki rolleri bölüm 1.5’de ayrıntılı bir şekilde anlatılacaktır.

1.4.2. Dış Faktörler

Bitkilerde prematüre senesens’e besin veya su stresi, ozon veya ultraviyole (UV)’nin neden olduğu oksidatif stres gibi birçok farklı çevresel faktörler neden olmaktadır. Bezelyede kuraklık stresi ile teşvik edilen prematüre senesens doğal senesense benzer şekilde gelişmektedir (Buchanan Wollaston et al., 2003).

Tek yıllık bitkilerde prematüre senesensin başlaması kuraklık, mineral eksikliği ve yaralanma gibi oksidatif strese sebep olan farklı çevresel faktörlerle başlatılabilmektedir. Senesens halindeki yapraklarda aktif oksijen birikimi bu şartlar altında olduğu gösterilmiştir (Kukavica and Jovanovic, 2004). Bu yüzden pek çok SAG genleri bitkilerin bu çevresel faktörlere yanıtı olarak düzenlenmektedir. Çevresel faktörlerle teşvik edilen senesens sürecinde pek çok durumda SAG genlerinin aktivasyonu gözlenmiştir (Nam, 1997).

Işık şiddeti senesensin düzenlenmesini etkileyen önemli bir faktördür (Weaver and Amasino, 2001). Karanlık veya düşük ışık şiddeti, ışığa bağlı düzenlenen genlerin transkripsiyonunda bir azalmaya neden olmasının yanında klorofil ve fotosentetik proteinlerin yıkılmasına da neden olmaktadır (Wingler et al., 1998). *Arabidopsis* bitkisine karanlık uygulamak yaprak senesensini başlatmaktadır (Lin and Wu, 2004).

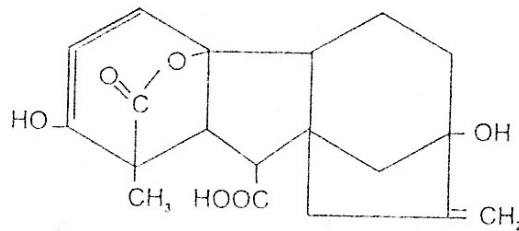
1.5. Senesensin Bitki Hormonları ile İlişkisi

Çeşitli bitki hormonları senesensin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Senesens sürecinde bitkilerde birçok hormonun konsantrasyonunda değişimler meydana gelmektedir. Senesens halindeki dokularda sitokinin seviyesinin azaldığını ve pek çok

durumda GA_3 seviyesinin de düştüğü belirtilmiştir. Oksin ve etilen konsantrasyonu senesens halindeki dokularda artmaktadır (Even Chen et al., 1978). Bitkilerde ve bitki dokularında yaşlanmayı teşvik eden su stresi, yaralanma, mineral eksikliği ve yüksek sıcaklık gibi uygulamalar hormon seviyelerindeki değişimleri teşvik etmektedir. Bitki hormonları ile muamele senesens oranını etkilediği bilinmektedir. Gibberellinlerin ve sitokininlerin senesensi geciktirmede, etilen ve absisik asit'in ise senesens ile değişikliklerin artmasında etkili olduğu belirtilmektedir. Bu hormonlardan özellikle sitokininlerin ve etilenin senesens olayında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Gören, 2004) .

1.5.1. Gibberellinler

Gibberellinler ismini ilk kez keşfedildiği pirinç paraziti mantarın (*Gibberella fujikori*) isminden almıştır. Yüksek bitkilerde 89 tane GA bulunmuştur. Gibberellik asit GA_3 ticarete sunularak deneysel ve uygulamalı çalışmalarda ve gibberellik gücü test etmek istenen bileşiklere referans olarak kullanılmaktadır. Sadece gibberellik asit veya gibberellin denildiğinde GA_3 anlaşılmaktadır (Akman ve ark., 2001; Önder ve Yentür, 1999).



Şekil 1.1. Gibberellik asit (GA_3)

Gibberellinlerin biyosentez evreleri genellikle plastidlerde tamamlanır ve fitokrom pigmenti bu sentezi düzenlemektedir. Gibberellik asit meyve, tohum, embriyo, gövde, kökün apikal bölgesi ve genç yapraklarda sentezlenmektedir. Gibberellik asit internodyumların uzaması ve çiçeklenme, yaprak ve meyvelerin büyümesi, tohumların

çimlenmesi ve tomurcukların gelişimi, α -amilaz enziminin sentezi gibi birçok fizyoloji ve biyokimyasal olayda rol almaktadır. Gibberellinler hücre bileşiklerine bağlanarak aktif olmayan maddeler oluşturmaktadır. Gibberellinlerin inaktivasyonu karbon iskeletinin modifikasyonu ile ya da glukozla birleşmesiyle olmaktadır. Yüksek bitkilerde gibberellinlerin inaktivasyonu; molekülün 2 β -hidroksilasyonudur, diğer bir deyimle iki numaralı karbona OH grubu eklenmesiyle olmaktadır (Önder ve Yentür, 1999; Akman ve ark., 2001).

Gibberellinler senesensi önemli ölçüde geciktirmektedir (Goldthwaite and Laetsch, 1968). *Alstroemeria* bitkisinde yaprak senesensi gibberellinler ve kırmızı ışıkla yoğun bir şekilde inhibe edilmektedir (Kappers et al., 1998). Gibberellik asit senesens sürecinde protein (Beevers, 1966), klorofil (Rosenvasser et al., 2006), RNA (Beevers, 1966) ve fotosentez de (Jordi et al., 1994) meydana gelen kaybı ertelemektedir.

Pelargoniumun kesik yapraklarında karanlıkla teşvik edilen senesens sürecinde gibberellik asitin reaktif oksijen türleri, senesens ile ilgili genler (SAG) ve klorofil bozulması üzerine etkisini incelenmiştir. Gibberellik asit, klorofil bozulması ve senesens ile ilgili genlerin ifadesinde bir düşüşe sebep olmaktadır. Aynı zaman da gibberellik asit reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini sınırlamaktadır. Gibberellik asit yaprak senesensini yalnız ROS'un seviyesini düşürerek değil aynı zamanda mekanizması henüz bilinmeyen bir yöntemle yaprak senesensini inhibe etmektedir (Rosenvasser et al., 2006).

Lilium bitkisinde düşük sıcaklıkla teşvik edilen yaprak senesens'i üzerine gibberellinlerin (GA_{4+7}) ve ışığın etkisi araştırılmıştır. Gibberellik asit klorofil kaybını engellemesine karşın çözülür total karbohidrat konsantrasyonundaki azalmayı engelleyememektedir. Protein kaybı gibberellin uygulanan yapraklarda kontrole göre daha yavaş gerçekleşmektedir. Gibberellik asit lipid yıkımının göstergesi olan malonildialdehit konsantrasyonunu 4 $^{\circ}C$ de değiştirmeyenken, 22 $^{\circ}C$ de malondialdehit konsantrasyonundaki artışı yavaşlatmaktadır. Katalaz aktivitesinde meydana gelen düşüşü gibberellik asit engelleyememektedir (Ranwala and Miller, 2000).

1.5.2. Oksinler

Oksinler esas olarak gövde ve kök ucu gibi meristematik dokularda, yeni gelişmekte olan yapraklarda, çiçek, gelişen meyve ve tohumlarda sentez edildiği kanıtlanmıştır. Oksinler büyüme, kök uzaması, apikal dominansi, çiçeklenme gibi birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde rol almaktadır. Doğal ve sentetik indol türevi hormonların tümü oksin tipi büyüme hormonları olarak adlandırılır. İndol asetik asit ilk keşfedilen doğal oksin hormonu olup birçok bitki dokusunda bulunmaktadır. IBA, NAA ve 2,4-D gibi birçok sentetik oksin çeşitleride bulunmaktadır (Önder ve Yentür, 1999; Akman ve ark., 2001).



Şekil 1.2. Oksinler

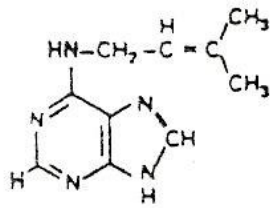
Sentetik ve doğal oksinler senesensi geciktirdiğini veya hızlandırdığını belirten yayınlar bulunmaktadır (Gören, 2004). Oksinler klorofil kaybı, RNA yıkımı ve sentezi, protein yıkımı ve sentezi, reaktif oksijen türlerinin sentezi, membran bozulması ve enzim aktivitesinde değişiklik gibi senesensle ilgili olayları etkilemektedir. Naftalen asetik asit *Xanthium* yapraklarında senesens sürecinde klorofil kaybını engellerken (Abrams and Pratt, 1966), IAA *Lactuca sativa* yapraklarında hızlandırmaktadır (Aharoni, 1989).

İndol asetik asit lale sürgünlerinde yaprak senesensinde klorofil kaybını ertelemiştir. Dışarıdan lale sürgünlerinde uygulanan indol asetik asit önemli bir antisenesens faktörüdür (Kawa Miszczak et al., 1959). *Rhoeo discolor*' da naftalenasetik asit karanlıkla teşvik edilen yaprak senesensini engellemektedir. Bu yapraklarda naftalen asetik asit RNA ve protein sentezini teşvik etmiştir (Sacher, 1967).

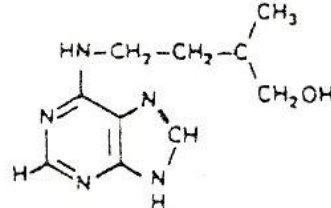
Arabidopsis thaliana' da *Auxin response factor1*(*ARF1*) ve *auxin response factor 2* (*ARF2*) genleri senesensi ve çiçek absiyonunu düzenlemektedir. Bu genler oksinin aracılık ettiği faktörlere yanıt olarak transkribe edilmektedir. Mutant bitkilerde *ARF 2* bitki yaşlanması, çiçeklenmenin başlaması, yaprak senesensi ve çiçek absiyonunu gibi birkaç süreçte gecikmeye sebep olmaktadır. Senesens halindeki yapraklarda *ARF 2*'nin ifadesi teşvik edilmiştir. *ARF 2* yaprak senesensini ve çiçek absiyonunu sitokinin ve etilenden bağımsız bir şekilde düzenlemektedir (Ellis et al., 2005).

1.5.3. Sitokininler

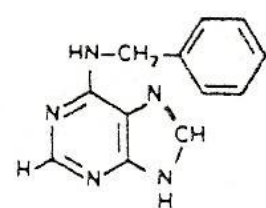
Sitokininler kök gelişimi, apikal dominansi, çiçeklenme, tohum gelişimi hücre bölünmesi ve senesens gibi birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Sitokininler ışıktaki kloroplast gelişimini ve klorofil sentezini teşvik etmektedir. Kök apikal meristemleri ve gelişen embriyo sitokinin başlıca sentez yerleridir. Doğal ve sentetik sitokininler pürin halkası taşırlar ve adenin türevleridir. Doğal olarak bulunan ve aktif üç sitokinin zeatin, dihidrozeatin ve izopentenil adenin (IPA) dir. Benzilamino pürin (BAP veya BA: benziladenin) ve tetra hidropiraniil-benziladenin (BPA) sentetik sitokininler arasında önemlidirler (Önder ve Yentür, 1999; Akman ve ark., 2001).



izopentenil adenin



dihidrozeatin



benzilamino pürin (benziladenin)

Şekil 1.3. Sitokininler

Karanlıkla teşvik edilen senesens sürecinde *Brassica oleracea* bitkisine 50 ppm BAP uygulanması hasattan sonra meydana gelen sukroz konsantrasyonundaki hızlı düşüşü

engelleyememesine karşın çözümler proteinlerdeki ve aminoasitlerdeki düşüşü geciktirmektedir (Downs et al., 1997).

Brassica oleracea'nın hasat sonrası senesens sürecinde BAP ve etafonun klorofili parçalayan enzimler ve peroksidaz bağlı olarak klorofillerin beyazlanması üzerine etkisi incelenmiştir. 100 ppm BAP ile muamele klorofilaz, Mg-deçelataz ve peroksidaza bağlı klorofil beyazlanmasının seviyesini azaltmıştır. Buna bağlı olarak ta klorofil kaybını azaltmıştır (Costa et al., 2005).

Senesens sürecindeki *Avena sativa* L yaprak segmentlerine 14 µM kinetin uygulama, CAT ve SOD enzimlerinin aktivitelerindeki düşüşü ve lipid peroksidasyonundaki artışı inhibe etmektedir (Dhindsa et al., 1982).

Transgenik tütün bitkilerinde sitokinin biyosentezini katalizleyen izopentenil transferaz enzimini kodlayan *İPT* geni sitokinin fazla üretimini sağlamakta ve senesensi geciktirmektedir (Gan and Amasino, 1995). Sitokinin üretimi teşvik edilmiş transgenik tütün (*Nicotina tabacum*) bitkisinin senesens halindeki dokularında, rubisco ve fotosentez metabolizması ile ilgili diğer enzimlerdeki düşüşü geciktirmektedir fakat engelliyememektedir (Wingler et al., 1998).

Sitokininlerin senesensi geciktirici etkisinin yanında, yapılan çalışmalarda yüksek konsantrasyonlarda uygulanan benzilamino pürin *Arabidopsis thalina* ve *Daucus carota*'da senesensi teşvik etmiştir (Carimi et al., 2004).

1.5.4. Diğer Bitki Hormonları

Etilen ve absisik asit gibi hormonlar bitkilerde senesensi hızlandırdığı bilinmektedir. Etilen bir senesens hormonu olarak senesens ve yaşlanma sırasında metabolik olayları düzenlenmektedir. Etilen protein, nişasta ve klorofil kaybına neden olarak meyve ve yaprak ayası senesensinde teşvik edici baskın bir role sahiptir (Önder ve

Yentür, 1999). ABA'nın dışarıdan uygulanması pirinç bitkisinde yaprak senesensini teşvik etmiştir (Gören, 2004).

1.5. Senesens ile İlgili Hipotezler

Bitkilerde senesensin çeşitli şekillerde meydana gelmesini bağlı olarak, senesensin geliş nedenlerini açıklamaya yönelik bazı hipotezler ileri sürülmüştür (Sağlam Çağ, 1997). Bu hipotezlerden bitki fizyolojisinin ilgi alanlarına girenleri, başlıca iki grup altında toplanabilir. Bunlardan biri besin boşalımını (Nutrient Drain) hipotezi, diğeri ise senesens sinyali hipotezidir.

1.6.1. Besin Boşalım Hipotezi

Senesens sırasında, hücrelerdeki makro moleküllerin yıkılarak buradan başka organlara taşınmasını ve bu maddelerin başka hücrelerce besin olarak kullanılmasını göz önüne alan araştırmacılar hücre içeriğinin boşalmasını senesensin nedeni olarak yorumlamıştır. Özellikle, monokarpik bitkilerde, tohumların gelişmeye başlamasına paralel olarak ve genaratif organlardan tohumlara doğru madde taşınmasının saptanmış olması ve çiçekleri ya da meyveleri koparılan ve hatta meyvelerinden tohumları çıkarılan monokarpik bitkilerde senesensin geciktirilebilmesi bu hipotezi destekleyen olgulardır. Mineral madde bakımından fakir olan ortamlarda yetiştirilen bitkilerde senesensin erken başladığı ve hızla ilerlediği de bilinmektedir. Bu olay, besin yetersizliği ile senesens arasında ilgi bulunduğu düşüncesini güçlendirmektedir (Gören, 2004; Sağlam Çağ, 1997).

1.6.2. Sinyal Hipotezi

Senesens sinyali hipotezini savunan araştırcılar, gelişmekte olan organlar (meyveler, tohumlar ve apikal meristem dokusu) tarafından üretilen bir sinyalin, hedef hücelere taşınması sonucunda senesensin meydana geldiğini ileri sürerler. Buna göre, hedef hücelerde yapısal makro moleküllerin yıkılması ve besinlerin hücelerden boşalması, senesens sinyalinin hedef hüceler tarafından algılanmasıyla birlikte başlar. Özellikle monokarpik bitkilerde senesensin, tohumların olgunlaşma süreci ile eş zamanlı olarak meydana gelmesi; tohumların koparılması halinde ise senesensin duraklaması, sinyal hipotezini destekleyen olaylardır (Gören, 2004; Sağlam Çağ, 1997).

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Araştırmada *Tropaeolum majus* L fidelerinin yaprakları deney materyali olarak kullanıldı. Latinçiçeğiler familyasının örnek bir bitkisi olup kapuçin olarak ta bilinmektedir. Anayurdu Güney Amerika'nın serin And Dağları bölgesidir. Latin çiçeklerinin yaklaşık 45 tane türü bulunmaktadır. Gösterişli çiçek ve yaprakları nedeniyle Latin çiçeği süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir (Ebcioğlu, 2002)

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarımızda potasyum fosfat (KH_2PO_4), hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), H_2O_2 (Ak kimya), coomassie brillant blue G-250 boyası (Sigma), potasyum iyodür (KI), iyot, etanol, aseton, guaiacol, triklorasetik asit (TCA), nişasta (Sigma), IAA (Sigma), IBA (Sigma), NAA (Sigma), GA_3 (Sigma) ve BAP (Sigma) kullanılmıştır.

2.1.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmalarımız sırasında kullanılan alet ve cihazlar:

Soğutmalı santrifüj	: Hettich
Spektrofotometre	: Jasco V-530 UV/ VIS Spectrophotometer
pH metre	: Eutech Instruments Ecoscan Hand-Held Series Singapore
Hassas terazi	: Scaltec SPB 54
Magnetik karıştırıcı	: Heidolph MR-3001
Otomatik pipetler	: Ephenndorf

2.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.1.3.1. Klorofil ve Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

1. % 80 (v/v) Aseton: 400 ml % 100'lük asetondan alınarak son hacmi destile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

2.1.3.2. Protein Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

1. Coomassie brilliant blue G-250 : 100 mg boya 50 ml % 97'lik etanol de çözüldü ve üzerine % 85'lik H₃PO₄ ten 111 ml ilave edildi. Son hacim destile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

2. 50 mM KH₂PO₄ pH = 7 (homojenat tamponu) : 1,7 g KH₂PO₄ 100 ml destile suda çözüldü. Daha sonra NaOH ile pH =7'ye titre edildi ve toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

2.1.3.3. Nişasta Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

1. İyot Çözeltisi: 0,25 g iyot 5 ml etil alkol de çözüldü ve üzerine 5 g KI ilave edildi. Son hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

2.1.3.4. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

1. % 0,1 (w/v) TCA: 0,1 g TCA 50 ml destile çözüldü ve son hacmi destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2. 1 M KI: 16,6 g KI 50 ml saf suda çözüldü ve son hacmi destile ile 100 ml'ye tamamlandı.

3. 10 mM KH_2PO_4 (pH = 7) : 0,34 g KH_2PO_4 200 ml destile suda çözüldü. Daha sonra NaOH ile pH =7'ye titre edildi ve toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

2.1.3.5. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

1. 50 mM KH_2PO_4 (pH= 7) (homojenat ve aktivite tamponu) : 1,7 g KH_2PO_4 200 ml destile suda çözüldü. Daha sonra NaOH ile pH = 7'ye titre edildi ve toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

2. 30 mM H_2O_2 : % 50'lik H_2O_2 den 204 μl alındı ve destile su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

2.1.3.6. Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

1. 50 mM KH_2PO_4 (pH= 7) (homojenat tamponu) : 1,7 g KH_2PO_4 200 ml destile suda çözüldü. Daha sonra NaOH ile pH = 7'ye titre edildi ve toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

2. 50 mM KH_2PO_4 (pH= 6,5) (aktivite tamponu) : 1,7 g KH_2PO_4 100 ml destile suda çözüldü. Daha sonra NaOH ile pH = 6,5'e titre edildi ve toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

3. 22,5 mM H_2O_2 : % 50'lik H_2O_2 den 153 μl alındı ve destile su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

4. 30 mM Guaiacol : 165 μl guaiacol alındı ve hacmi 50 ml'ye destile su ile tamamlandı.

2.1.3.7. Uygulanan Hormon Çözeltilerinin Hazırlanması

1. 10^{-4} M İndol-3-asetik asit (IAA): 17,51 mg IAA 1 ml etanol de çözüldü ve son hacmi destile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözelti seyreltilerek 10^{-5} M ve 10^{-6} M'lık deney çözeltileri hazırlandı.

2. 10^{-4} M İndol-3-bütirik asit (IBA) : 20,32 mg IBA 1 ml etanol de çözüldü ve son hacmi destile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözelti seyreltilerek 10^{-5} M ve 10^{-6} M'lık deney çözeltileri hazırlandı.

3. 10^{-4} M Naftalen asetik asit (NAA) : 18,62 mg NAA 1 ml etanol de çözüldü ve son hacmi destile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözelti seyreltilerek 10^{-5} M ve 10^{-6} M'lık deney çözeltileri hazırlandı.

4. 10^{-4} M Gibberellik asit (GA_3) : 34,63 mg GA_3 1 ml etanol de çözüldü ve son hacmi destile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözelti seyreltilerek 10^{-5} M ve 10^{-6} M'lık deney çözeltileri hazırlandı.

5. $2,2 \cdot 10^{-4}$ M 6-Benzilaminopürin (BA) : 50 mg BA 1 ml 1 N NaOH çözüldü ve son hacmi destile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözelti seyreltilerek 10^{-5} M ve 10^{-6} M'lık deney çözeltileri hazırlandı.

2.2. Metod

2.2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Uygulamalar

Tropaeolum majus L tohumları 4 saat su da bekletilip şişirildikten sonra eşit büyüklükteki tohumlar seçilerek % 50 humuslu bahçe toprağına ekildi. Fideleri vertikal klinostat üzerinde 12 saat fotoperiyotta 9000 luks ışık şiddetinde yetiştirildi. 70 günlük bitkilerin yaprakları petiyolları ile birlikte kesilerek içerisinde IAA, IBA, NAA, BAP, ve GA_3 hormonlarının 10^{-5} ve 10^{-6} M konsantrasyonlarındaki çözeltileri bulunan deney tüplerine yerleştirilerek karanlık ortama yerleştirildi. 2, 4 ve 6. günlerin sonunda yapraklarda klorofil, karotenoid, protein, nişasta, hidrojen peroksit miktarları ve katalaz ve

peroksidaz enzimlerinin aktiviteleri belirlendi. Ayrıca kontrol ve muamele grubu yapraklara 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyotlardan sonra 12 saatlik ışık periyodu uygulanarak nişasta miktarları belirlendi.

2.2.2. Klorofil ve Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi

Toplam klorofil miktarı Arnon denklemine göre belirlendi (Arnon, 1949). Karotenoid miktarı ise aşağıda verilen Jaspars formülüne göre hesaplandı (Öztürk ve Demir, 2001). 0,2 g yaprak dokusu % 80'lik 5 ml aseton içinde homojene edildikten sonra 3000 x g ` 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen supernatantın 645, 663 ve 450 nm dalga boyunda gösterdiği absorpsiyon (Optik dansite=OD) değerinden, 'mg klorofil / 1000 ml ekstrakt' miktarı aşağıda verilen formüle göre hesaplandı.

$$\text{Klorofil a} = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil b} = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

$$\text{Total klorofil} = 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}$$

$$\text{Toplam karotenoid} = 4,07 \times A_{450} - (0,0435 \times \text{kl.a miktarı} + 0,3367 \times \text{kl. b miktarı})$$

2.2.3. Protein Miktarının Belirlenmesi

Yapraklardaki protein miktarı Bradford (1976) yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntemde boya olarak kullanılan Coomassie brilliant blue G-250, negatif bir yüke sahiptir ve protein üzerindeki pozitif yüke bağlanır. Boyanın kırmızı ($A_{\text{max}}=465$ nm) ve mavi ($A_{\text{max}}=595$ nm) formu mevcuttur. Proteinin bağlanması, kırmızı formun mavi forma dönüşümünü sağlar. Birçok protein hemen hemen aynı sonuç eğrilerini verdiği için, yöntem geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bundan başka yöntem, bozucu faktörlere karşı daha az hassastır. Reaksiyon yüksek oranda tekrarlanabilir ve hızlı cereyan eder; 2 dakikada tamamlanır, renk stabilitesi 1 saatin üzerinde devam eder. Sodyum dodesil sülfat

(SDS) ve Triton X-100 gibi deterjanlar reaksiyonu bozmazlar. Bu yöntemin hassasiyeti 1-100 µg arasındadır. Ham ekstrakt ve amonyum sülfatla çöktürme yöntemleriyle elde edilen çözeltilerdeki kantitatif protein miktarı bu yöntemle tayin edildi.

0,2 g yaprak dokusu 1,3 ml 50 mM KH_2PO_4 (pH = 7) tamponu içerisinde homojene edildi. Homojenat +4 °C ve 12000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatanttan 50 µl alınarak son hacim 150 µl olacak şekilde destile su ile seyreltildi. Seyreltik supernatantan 50 µl alınarak içerisinde 2,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 çözeltisi bulunan tüplere pipetlendi. Tüpler vorteks ile karıştırılıp 10 dakika inkübasyona bırakıldı ve spektrofotometreyle 595 nm'de köre karşı absorbansı okundu. Kör olarak, 50 µl aynı tampon ve 2,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 renklendirme reaktifinden oluşan karışım kullanıldı. Standart grafikten yararlanarak protein miktarları belirlendi (Öztürk, 2002)

Standart grafik için 1 ml'sinde 1 mg protein ihtiva eden standart sığır albümin çözeltisi hazırlandı. Deney tüplerine sırasıyla standart protein çözeltisinden 0,10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ve 90 µl pipetlendi. Destile suyla son hacimleri 100 µl ye tamamlandıktan sonra içerisinde 2,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 çözeltisi bulunan tüplere pipetlendi. Tüpler vorteks ile karıştırılıp 10 dakika inkübasyona bırakıldı ve spektrofotometreyle 595 nm'de absorbansı köre karşı okundu. Kör olarak, 100 µl aynı tampon ve 2,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 renklendirme reaktifinden oluşan karışım kullanıldı. Elde edilen absorbanlara karşılık gelen µg protein değerlerinin grafiği çizildi

2.2.4. Nişasta Miktarının Belirlenmesi

0,2 g yaprak dokusu 3 ml destile su içerisinde havanda homojenize edildikten sonra 3000 x g de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant 5 dakika kaynatıldıktan sonra, bir kez daha 3000 x g de santrifüj edilerek berrak bir süpernatant elde edildi. 0,9 ml supernatanta ve 0,1 ml iyot çözeltisi ilave edilerek karışımın 600 nm deki absorbansı spektrofotometrede köre karşı ölçüldü. Kör olarak 0,9 ml destile su ve 0,1 ml iyot

çözeltilisinden hazırlanan karışım kullanıldı. Standart grafikten yararlanılarak nişasta miktarı tayin edildi (Akyıldız, 1999).

Standart grafik için 1 ml'sinde 100 µg nişasta ihtiva eden çözelti hazırlandı. Deney tüplerine sırasıyla standart nişasta çözeltilisinden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ml kondu. Destile suyla son hacimleri 10 ml'ye tamamlandı. 0,9 ml deney tüplerindeki standart nişasta çözeltilerinden ve 0,1 ml iyot çözeltilisinden hazırlanan karışımın 600 nm deki absorbanı spektrofotometrede köre karşı okundu. Kör olarak 0,9 ml destile su ve 0,1 ml iyot çözeltilisinden hazırlanan karışım kullanıldı. Elde edilen absorbanlara karşılık gelen µg nişasta değerlerinin grafiği çizildi

2.2.5. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi

0,25 g yaprak dokusu 2,5 ml % 0,1'lik (w/v) TCA da homojene edildi. Homojenat 12000 x g de 15 dakika santrifüj edildi. Supernatanttan 0,5 ml alınarak üzerine 10 mM (pH = 7) 0,5 ml KH_2PO_4 ve 1 ml 1 M KI eklendi. Elde edilen karışımın 390 nm'deki absorbanı köre karşı ölçüldü. Kör olarak 1 ml aynı tampon ve 1 ml KI kullanıldı. Standart grafikten yararlanılarak hidrojen peroksit seviyesi belirlendi (Velikova et al. 2000).

Standart grafik için 163 µM'lık H_2O_2 stok çözeltiliden sırasıyla 50, 100, 200, 300, 400, 500 ve 700 µl tüplere pipetlendi. Her bir tüpe 1 ml 1 M KI eklenerek son hacim aynı tamponla 2 ml ye tamamlandı. Yukarıda açıklandığı gibi absorbanı ölçüldü ve elde edilen absorban değerlerine karşılık gelen hidrojen peroksit konsantrasyonu grafik halinde verildi.

2.2.6 Katalaz ve Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü İçin Homojenat Hazırlanması

Enzim aktivitelerinin belirlenmesi için 0,2 g yaprak dokusu 1,3 ml 50 mM KH_2PO_4 (pH = 7) tamponu içerisinde homojenize edildi. Homojenat 4°C ve $12000 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant aktivite ölçümü için eppendorf tüplerine aktarılarak 4°C 'de muhafaza edildi.

2.2.6. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz aktivitesi H_2O_2 'nin O_2 ve H_2O 'ya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbanas azalmasının 240 nm' de izlenmesi esasına dayanır. Aktivite ölçümünde, 3 ml'lik reaksiyon karışımı 50 mM KH_2PO_4 (pH = 7) tamponu, 30 mM H_2O_2 ve 30 μl enzim den oluşacak şekilde hazırlandı ve iki dakika boyunca absorbanası ölçüldü (Öztürk, 2002).

Ölçümlerde lineer olarak absorbanas azalması olan aralıktan dakika başına absorbanas azalması hesaplandı. Işık yolu (b) = 10 mm, ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon_{\text{H}_2\text{O}_2}$) = $0,00394 \text{ (mmol}^{-1} \times \text{mm}^{-2})$ alınarak $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ formülünden 240 nm'de, dakikada 1 μmol H_2O_2 'nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı belirlendi. Formül pratik olarak $E\ddot{U} = 3(A/0,0394)$ şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülden hesaplandı

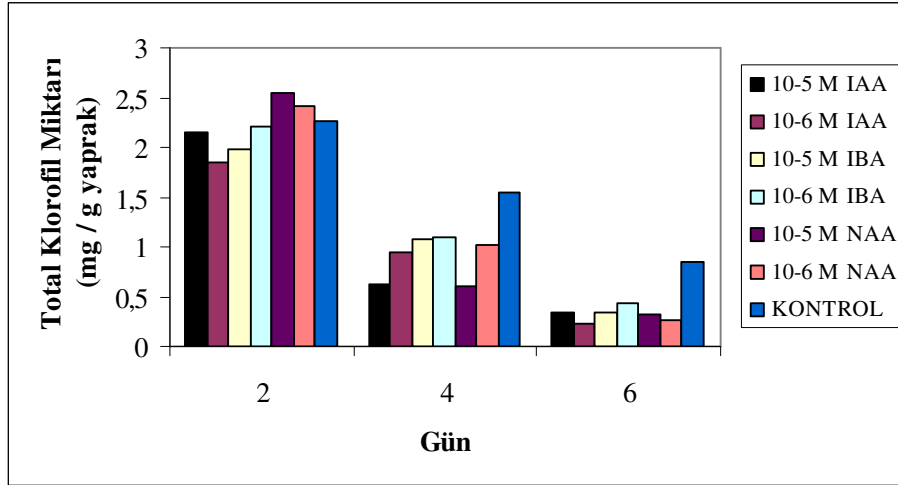
2.2.8. Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlendi. Aktivite ölçümünde, 3 ml'lik reaksiyon karışımı 50 mM KH_2PO_4 (pH = 6,5) tamponu, 22,5 mM H_2O_2 , 30 mM guaiacol ve 30 μl enzim den oluşacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon 30 μl enzimin ilavesiyle başladı ve iki dakika boyunca 470 nm de absorbanası ölçüldü. Bir enzim ünitesi bir dakikada 1 μmol guaiacol'u katalizleyen enzim miktarı olarak hesaplandı (Demir ve Öztürk, 2003).

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

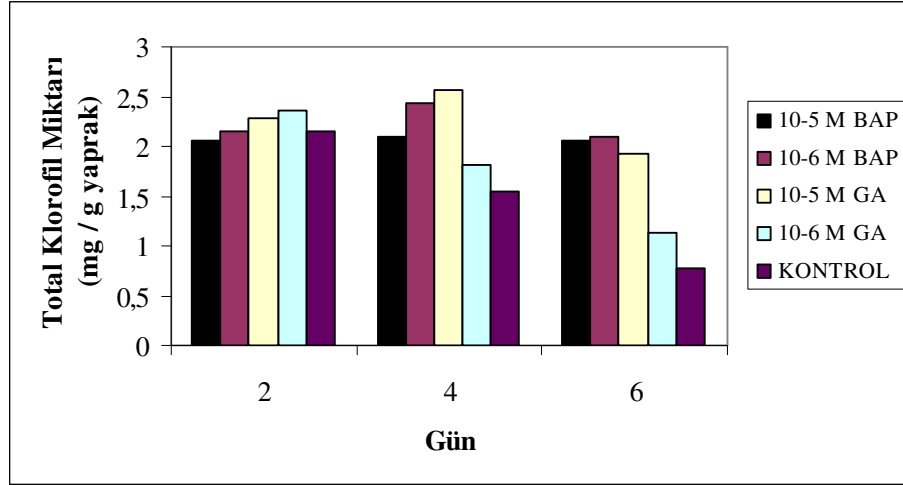
3.1. Klorofil ve Karotenoid İçeriği

Tropaeolum majus L yapraklarında total klorofil miktarı Arnon (1949) metoduna göre ve karotenoid miktarı ise Jaspars (1965) formülüne göre hesaplandı. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA, NAA, BAP ve GA_3 uygulanan yapraklarda g yaprak başına mg total klorofil ve karotenoid miktarları Tablo 3.1 ve Tablo 3.2; Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil miktarları

10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA uygulan yapraklarda klorofil miktarı 4. ve 6. günün sonunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır. Klorofil miktarındaki azalma en fazla IAA uygulanan yapraklarda gözlenmiştir.

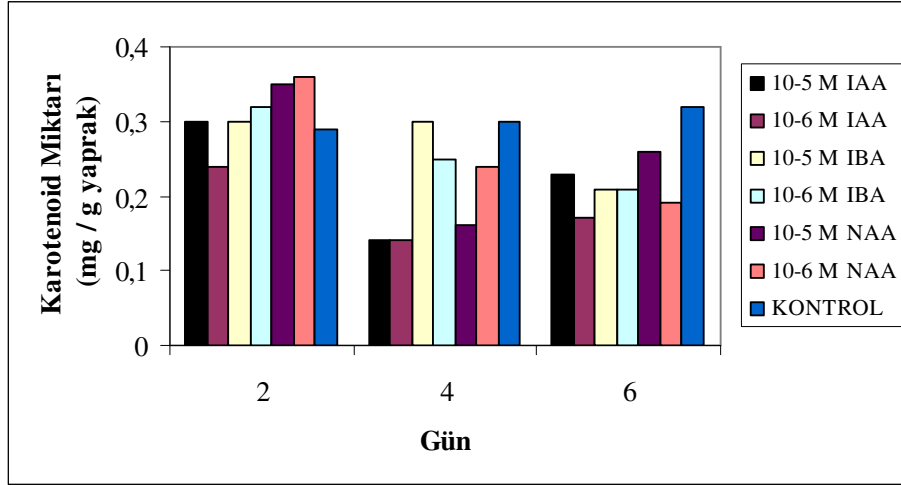


Şekil 3.2. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil miktarları

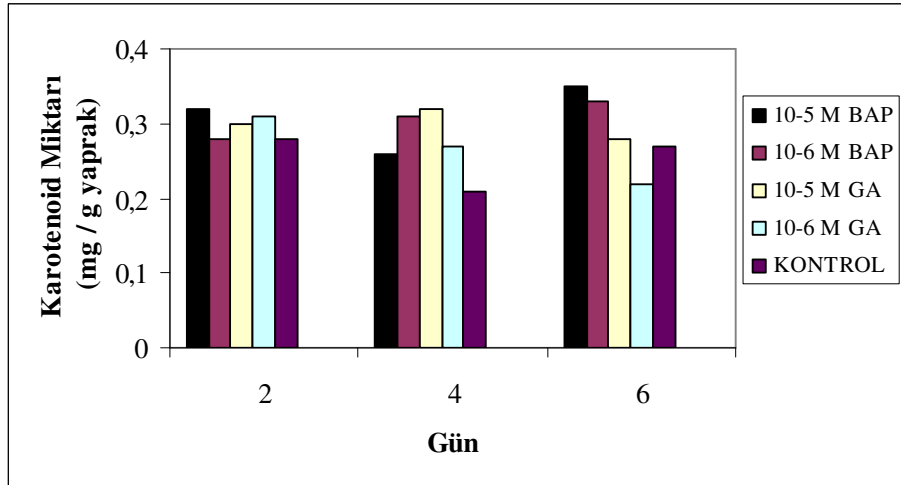
10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 uygulama yapraklardaki klorofil kaybını önemli ölçüde azalmıştır. 4. günün sonunda klorofil miktarındaki kayıp en az 10^{-5} M GA_3 uygulanan yapraklarda gözlenmiştir.

6. günün sonunda klorofil miktarındaki kayıp BAP uygulan yapraklarda % 2-3 oranında gerçekleşirken, GA_3 uygulanan yapraklarda bu oran %15-51 civarındadır. Oksin grubu hormonların uygulandığı yapraklarda klorofil kaybı 6. günün sonunda % 82- % 89 oranında gerçekleşmiştir.

Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'de gösterildiği gibi karotenoid miktarı 10^{-5} M IAA ve NAA uygulanan yapraklarda 6. günün sonunda kontrol grubuna göre sırayla % 28 ve % 18 oranında azalma meydana gelirken BAP ve GA_3 da sırayla % 44 ve % 3 'lük bir artış meydana gelmiştir.



Şekil 3.3. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra karotenoid miktarları



Şekil 3.4. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra karotenoid miktarları

Tablo 3.1. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil ve karotenoid miktarları (mg / g yaprak)

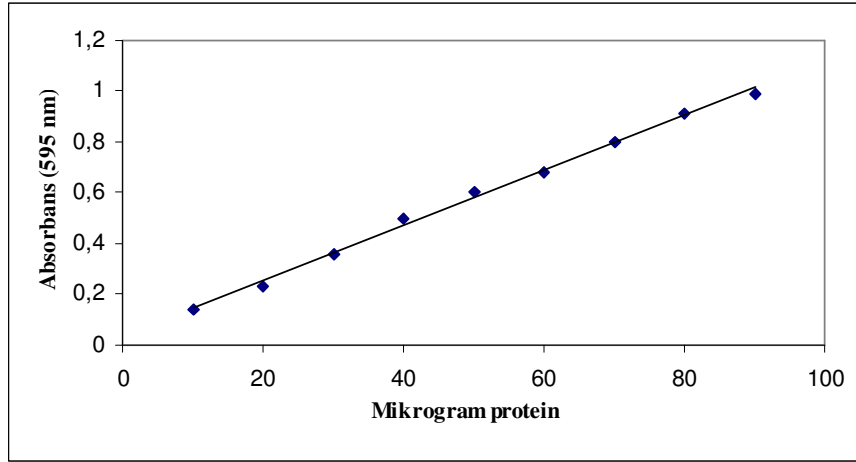
HORMON	Total Klorofil Miktarı			Karotenoid Miktarı		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M IAA	2,15	0,62	0,34	0,30	0,14	0,23
10^{-6} M IAA	1,84	0,95	0,22	0,24	0,14	0,17
10^{-5} M IBA	1,99	1,07	0,34	0,30	0,30	0,21
10^{-6} M IBA	2,20	1,10	0,43	0,32	0,25	0,21
10^{-5} M NAA	2,54	0,61	0,33	0,35	0,16	0,26
10^{-6} M NAA	2,41	1,01	0,26	0,36	0,24	0,19
KONTROL	2,27	1,54	0,85	0,29	0,30	0,32

Tablo 3.2. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra total klorofil ve karotenoid miktarları (mg / g yaprak)

HORMON	Total Klorofil Miktarı			Karotenoid Miktarı		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M BAP	2,05	2,10	2,03	0,32	0,26	0,39
10^{-6} M BAP	2,16	2,44	2,10	0,28	0,31	0,33
10^{-5} M GA_3	2,29	2,56	1,93	0,30	0,37	0,28
10^{-6} M GA_3	2,36	1,82	1,14	0,31	0,27	0,22
KONTROL	2,15	1,55	0,78	0,28	0,21	0,27

3.2. Protein Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik

Standart grafik Bölüm 2.2.3’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Enzim çözeltilerindeki kantitatif protein tayini bu standart grafikten faydalanılarak bulundu. Standart çözeltilerin μ g proteine karşılık gelen absorbans değerleri Şekil 3.5’de gösterildi.

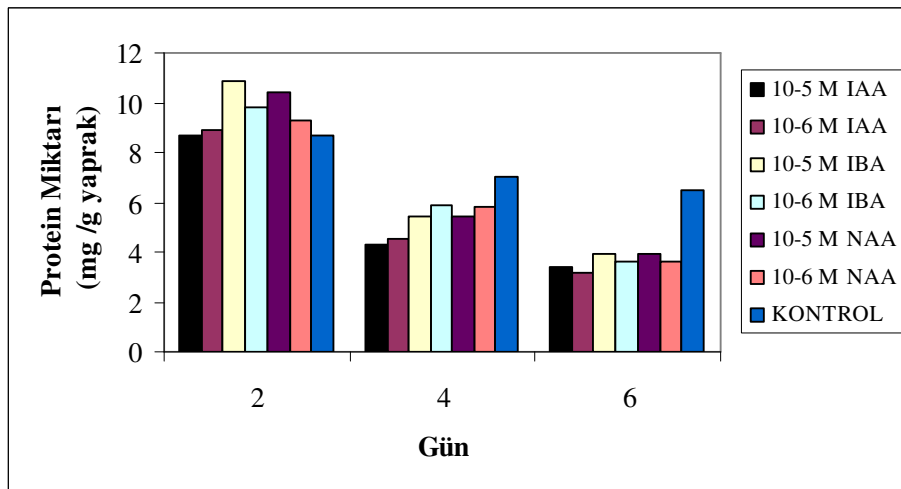


Şekil 3.5. Protein miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik

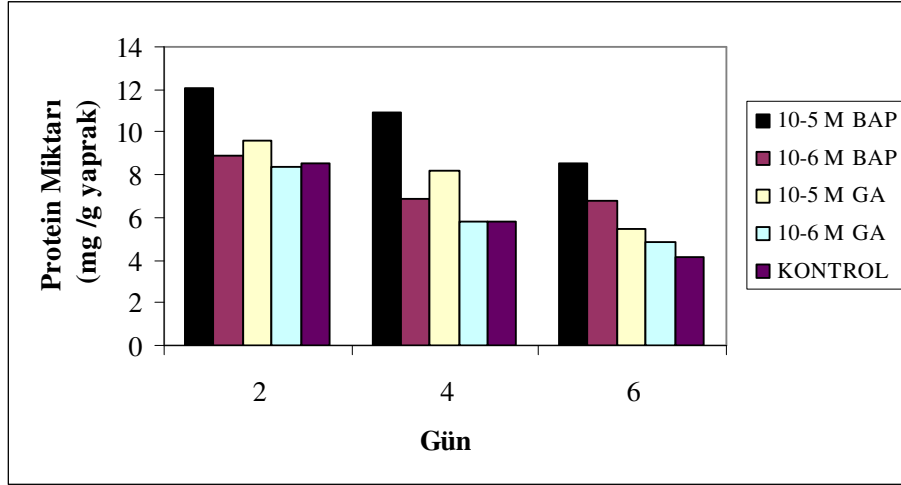
3.3. Protein Miktarı

Tropaeolum majus L yapraklarında karanlıkla teşvik edilen senesens sürecinde protein miktarında meydana gelen değişiklikler Şekil 3.6 ve Şekil 3.7; Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'de gösterildi.

Karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde oksin grubu hormonlar protein kaybı önemli ölçüde artırmıştır. Oksin grubu hormonların uygulandığı yapraklarda 4. günün sonunda protein miktarındaki kayıp en az 10^{-6} M IBA uygulanan yapraklarda iken en fazla kayıp 10^{-5} M IAA uygulanan yapraklarda gözlenmiştir.



Şekil 3.6. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra protein miktarları



Şekil 3.7. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karalık periyottan sonra protein miktarları

BAP ve GA_3 karanlıkla teşvik edilen yaprak senescens sürecinde protein miktarında meydana gelen kaybı anlamlı şekilde azaltmıştır. 10^{-5} M BAP uygulanan yapraklarda protein kaybı en azdır.

4. günün sonunda BAP ve GA_3 uygulanan yapraklarda protein miktarları anlamlı şekilde artmıştır. 10^{-5} M BAP ve GA_3 uygulanan yapraklarda 4. günün sonunda protein miktarında sırasıyla % 72 ve % 41 oranında artış meydana gelmiştir. 10^{-6} BAP ve GA_3 uygulanan yapraklarda 6. günün sonunda protein miktarında sırasıyla % 65 ve % 2 oranında artış gerçekleşmiştir.

Tablo 3.3. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karalık periyottan sonra protein miktarları (mg / g yaprak)

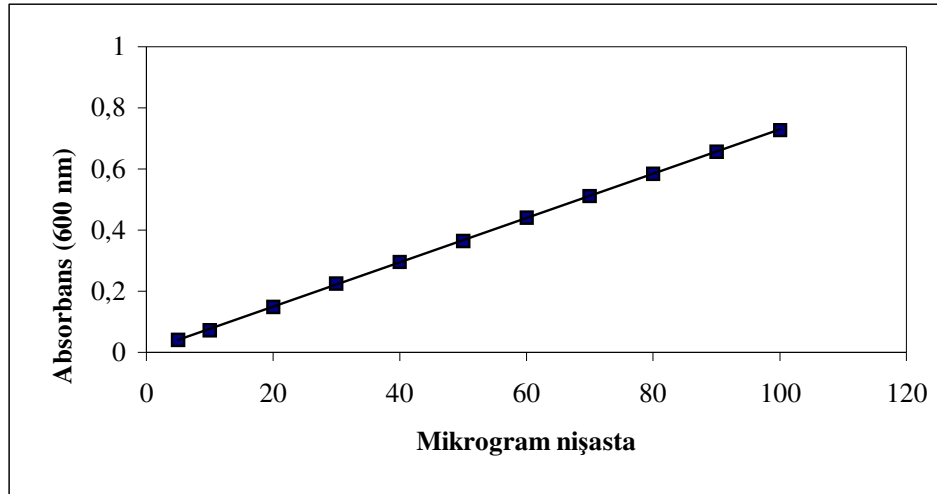
HORMON	Protein Miktarı		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M IAA	8,7	4,3	3,4
10^{-6} M IAA	8,9	4,5	3,2
10^{-5} M IBA	10,9	5,4	3,9
10^{-6} M IBA	9,8	5,9	3,6
10^{-5} M NAA	10,4	5,4	3,9
10^{-6} M NAA	9,3	5,8	3,6
KONTROL	8,69	7,01	6,52

Tablo 3.4. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra protein miktarları (mg / g yaprak)

HORMON	Protein Miktarı		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M BAP	12,1	10,9	8,5
10^{-6} M BAP	8,9	6,9	6,8
10^{-5} M GA_3	9,6	8,2	4,9
10^{-6} M GA_3	8,4	5,8	4,2
KONTROL	8,5	5,8	4,1

3.4. Nişasta Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik

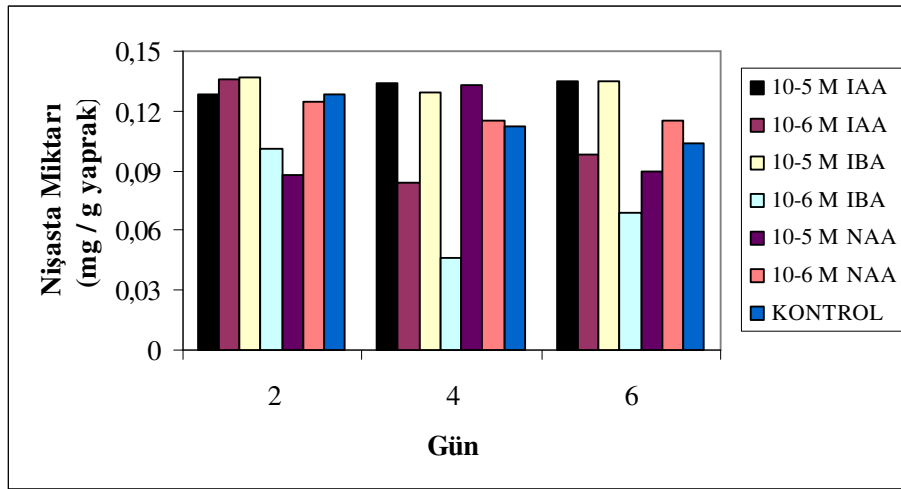
Standart grafik Bölüm 2.2.4’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Numunelerin nişasta miktarları bu standart grafikten faydalanılarak bulundu. Standart çözeltilerin μ g nişastaya karşılık gelen absorbans değerleri Şekil 3.8’de gösterildi.



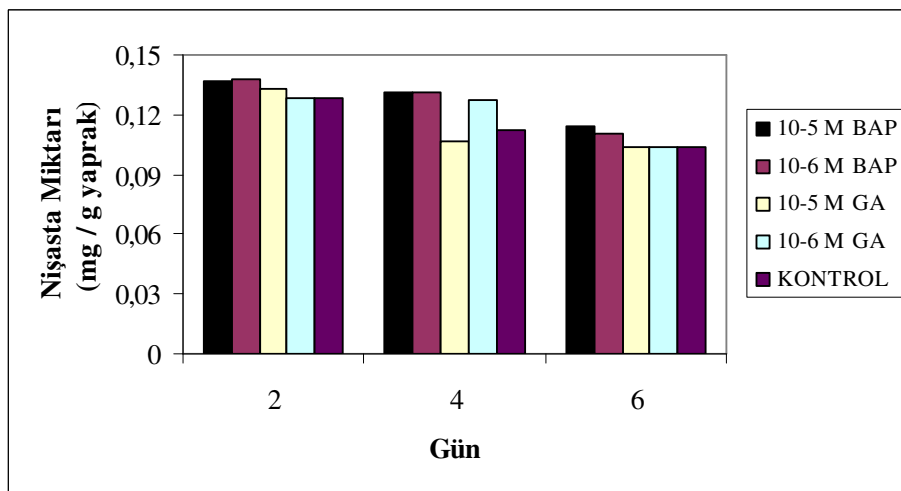
Şekil 3.8. Nişasta miktarının tayinin de kullanılan standart grafik.

3.5. Nişasta Miktarı

Karanlık periyottan sonra nişasta miktarlarında meydana gelen değişim Şekil 3.9 ve Şekil 3.10'da; Tablo 3.5 ve Tablo 3.6'da gösterildi. Nişasta miktarları 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyotlarda tüm uygulamalarda önemli ölçüde azaldı. Oksin uygulanan yapraklarda 6. günün sonunda nişasta miktarları arasında anlamlı farklılık oluşmadı.



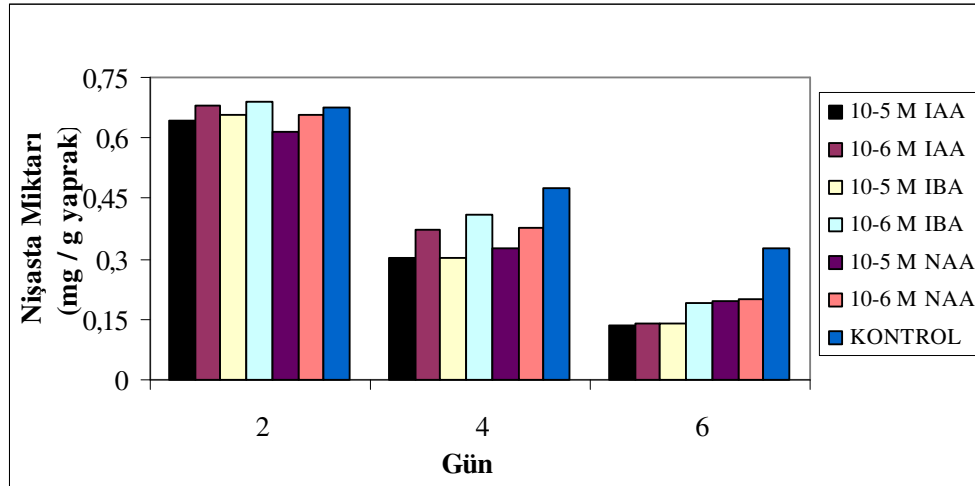
Şekil 3.9. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra nişasta miktarları



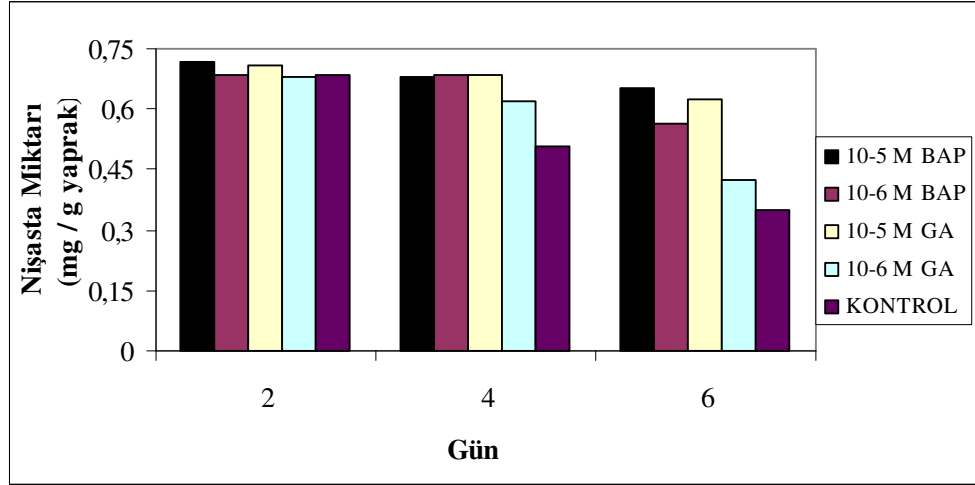
Şekil 3.10. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra nişasta miktarları

10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 uygulanan yapraklarda nişasta miktarları önemli ölçüde azaldı. 2. günün sonunda tüm uygulamalarda anlamlı farklılık meydana gelmedi.

Tablo 3.5 ve Tablo 3.6'da; Şekil 3.11 ve Şekil 3.12'de karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulanan yapraklarda nişasta miktarında meydana gelen değişimleri göstermektedir. Karanlık periyottan sonra 12 saatlik ışık uygulanan yapraklarda nişasta miktarında hormon çeşidine, hormon konsantrasyonu ve zamana bağlı olarak farklılıklar meydana gelmiştir. 6. günün sonunda 12 saat ışık uygulan yapraklarda nişasta miktarı kontrol grubuna göre oksin grubu hormonlarda % 34 - % 58 oranında azalma meydana gelirken BAP ve GA_3 'de sırasıyla % 82 ve % 76 oranında artış meydana gelmiştir. IAA, IBA ve NAA hormonlar karanlık periyot boyunca nişasta sentezleme mekanizmasında meydana gelen hasarları önemli oranda artırmıştır.



Şekil 3.11. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulanan yapraklardaki nişasta miktarları



Şekil 3.12. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulanan yapraklardaki nişasta miktarları

Tablo 3.5 ve Tablo 3.6’de karanlık periyottan sonraki ve karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulanan yapraklardaki nişasta miktarında meydana gelen değişimler mg / g yaprak olarak hesaplandı.

Tablo 3.5. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyot ve bu periyotlar sonunda 12 saat ışık periyodu uygulamanın nişasta miktarları üzerine etkisi (mg / g yaprak)

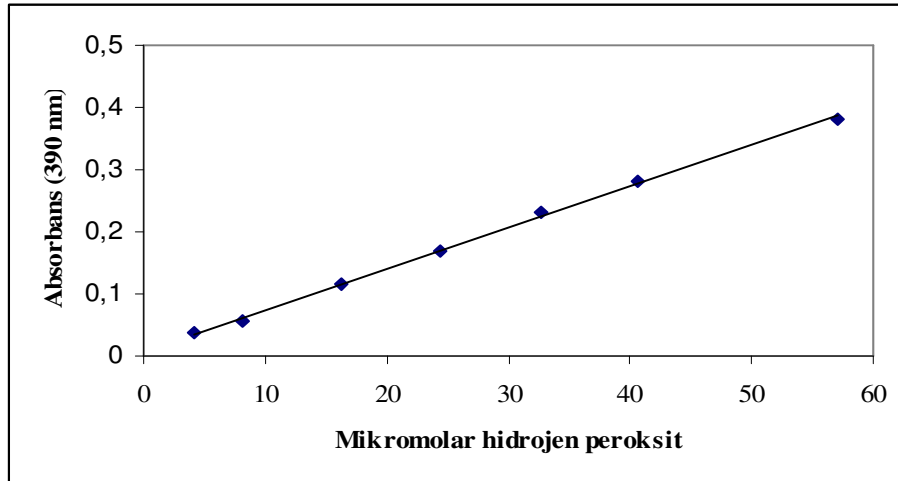
HORMON	Karanlık Periyodun Sonunda Nişasta Miktarı			Işık Periyodun Sonunda Nişasta Miktarı		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M IAA	0,128	0,134	0,135	0,645	0,301	0,137
10^{-6} M IAA	0,136	0,084	0,098	0,680	0,374	0,138
10^{-5} M IBA	0,137	0,129	0,135	0,656	0,302	0,139
10^{-6} M IBA	0,101	0,046	0,069	0,688	0,410	0,191
10^{-5} M NAA	0,088	0,133	0,090	0,615	0,328	0,214
10^{-6} M NAA	0,125	0,115	0,115	0,657	0,376	0,201
KONTROL	0,128	0,112	0,104	0,676	0,475	0,326

Tablo 3.6. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyot ve bu periyotlar sonunda 12 saat ışık periyodu uygulamanın nişasta miktarları üzerine etkisi (mg / g yaprak)

HORMON	Karanlık Periyodun Sonunda Nişasta Miktarı			Işık Periyodun Sonunda Nişasta Miktarı		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M BAP	0,137	0,131	0,114	0,716	0,681	0,650
10^{-6} M BAP	0,138	0,131	0,110	0,685	0,687	0,652
10^{-5} M GA_3	0,133	0,107	0,104	0,706	0,684	0,624
10^{-6} M GA_3	0,128	0,127	0,104	0,681	0,618	0,424
KONTROL	0,137	0,120	0,105	0,685	0,506	0,349

3.6. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik

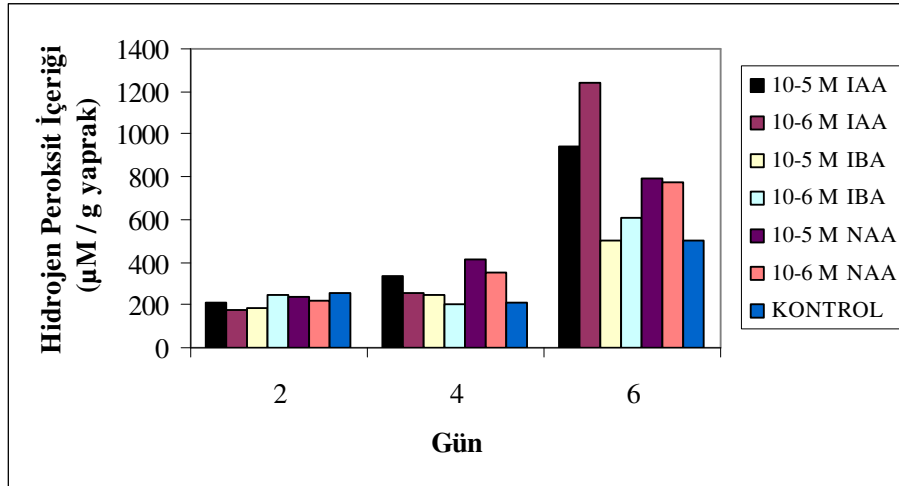
Standart grafik Bölüm 2.2.5’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Numunelerin hidrojen peroksit seviyesi bu standart grafikten faydalanılarak bulundu. Standart çözeltilerin μ M hidrojen peroksit karşılık gelen absorbans değerleri Şekil 3.13’te gösterildi.



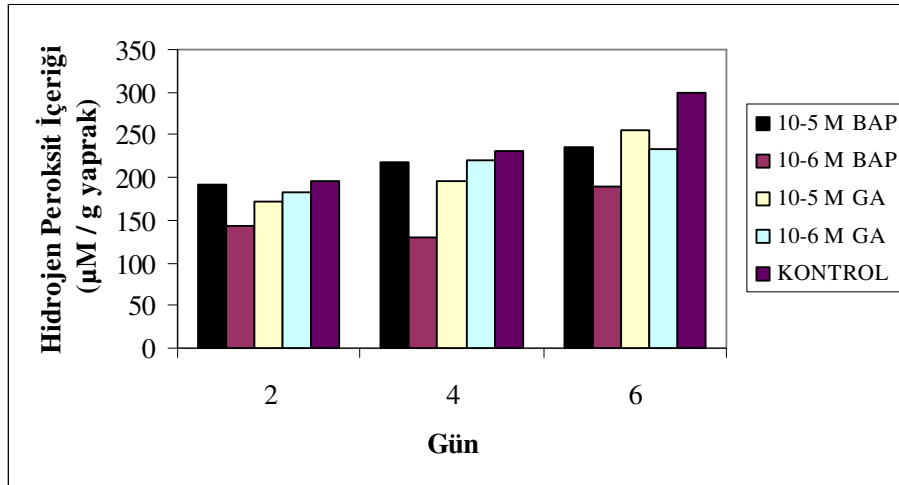
Şekil 3.13. Hidrojen peroksitin konsantrasyonunun tayininde kullanılan standart grafik.

3.7. Hidrojen Peroksit İçeriği

Hidrojen peroksit seviyesinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'de; Tablo 3.7 ve Tablo 3.8'de gösterildi. Karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde H_2O_2 konsantrasyonu artmaktadır. En fazla artış IAA ve NAA uygulanan yapraklarda gözlenmiştir. 10^{-5} M IAA ve NAA uygulanan yapraklarda 6. günün sonunda kontrol grubuna göre hidrojen peroksit konsantrasyonunun da sırayla % 86 ve % 56 oranında artış meydana gelirken BAP'da % 40 ve GA_3 'de % 41 oranında azalma meydana gelmiştir.



Şekil 3.14. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyeleri



Şekil 3.15. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyeleri

Tablo 3.7. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyesi (μM / g yaprak)

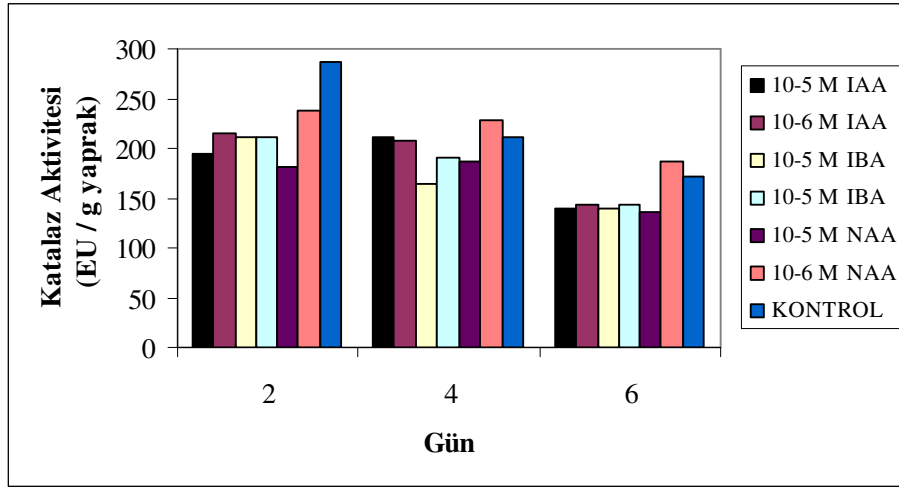
HORMON	Hidrojen Peroksit İçeriği		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M IAA	215,2	338,2	943,6
10^{-6} M IAA	176,6	257,1	1243,3
10^{-5} M IBA	187,5	250,9	502,8
10^{-6} M IBA	250,1	205,8	611,4
10^{-5} M NAA	239,5	412,4	792,9
10^{-6} M NAA	216,5	352,8	774,5
KONTROL	257,8	209,6	505,0

Tablo 3.8. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra hidrojen peroksit seviyesi (μM / g yaprak)

HORMON	Hidrojen Peroksit İçeriği		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M BAP	190,6	227,3	250,8
10^{-6} M BAP	142,3	130,8	188,3
10^{-5} M GA_3	172,2	195,1	254,9
10^{-6} M GA_3	183,7	220,4	234,2
KONTROL	195,1	221,4	433,2

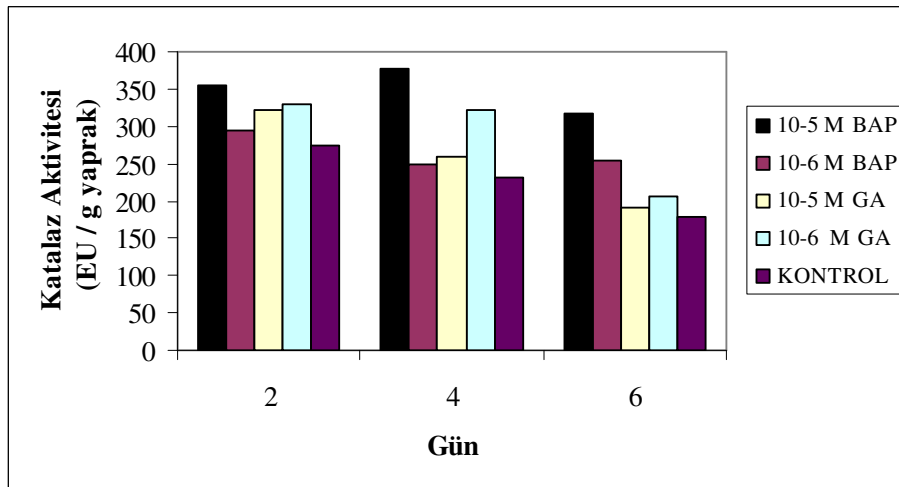
3.8. Katalaz Aktivitesi

Katalaz aktivitesinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.16 ve Şekil 3.17'de; Tablo 3.9 ve Tablo 3.10'da gösterildi. 2. günün sonunda 10^{-5} M IAA, IBA ve NAA uygulanan yapraklarda katalaz aktivitesi sırasıyla % 32, % 26 ve % 36 oranında azalırken 10^{-5} M BAP ve 10^{-5} M GA_3 uygulanan yapraklarda ise sırasıyla % 29 ve % 17 oranında artmıştır.



Şekil 3.16. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi

IAA ve IBA uygulanan yapraklarda katalaz aktivitesini önemli ölçüde azalırken 10^{-6} M NAA uygulanan yapraklarda katalaz aktivitesi 4. ve 6. günün sonunda önemli ölçüde artmıştır.



Şekil 3.17. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA₃ ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi

Tablo 3.9. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi (EU / g yaprak)

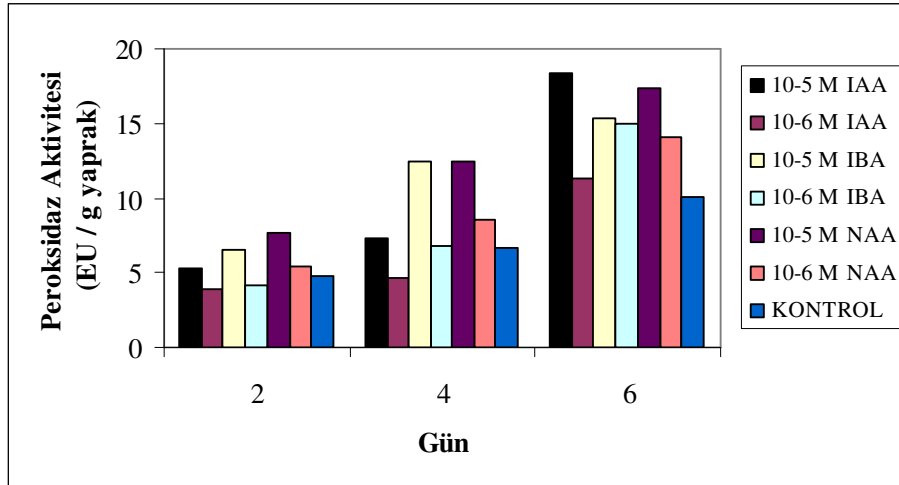
HORMON	Katalaz Aktivitesi		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M IAA	194,5	210,6	139,5
10^{-6} M IAA	215,7	207,2	143,5
10^{-5} M IBA	211,5	164,9	140,5
10^{-6} M IBA	211,5	190,3	1438
10^{-5} M NAA	181,8	186,1	135,8
10^{-6} M NAA	236,8	228,4	186,0
KONTROL	287,6	211,1	171,2

Tablo 3.10. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra katalaz aktivitesi (EU / g yaprak)

HORMON	Katalaz Aktivitesi		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M BAP	355,3	376,4	317,2
10^{-6} M BAP	295,4	249,5	253,8
10^{-5} M GA_3	321,4	258,0	190,6
10^{-6} M GA_3	329,9	321,4	205,7
KONTROL	274,9	232,6	177,6

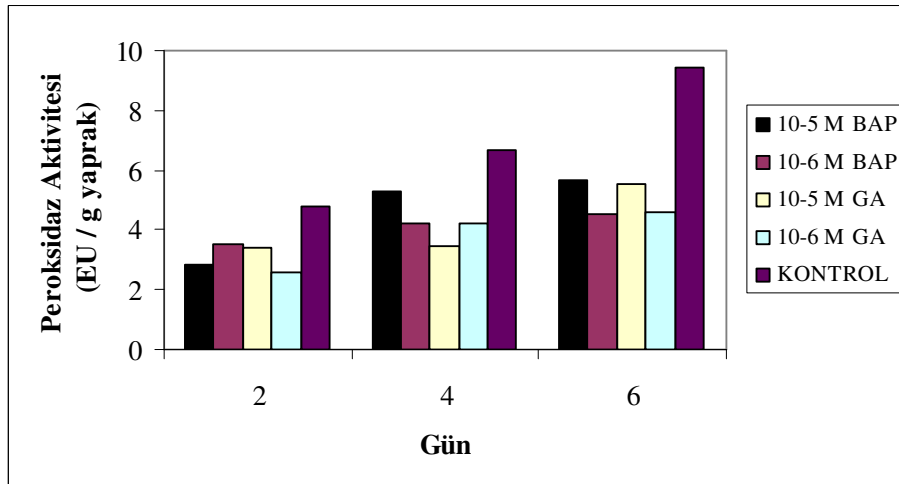
3.9. Peroksidaz Aktivitesi

Peroksidaz aktivitesinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.18 ve Şekil 3.19; Tablo 3.11 ve Tablo 3.12'de gösterildi. Oksin grubu hormonlar peroksidaz aktivitesini önemli ölçüde artırdı. Peroksidaz aktivitesindeki artış en fazla 10^{-5} M IAA uygulanan yapraklarda gözlemlendi. 10^{-5} M IAA, IBA ve NAA uygulanan yapraklarda 6. günün sonunda peroksidaz aktivitesi sırasıyla % 62, % 36 ve % 53 oranında azaldı.



Şekil 3.18. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi

BAP ve GA_3 peroksidaz aktivitesini önemli ölçüde azalttı. 10^{-5} M BAP ve GA_3 uygulan yapraklarda 6. günün sonunda peroksidaz aktivitesi sırasıyla % 40 ve % 41 oranında azaldı.



Şekil 3.19. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi

Tablo 3.11. 10^{-5} M ve 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi (EU / g yaprak)

HORMON	Peroksidaz Aktivitesi		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M IAA	5,30	7,35	18,32
10^{-6} M IAA	3,95	4,64	11,30
10^{-5} M IBA	6,50	12,40	15,37
10^{-6} M IBA	4,20	6,78	14,99
10^{-5} M NAA	7,65	12,5	17,37
10^{-6} M NAA	5,40	8,55	14,11
KONTROL	4,83	6,71	11,29

Tablo 3.12. 10^{-5} M ve 10^{-6} M BAP ve GA_3 ile muamele edilen yapraklarda 2, 4 ve 6 günlük karanlık periyottan sonra peroksidaz aktivitesi (EU / g yaprak)

HORMON	Peroksidaz Aktivitesi		
	2. Gün	4. Gün	6. Gün
10^{-5} M BAP	2,85	5,30	5,65
10^{-6} M BAP	3,53	4,24	4,54
10^{-5} M GA_3	3,42	3,44	5,55
10^{-6} M GA_3	2,61	4,23	4,62
KONTROL	4,80	6,65	9,45

4. TARTIŞMA

Senesens, bitkilerde meydana gelen ve tüm bitki, organ, doku ya da hücre ölümü ile sonuçlanan önemli bir gelişme sürecidir (Gören, 2004). Bu süreci bazı faktörler geciktirirken bazı faktörlerde teşvik etmektedir. Örneğin karanlık periyot bitkilerde yaprak senesensini teşvik eden önemli bir dış faktördür. Bitki hormonları da senesensin düzenlenmesinde rol oynayan diğer bir faktördür. *Tropaeolum majus* L yapraklarında karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde bitki büyüme düzenleyicileri senesens parametrelerini ve fotosentez etkinliğini önemli ölçüde etkilemiştir.

Klorofil yıkımı yaygın olarak yaprak senesensi semptomu olarak kullanılmaktadır. Senesens sürecinde klorofil miktarı önemli bir ölçüde azalmıştır. Yaprak senesensinin gözle görülebilen en karakteristik özelliği yeşil yaprak renginin sarı yada kırmızıya dönmesidir. Bunun nedeni klorofillerin karotenoidlerden daha hızlı yıkılmasıdır (Gören, 2004). Senesens sürecinde bitki hormonlarının bir kısmı klorofil yıkımını hızlandırırken bir kısmı da geciktirmektedir. Oksin grubu hormonların yaprak senesensi sürecinde klorofil yıkımını hızlandırdığını ve geciktirdiğini belirten yayınlar bulunmaktadır. IAA lale sürgünlerinde yaprak senesensi sürecinde klorofil kaybını geciktirirken (Kawa-Miszczak et al. 1959), *Lactuca sativa* yapraklarında hızlandırmaktadır (Aharoni, 1989). Oksinlerin klorofil yıkımını hızlandırdığını belirten yayınların paralelinde *Tropaeolum majus* L yapraklarında karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde IAA, IBA ve NAA klorofil yıkımını artırmıştır. 10^{-6} M IAA, IBA ve NAA uygulanan yapraklarda klorofil miktarı 6 günlük karanlık periyot boyunca % 80 - % 89 oranında azalırken kontrol grubu yapraklarda bu oran % 62 olarak gerçekleşmiştir.

BAP muamelesi *Brassica oleracea* yapraklarında senesens sürecinde klorofil kaybını geciktirmiş ve klorofili parçalayan enzimlere bağlı klorofil beyazlanmasının seviyesini azaltmıştır (Costa et al. 2005). Sitokinin üretimi artırılmış transgenik tütün bitkisinde senesens gecikmiştir (Gan and Amasino, 1995). 10^{-6} M BAP uygulanan yapraklarda 6. günün sonunda toplam klorofil kaybı sadece % 2 iken kontrol grubunda bu

oran % 62'tür. Bu sonuçlar sitokininlerin senesensi geciktirmesiyle ilgili yukarıda belirtilen makalelerle örtüşmektedir.

Gibberellinler senesens sürecinde klorofil miktarında meydana gelen kaybı azaltmıştır (Rosenvasser et al. 2006). 10^{-6} M GA_3 uygulan *Tropaeolum majus* L yapraklarında 4 günlük karanlık periyottan sonra klorofil miktarı kontrol grubuna göre % 17 oranında artış gözlemlendi.

Karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde karotenoid miktarında meydana gelen kayıp 10^{-5} M GA_3 uygulanan yapraklarda en azdır. En fazla kayıp IAA uygulanan yapraklarda gözlenmiştir.

Senesens sürecinde rubisco ve glutamin sentaz gibi stroma proteinleri yıkılmaya başlamaktadır. Temel protein kaybı ya da inaktivasyonu senesensin ayırt edici bir özelliğidir (Sağlam-Çağ, 1997; Gören, 2004). Gibberellinler senesens sürecinde protein kaybını geciktirmektedir (Ranwala and Miller, 2000). Yapılan çalışmalarda, sitokinin uygulanması klorofil ve fotosentetik proteinlerin yıkılmasını engellediği ve senesensi geciktirdiği belirtilmiştir (Gören, 2004). 10^{-5} M IAA, IBA ve NAA uygulanan yapraklarda 6 günlük karanlık periyotta sonra protein miktarı % 60 oranında azalırken BAP ve GA_3 'de bu oran % 30 civarında gerçekleşti.

Nişasta miktarı bitki hormonlarının senesens sürecinde yaprakların fotosentez yeteneklerini koruyup koruyamadıklarını belirlemede önemli bir parametredir. *Pelargonium* yapraklarında karanlıkla teşvik edilen senesens süresince nişasta ve çözünebilir karbonhidratlar azalmıştır (Rosenvasser et al. 2006). *Brassica oleracea*'da hasattan sonra 24 saat içinde nişasta ve çözünebilir şeker içeriği hızlıca düştüğü gözlemlenmiştir (Finger et al. 1999). Senesens sürecini protein ve klorofil yıkımını geciktirdiği bilinen BAP ve GA_3 , karbohidrat seviyesindeki hızlı düşüşü engelleyememektedir. *Brassica oleracea* da karanlıkla teşvik edilen senesens sürecinde BAP hasattan sonra meydana gelen sukroz konsantrasyonundaki hızlı düşüşü geciktirememektedir (Downs et al. 1997). *Lilium* bitkisinde düşük sıcaklıkla teşvik edilen yaprak senesens sürecinde gibberellinler (GA_{4+7}) klorofil ve protein kaybını engellemesine karşın çözülür total

karbohidrat konsantrasyonundaki azalmayı engelleyememektedir (Ranwala and Miller, 2000). 2 günlük karanlık periyottan sonra tüm uygulamalarda ve kontrol grubu yapraklarda nişasta miktarları % 80 oranında azalmıştır. Karanlık periyotta nişasta miktarları kontrol ve muamele grubu yapraklar arasında anlamlı bir farklılık oluşmadan azaldı. 10^{-5} M IAA, IBA ve NAA uygulanan yapraklarda 6 günlük karanlık periyottan sonra 12 saat ışık periyodu uygulandığında nişasta miktarındaki kayıp bunu üreten sistemlerdeki kaybın göstergesidir. Bu kaybın oranı oksin grubu hormonlarda % 65–79 arasında iken BAP'da % 9 oranında ve GA₃'de ise % 37 oranında gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar IAA, IBA ve NAA hormonlarının karanlık periyot boyunca nişasta sentezleme mekanizmasında meydana gelen hasarları önemli oranda artırdığını göstermiştir.

Hidrojen peroksit bitkilerde pek çok sayıda metabolik yollar vasıtasıyla üretilmektedir. H₂O₂ nükleik asit, lipit ve protein gibi hücrel moleküllerde oksidatif zarara neden olmaktadır (Kanazawa et al., 2000). Yapraklarda H₂O₂ miktarının 10 µM'lar artması fotosentezin % 50 azalmasına neden olur (Öztürk, 2002). Senesens halindeki bezelye yapraklarında H₂O₂ seviyesi artmaktadır (Kanazawa et al. 2000). Gibberellik asit reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini sınırlamaktadır (Rosenvasser et al. 2006). Çalışmalarımızda karanlık periyotla teşvik edilmiş senesens sürecinde H₂O₂ seviyesi tüm uygulamalarda ve kontrol grubu yapraklarda artmıştır. H₂O₂ konsantrasyonunda artış en fazla IAA ve NAA uygulanan yapraklarda gözlenmiştir. 10^{-5} M IAA, IBA ve NAA uygulanan yapraklarda 6 günlük karanlık periyot süresince H₂O₂ seviyesi sırayla % 338, % 168, % 231 oranında artmıştır. BAP ve GA₃ uygulanan yapraklarda bu artış sırayla % 32 ve % 47 oranında gerçekleşti.

Katalaz, metabolizmanın çeşitli basamaklarında oluşan H₂O₂'nin su ve oksijene dönüşümünü katalizler. Böylece H₂O₂'nin zararlı etkisi ve çok reaktif hidroksil radikaline (OH[•]) dönüşümü engellenmiş olur. Ayrıca hidroksil radikali çok reaktif olduğundan hücredeki bütün makromoleküllere rasgele saldırarak fonksiyonlarının azalmasına hatta kaybolmasına ve sonuçta hücrenin ölümüne neden olabilir (Öztürk, 2002). Senesens sürecinde katalaz aktivitesinin azaldığı yapılan değişik çalışmalarda gözlenmiştir. *Oryza sativa* yapraklarında katalaz aktivitesi senesens sürecinde azalmaktadır

(Kar and Mishra, 1976). Katalaz aktivitesinde meydana gelen azalmayı gibberellik asit (Ranwala and Miller, 2000) ve kinetin (Dhindsa et al. 1982) inhibe etmektedir. *Tropaeolum majus* L yapraklarında senesens sürecinde katalaz aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır. IAA, IBA ve NAA yapraklarda katalaz aktivitesini azaltırken BAP ve GA₃ artırmıştır. Katalaz aktivitesi 4 günlük karanlık periyottan sonra 10⁻⁵ M BAP uygulama yapraklarda kontrol grubuna göre % 62 oranında artış meydana gelirken 10⁻⁵ M IBA uygulanan yapraklarda % 28 oranında azaldı.

Peroksidaz çeşitli aromatik komponentleri substrat olarak kullanarak metabolizma esnasında ortaya çıkan H₂O₂'yi etkisiz hale getirmektedir (Öztürk, 2002). Senesens sürecinde peroksidaz aktivitesinde değişiklikler meydana geldiği tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar peroksidaz aktivitesindeki bu değişiklikleri senesens kriteri olarak kabul ederken bir kısmı da kabul etmemektedir (Gören, 2004). IAA uygulama *Helianthus annuus* L fidelerinde sırasal yaprak senesi sürecinde peroksidaz aktivitesini artırmıştır (Gören, 2004). *Oryza sativa* yapraklarında senesens sürecinde peroksidaz enzimin aktivitesi artmaktadır (Kar and Mishra, 1976). Peroksidaz aktivitesi *Tropaeolum majus* L yapraklarında karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde önemli ölçüde artmıştır. IAA, IBA ve NAA peroksidaz aktivitesini artırırken BAP ve GA₃ azaltmıştır. Peroksidaz aktivitesi 6 günlük karanlık periyottan sonra 10⁻⁵ M IAA uygulama yapraklarda kontrol grubuna göre % 80 oranında artış meydana gelirken 10⁻⁵ M BAP uygulanan yapraklarda % 44 oranında azaldı.

IAA, IBA ve NAA *Tropaeolum majus* L yapraklarında karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde meydana gelen klorofil ve protein miktarlarındaki kaybı artırırken BAP ve GA₃ geciktirdi. Oksin grubu hormonlar hidrojen peroksit seviyesindeki artışı önemli bir ölçüde teşvik ederken BAP ve GA₃ bu artışı geciktirmiştir. Oksin grubu hormonlar karanlıkla teşvik edilmiş senesens sürecinde peroksidaz aktivitesini artırırken katalaz aktivitesini azaltmıştır. BAP ve GA₃ hormonları oksin grubu hormonların aksine katalaz enziminin aktivitesini artırırken peroksidaz enziminin aktivitesini azaltmıştır. Yukarıda bahsedilen sonuçların ışığında IAA, IBA ve NAA'nın senesens sürecini hızlandırdığını, BAP ve GA₃'ün ise geciktirdiğini belirten yayınlarla örtüşmektedir.

KAYNAKLAR

- ABRAMS, G.J.V., PRATT, H.K. 1966.** Interaction of Naphtaleneacetic Acid and Kinetin in the Senescence of Detached Leaves. *Plant Physiol*, 41:1525-1530
- AHARONI, N., 1989.** Interrelationship between Ethylene and Growth Regulaors on the Senescence of the Lettuce Leaf Discs. *Journal of Plant Growth Regulation* 8 :309-317
- AKMAN, Y., KÜÇÜKÖDÜK, M., DÜZENLİ, S., TUĞ, G.N., 2001.** Bitki Fizyolojisi. Ankara.
- AKYILDIZ, A.,1999.** Kurutulmuş Elma Cipsi Üretim Tekniği Üzerine Araştırma. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- ARNON, D.I., 1949.** Copper Enzymes in Isolated Chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant. Physiol.*, 24, 1-15
- BEEVERS, L., 1966.** Effect of Gibberellic Acid on the Senescence of Leaf Discs of Nastrium (*Tropaeolum majus*). *Plant Physiol* 41:1074-1076
- BUCHANAN-WOLLASTON, V., EARL, S., HARRISON, E., MATHAS,E., NAVABPOUR, S., PAGE, T., PINK, D., 2003.** The molecular Analysis of Leaf Senescence-a Genomics approach. *Plant Biotech. Journal*, 1:3-22
- BRADFORD, M.M., 1976.** A Rapid and Sensitive Method for the Quantition of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal.Biochem*,72,248
- CAMP, P.J., HUBER, S.C., BURKE, J.J., MORELAND, D.E., 1982.** Biochemical Changes that Occur during Senescence of Wheat Leaves. *Plant Physiol.*, 70:1641-1645
- CARIMI, F., TERZI, M., DE MICHELE, R., ZOTTINI, M.,and SCHIAVO, F.L., 2004.** High Levels of The Cytokinin BAP Induce PCD by Accelerating Senescence. *Plant Science*, 166, 963–969

- CHANG, C.J., AND KAO, C.H., 1998.** H₂O₂ Metabolism during Senescence of Rice Leaves: Changes in Enzyme Activities in Light and Darkness. *Plant Growth Regulation* 25:11-15
- COSTA, M.L., CIVELLO, P.M., CHAVES, A.R., MARTINEZ, G.A., 2005.** Effect of Ethephon and 6-benzylaminopurine on Chlorophyll Bleaching during Post-Harvest Senescence of Broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20 °C. *Postharvest Biology and Technology*, 35: 191-199
- DEMİR, Y., ÖZTÜRK, L., 2003.** Influence of Ethephon and 2,5-norbornadiene on Antioxidative Enzymes and Proline Content in Salt-Stressed Spinach Leaves. *Biologia Plantarum*, 47 (4): 609-612
- DHINDSA, R.S., PLUMB-DHINDSA, P.L., REID, D.M., 1982.** Leaf Senescence and Lipid peroxidation: Effect of some Phytohormones, and Scavengers of Free Radicals and Singlet Oxygen. *Physiol. Plant*, 56: 453–457
- DOWNS, C.G., SOMERFIELD, S.D., and DAVEY, M.C., 1997.** Cytokinin Treatment Delays Senescence but Not Sucrose Loss in Harvested Broccoli, *Postharv. Biol. Tech.*, 11, 93-100
- EBCİOĞLU, N., 2002.** Salon ve Balkon Bitkileri. Remzi Kitabevi. İstanbul
- ELLIS, M.C., NAGPAL, P., YOUNG, J.C., HAGEN, G., GUILFOYLE, T.J., REED, J.W., 2005.** *Auxin Response Factor 1* and *Auxin Response Factor 2* Regulate Senescence and Floral Organ Abscission in *Arabidopsis thaliana*. *The Company of Biologist*, 132: 4563
- EVEN-CHEN, Z., ATSOM, D., ITAI, C., 1978.** Hormonal Aspects of Senescence in Detached Tobacco Leaves, *Physiol. Plant.*, 44, 377-382
- FINGER, F.M., ENDRES, L., MOSQUIM, P.R., PUIATTI, M., 1999.** Physiological changes during Postharvest Senescence of Broccoli. *Pesq. Agropec. Bras*, 34 (9) 1565-1569
- GAN, S., AMASINO, R.M., 1995.** Inhibition of Leaf Senescence by Autoregulated Production of Cytokinin, *Science*, 270, 1986–1988
- GÖREN, N., 2004.** *Helianthus annuus* L. Fidelerinde Sırasal Yaprak Senesensine Oksin ve Sitokinlerin Etkisi. İ.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

- HIMELBLAU, E., AMASINO, R.M., 2001.** Nutrients Mobilized from Leaves of *Arabidopsis thaliana* During Leaf Senescence. *J. Plant Physiol.*, 158: 1317-1323
in Detached Tobacco Leaves, *Physiol. Plant.*, 44, 377-382
- JASPARS, E.M.J., 1965.** Pigmentation of Tobacco Crown-Gall Tissues Cultured in vitro in Dependence of the Composition of the Medium. *Physiologia Plantarum*. 18 (4): 933-940,
- JORDI, W., POT, C.S., STOOPEN, G.M., SCHAPENDONK, A.H.C.M. 1994.** Effect of Light and Gibberellic Acid on Photosynthesis during Leaf Senescence of *Alstroemeria* Cut Flowers. *Physiologia Plantarum*. 90:293-298
- KANAZAWA, S., SANO, S., KOSHIBA, T., USHIMARU, T., 2000.** Changes in Antioxidative Enzymes in Cucumber Cotyledons during Natural Senescence: Comparison with Those during Dark-Induced Senescence, *Physiol. Plant.*, 109, 211-216
- KAPPERS, F.M., JORDI, W., MAAS, F.M., STOOPEN G.M., LINUS, H.W. 1998.** Gibberellin and Phytochrome Control Senescence in *Alstroemeria* Leaves Independently. *Physiologia Plantarum*, 103: 91-98
- KAR, M. and MISHRA, D., 1976.** Catalase, Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities during *Rice* Leaf Senescence. *Plant Physiol.*, 57:315-319
- KAWA-MISZCZAK, L., WEGRZYNOWICZ-LESIAK, E., SANIEWSKI, M., 1959.** Retardation of Tulip Shoot Senescence by Auxin. *Nature*, 183:1459-1460
- KUKAVICA, B., JOVANOVIĆ, S.V., 2004.** Senescence-Related Changes in the Antioxidant Status of Ginkgo and Birch Leaves During Autumn Yellowing. *Physiologia Plantarum*, 122:321-327
- LIM, P., WOO, H., NAM, H., 2003.** Molecular Genetics of Leaf Senescence in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 8 (6):272
- LIN, J.F., WU, S.H., 2004.** Molecular Events in Senescing *Arabidopsis* Leaves. *The Plant Journal*, 39:612-628
- NAM, H.G., 1997.** The Molecular Genetic Analysis of Leaf Senescence, *Curr. Opin. Biotech.* 8, 200-207
- NOODEN, L.D., GUIAMET, J.J., JOHN, I., 1997.** Senescence Mechanism, *Physiol. Plant*, 101, 746-753

- ÖNDER, N., YENTÜR, S., 1999.** Bitkilerin Büyüme Gelişme Farklılaşma ve Hareket Fizyolojisi. İstanbul Üniversitesi.
- ÖZTÜRK, L., 2002.** Normal Şartlarda Büyütülen Ispanak (*S. Oleracea* cv. Gladiatör) Bitkisinde Etafon ve Poliamin Uygulamalarının Oksidatif Enzimler Üzerine in vivo ve in vitro Etkilerinin İncelenmesi. A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- ÖZTÜRK, L., DEMİR, Y., 2001.** The Effects of Vinasse on Some Growth Parameters of Algae. Fresenius Environmental Bulletin, 10 (10): 766-771
- PROCHAZKOVA, D., SAIRAM, R.K., SRIVASTAVA, G.C., SINGH, D.V., 2001.** Oxidative Stres and Antioxidant Activity as The Basis of Senescence in Maize Leaves. Plant Science, 161:765-771
- QURINO, B.F., NOH, Y.S., HIMELBLAU, E., AMASINO, M.R., 2000.** Molecular Aspects of Leaf Senescence, Trends in Plant Science, 5 (7):278
- RANWALA, A.P., MILLER, W.B., 2000.** Preventive Mechanisms of Gibberellin4+7 and Light on Low-Temperature-Induced Leaf Senescence in *Lilium* cv. Stargazer. Postharvest Biology and Technology, 19 : 85-92
- ROSENVASSER, S., MAYAK, S., FRIEDMAN, H. 2006.** İnceleme in Reactive Oxygen Species (ROS) and in Senescence-Associated Gene Transcript (SAG) Levels during Dark-İnduced Senescence of *Pelargonium* cuttings, and the Effect of Gibberellic Acid. Plant Science,
- SACHER, J.A., 1967.** Control of Synthesis of RNA and Protein in Subcellular Fractions of *Rhoeo discolor* Leaf Sections by Auxin and Kinetin during Senescence.
- SAGLAM ÇAG, S., 1997.** *Helianthus annuus* L.'da Sırasal Yaprak Senesensinin Düzeni Üzerine Mineral Besinlerin ve Büyüme Regülatörlerinin Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul.
- SAIRAM, R.K., SINGH, D.V., SRIVASTAVA, G.C., 2003.** Changes in activities of Antioxidant Enzymes in Sunflower Leaves of Different Ages. Biologia Plantarum, 47(1):61-66
- VELİKOVA, V., YORDANOV, I., EDRAVA, A., 2000.** Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants. Protective Role of Exogenous Polyamines. Plant Science. 151: 59-66

- WEAVER, L.M., AMASINO, R.M., 2001.** Senescence Is Induced in Individually Darkened *Arabidopsis* Leaves, but Inhibited in Whole Darkened Plants, *Plant Physiol.*, 127, 876-886
- WINGLER, A., VON SCHAEWEN, A., LEEGOOD, R.C., LEA, P.J., QUICK, W.P., 1998.** Regulation of Leaf Senescence by Cytokinin, Sugars, and, Light, *Plant Physiol.* 116, 329–335

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Tokat ili Artova ilçesi Boyunpınar köyünde doğdu. İlköğrenimini Boyunpınar köyünde, lise öğrenimini Tokat Gaziosmanpaşa Lisesinde 1999 yılında tamamladı. 1999 yılında girdiği Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2003 yılında mezun oldu. Aynı yıl Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2004–2006 yılları arasında Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevliliği yaptı. Halen Sağlık Bakanlığı'nda Sağlık Eğitimi Genel Müdürlüğü'nde çalışmaktadır.