



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***Helianthus annuus* L. FİDELERİNDE BRASSİNOSTEROİDLER  
İLE SENESENS VE GRAVİTROPİZMA ARASINDAKİ  
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**Eda KAPLAN  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Botanik Programı**

**Danışman  
Yard.Doç.Dr. Serap Sağlam-Çağ**

**Haziran, 2005**

**İSTANBUL**

Bu çalışma 23/06/2005 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Botanik programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Yard.Doç.Dr. Serap SAĞLAM-ÇAĞ (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

Prof.Dr. Semahat YENTÜR  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

Prof.Dr. Orhan KÜÇÜKER  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

Prof.Dr. Memduh SERİN  
Marmara Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi

Doç.Dr. Muammer ÜNAL  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

## **ÖNSÖZ**

Yüksek lisansa başlamam için beni teşvik eden, yüksek lisans öğrenimim süresince tez ve diğer çalışmalarım sırasında benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok değerli hocam Yard. Doç. Dr. Serap SAĞLAM-ÇAĞ'a en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında, her türlü çalışma imkanlarını sağlayan Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Sayın Prof. Dr. Semahat YENTÜR'e, bilgilerini her zaman bizlerle paylaşmaya hazır olan kıymetli hocalarım Doç. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ, Doç. Dr. Muammer ÜNAL, Yard. Doç. Dr. Mine SARSAĞ ve Araş. Gör. Nadim YILMAZER'e, benden yardımlarını esirgemeyen mesai arkadaşlarım Araş. Gör. Elif AYTAMKA, Araş. Gör. Çiğdem ÇİNGİL, Araş. Gör. Sırrı YÜZBAŞIOĞLU, Araş. Gör. Taylan KÖSESAKAL'a,

Her zaman yanımda olan, sevgi ve desteklerini esirgemeyen çok sevgili AİLEM'E ve arkadaşım Fatih US'a çok teşekkür ederim.

**Haziran, 2005**

**Eda Kaplan**

T-325/03112003 numaralı tez projemi destekleyen ARAŞTIRMA PROJELERİ  
YÜRÜTÜCÜ SEKTERLİĞİ'NE ve tüm çalıŐanlarına teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	i
İÇİNDEKİLER .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ .....	vi
SEMBOL LİSTESİ .....	vii
ÖZET .....	viii
SUMMARY .....	ix
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR .....</b>	<b>3</b>
2.1. Senesensin Tanımı .....	3
2.2. Senesens Çeşitleri .....	6
2.3. Senesensin Düzenlenmesinde Etkili Olan İç ve Dış Faktörler .....	6
2.4. Senesens Sürecinde Meydana Gelen Yapısal ve Biyokimyasal Değişiklikler .....	7
2.4.1. Yapısal Değişiklikler .....	7
2.4.2. Biyokimyasal Değişiklikler .....	8
2.5. Senesens İle İlgili Hipotezler .....	10
2.5.1. Besin Boşalımı Hipotezi .....	10
2.5.2. Senesens Sinyali Hipotezi .....	11
2.6. Bitki Büyüme Regülatörlerinin Senesens Üzerine Etkisi .....	12
2.7. Brassinosteroidlerin Tanımı .....	13
2.8. Gravitropizmanın Tanımı .....	19
2.9. Brassinosteroidlerin Senesens ve Gravitropizma Üzerine Etkileri .....	20
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>	<b>23</b>
3.1. Bitkisel Materyal .....	23
3.2. Fidelerin Yetiştirilmesi .....	23
3.3. Fidelerin Horizontal Konuma Getirilmesi .....	24

3.4. Bitkilere Epibrassinolid Uygulanması .....	24
3.5. Senesens Derecesinin Tayini .....	24
3.6. Total Klorofil Miktarının Tayini .....	26
3.7. Çözünebilir Total Protein Miktarının Tayini .....	26
3.8. Peroksidaz Aktivitesinin Spektrofotometrik Tayini .....	27
3.9. İstatistiksel Hesaplamalar .....	27
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>28</b>
4.1. Kotiledonlarda Senesens Derecesinin Saptanması .....	28
4.2. Kotiledonlarda Meydana Gelen Senesensin Çeşitli Aşamalarını Gösteren Plastokron İndeks .....	28
4.3. Taze Ağırlık Miktarındaki Değişimler .....	30
4.4. Total Klorofil Miktarındaki Değişiklikler .....	33
4.5. Çözünebilir Total Protein Miktarındaki Değişiklikler .....	37
4.6. Peroksidaz Aktivitesindeki Değişiklikler .....	40
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>43</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>49</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>66</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	: Brassinolidin kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.2	: Brassinolidin biyosentez yolu .....	16
Şekil 3.1	: <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki senesens derecesinin yeşil alan % si cinsinden belirtilmesi (Plastoron indeksi).....	25
Şekil 4.1	: <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin çeşitli aşamalarını gösteren Plastokron İndeksin, deney bitkilerinin kotiledonlarındaki total klorofil ve total protein miktarları ile peroksidaz aktivitelerinin karşılaştırılması.....	29
Şekil 4.2	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık miktarlarının karşılaştırılması.....	31
Şekil 4.3	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık miktarlarının karşılaştırılması .....	32
Şekil 4.4	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarlarının karşılaştırılması .....	33
Şekil 4.5	: eBL ve eBL+TIBA uygulanan vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kontrol grubundaki kotiledonların ortalama yeşil alan % si 50 olduğu anda kotiledonlarının senesens derecelerini gösteren fotoğraf.....	34
Şekil 4.6	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarlarının karşılaştırılması.....	35
Şekil 4.7	: Vertikal kontrol grubundaki fidelerin kotiledonlarının ortalama yeşil alan % si 50 olduğu anda, horizontal konumdaki eBL ve eBL+TIBA uygulanmış fidelerin kotiledonlarının senesens derecelerini gösteren fotoğraf.....	36
Şekil 4.8	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması .....	37
Şekil 4.9	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması.....	39
Şekil 4.10	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitelerinin değişimi .....	40
Şekil 4.11	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitelerinin değişimi .....	41

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 4.1</b>	: <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin çeşitli aşamalarını gösteren Plastokron İndeksin, kotiledonlardaki total klorofil ve total protein miktarları ile peroksidaz aktiviteleri.....	<b>29</b>
<b>Tablo 4.2</b>	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık değişimi .....	<b>30</b>
<b>Tablo 4.3</b>	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık değişimi .....	<b>31</b>
<b>Tablo 4.4</b>	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarının değişimi.....	<b>33</b>
<b>Tablo 4.5</b>	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarının değişimi .....	<b>34</b>
<b>Tablo 4.6</b>	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarının değişimi .....	<b>37</b>
<b>Tablo 4.7</b>	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarının değişimi .....	<b>38</b>
<b>Tablo 4.8</b>	: Vertikal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi .....	<b>40</b>
<b>Tablo 4.9</b>	: Horizontal konumda, $10^{-9}$ M, $10^{-11}$ M eBL ve $10^{-9}$ M eBL+TIBA, $10^{-11}$ M eBL+TIBA uygulanan <i>Helianthus annuus</i> fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi.....	<b>41</b>

## SEMBOL LİSTESİ

<b>ABA</b>	: Absisik Asit
<b>BL</b>	: Brassinolid
<b>BR</b>	: Brassinosteroid
<b>CS</b>	: Kastasteron
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>eBL</b>	: Epibrassinolid
<b>GA</b>	: Gibberellik Asit
<b>H</b>	: Horizontal
<b>HBR</b>	: 28-homobrassinolid
<b>IAA</b>	: İndol Asetik Asit
<b>JA</b>	: Jasmonik Asit
<b>M</b>	: Molar
<b>PHÖ</b>	: Programlanmış Hücre Ölümü
<b>POD</b>	: Peroksidaz
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>RNaz</b>	: Ribo Nükleaz
<b>SAG</b>	: Senesens ile İlişkili Genler
<b>TIBA</b>	: 2,3,5-triiodobenzoik asit
<b>V</b>	: Vertikal
<b>24-eBL</b>	: 24-epibrassinolid

## ÖZET

### ***Helianthus annuus* L. FİDELERİNDE BRASSİNOSTEROİDLER İLE SENESENS VE GRAVİTROPİZMA ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Bu çalışmada epigeik çimlenme gösteren, vertikal ve horizontal konumdaki *Helianthus annuus* L. fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesens üzerine epibrassinolid (eBL) in etkisi incelenmiştir.

14 günlük fidelere  $10^{-9}$  M ile  $10^{-11}$  M eBL ve oksin taşınma inhibitörü olan 2,3,5-triiodobenzoik asit (TIBA) çözeltileri püskürtüldükten sonra, 15. günde kontrol (hiç püskürtme yapılmamış) ve deney (püskürtme yapılmış) grubu bitkilerinin bir kısmı yan yatırılıp horizontal (yatay) konuma getirilerek bu bitkilerin kotiledonlarının senesens süreci takip edilmiştir. eBL in (özellikle  $10^{-9}$  M nin) vertikal ve horizontal konumdaki bitkilerde senesensi teşvik ettiği, TIBA ile birlikte uygulanması halinde ise özellikle horizontal konumdaki bitkilerin alt kotiledonlarında senesensin geciktiği gözlenmiştir. Görsel olarak izlenebilen bu sonuçlar total klorofil ve protein içerikleri ile peroksidaz aktivitesi ölçülerek desteklenmiştir. Oksin ile sinerjistik çalıştığı bilinen brassinosteroidlerin, TIBA (oksin taşınma inhibitörü) ile beraber uygulanması durumunda senesens üzerine tek başına etki etmeyip ancak oksin varlığında senesensi hızlandırdığı, yatay durumda bırakılan fidelerin gövdelerinde yerçekimi etkisiyle asimetric dağılım gösteren ve alt kotiledonda daha fazla biriken oksinin eBL ile birlikte senesensi hızlandırdığı tartışılmıştır.

Bu araştırmada, vertikal (dik) ve horizontal (yatay) durumda bırakılan fidelerde, eBL ve oksinin birlikte senesens sinyali gibi davranabileceği, alt kotiledonun üst kotiledondan önce ölmesinin asimetric oksin dağılımından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF RELATIONSHIP BETWEEN SENESCENCE AND GRAVITROPISM WITH BRASSINOSTEROIDS IN *Helianthus annuus* L. SEEDLINGS

This study examined the effect of epibrassinolid (eBL) on senescence occurring in cotyledons of *Helianthus annuus* L. seedlings of epigeic germination, which were kept in vertical and horizontal positions.

$10^{-9}$  M and  $10^{-11}$  M eBL and 2,3,5-triodobenzoic acid (TIBA), an inhibitor of auxin transport, were sprayed to the 14 days old seedlings. From the 15th day on, some of the seedlings from the intact (not treated) and the experimental (treated) groups were kept in a horizontal position, and senescence process of the cotyledons of these seedlings were observed. eBL (especially  $10^{-9}$  M of it) was found to have induced senescence both in horizontally and vertically positioned plants. When it was applied with TIBA, a marked delay of senescence was noted in the lower cotyledons of the horizontally positioned plants. These observations were confirmed by measuring total chlorophyll and protein amounts and peroxidase activity. In case brassinosteroids known to act with auxin synergically are applied with TIBA, they do not affect senescence, implying that they accelerate senescence in the presence of auxin. Since auxin is distributed asymmetrically with gravity, eBL and auxin accumulated in the lower cotyledons may lead to accelerated senescence.

One may think in this study that eBL and auxin may act as a senescence signal in the vertically and horizontally positioned seedlings, and earlier death of the lower cotyledons than the upper ones may be resulted from asymmetrical auxin distribution.

## 1. GİRİŞ

Senesens, bitkilerin doğal gelişim sürecinde meydana gelen, dramatik yıkımlara neden olan ve bitkinin ölümüyle sonuçlanan fizyolojik bir olaydır. İç ve dış faktörlerin neden olduğu senesensin mekanizması henüz aydınlatılamamıştır, ancak son yıllarda yapılan yoğun araştırmalar sonucunda önemli ipuçları elde edilmeye başlanmıştır. Bitki hormonlarının senesens üzerine etkileri sıkça çalışılmaktadır. Brassinosteroidler, birçok araştırmacı tarafından steroid yapıda yeni bir bitki hormonu olarak kabul edildiği için üzerinde çalışılması gereken maddelerdir.

Tezin konusu; vertikal (dik) ve horizontal (yatay) konumda bırakılan bitkilerde sırasal yaprak senesensi üzerine brassinosteroidlerin etkisinin incelenmesidir. Farklı konsantrasyonlar kullanılarak ( $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M) eksojen olarak ayrı ayrı ve TIBA (2,3,5-triiodobenzoik asit) ile birlikte uygulanan epibrassinolid (eBL) çözeltisinin senesensi hızlandırıcı ya da geciktirici etkileri irdelenmiştir. Bu araştırma, birçok araştırmacı tarafından oksin ile sinerjistik çalıştığı bildirilen brassinosteroidlerin (eBL nin), hem vertikal, hem de horizontal *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarında senesensi teşvik ettiğini, bu etkisini ancak oksin varlığında gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur. Senesensin geciktirilerek meyva veriminin artırılması, ziraatte kullanımda ekonomik olarak yarar sağlaması bakımından oldukça önemlidir.

Bu araştırmada, *Helianthus annuus* L. (ayçiçeği) fidelerinin tüm kısımlarına eBL ya tek başına ya da TIBA ile beraber püskürtülmüş ve fidelerin bir kısmı yan yatırılmış, gravitropizma ile ilişkisi incelenmiştir. Vertikal ve horizontal konumda bırakılan, püskürtme yapılan bitkiler deney grubu, hiç püskürtme yapılmayan bitkiler ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Deney bitkilerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin hızı kontrol bitkileri ile kıyaslanarak takip edilmiş, senesens parametreleri olarak kotiledonlardaki total klorofil ve protein miktarları ile peroksidaz aktiviteleri tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, brassinosteroidlerin senesens üzerine etkisini incelemek, mekanizması hakkında aydınlatıcı bilgiler elde etmektir.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. SENESENSİN TANIMI

Senesens, bitkilerde görülen, içsel olarak düzenlenen ve bitkinin yaşam döngüsü boyunca hücrelerin, organların ya da tüm bitkinin ölümüne sebep olan düzenli bir yıkım sürecidir (Noodén ve Penney, 2001).

Birbirini takip eden bir dizi fizyolojik, biyokimyasal ve yapısal değişiklikleri içeren senesens süreci, makromoleküllerin (RNA, protein ve lipidler) ve klorofillerin yıkımına, karbon asimilasyonu ile ilgili işlevlerin azalmasına sebep olmaktadır (Buchanan-Wollaston, 1997; Gan ve Amasino, 1997; Noodén ve diğ., 1997; Ansari ve diğ., 2005). Senesens sırasında yaprak hücrelerinin yapısında, metabolizmasında (Noodén ve Leopold, 1978; Thomas ve Stoddart, 1980) ve gen anlatımında (Lohman ve diğ., 1994) meydana gelen bir takım değişiklikler sonucunda fotosentetik kapasitede belirgin bir azalma görülmektedir (Thomas ve Stoddart, 1980). Bu değişikliklerin en dikkat çekicisi, kloroplastlardaki fotosentetik aparatların dağılmasıdır. Bu nedenle fotosentetik aktivite azalmaktadır (Woolhouse, 1984; Grover ve Mohanty, 1992).

Senesens geçiren yapraklarda hücre bileşenlerinin yıkım ürünlerinin, daha genç organlara ya da reproduktif yapılara besin olarak taşınması (Himelblau ve Amasino, 2001) yaprak senesensinin sadece ölüme yol açan pasif bir süreçten ibaret olmadığını, bitki yaşamı için gerekli olan aktif bir süreç olduğunu göstermektedir (Yoshida, 2003). Senesens yaşa bağlı olarak ilerlemesine rağmen bir yaşlanma süreci değildir. İçsel ve dışsal sinyaller tarafından kontrol edilen bir olaydır ve bu sinyallerin değişmesi ile geciktirilebilmekte ya da hızlandırılabilir (Noodén, 1997). Buna karşın dış etkenler tarafından geciktirilmesi mümkün olmayan yaşlanma süreci (Guarente ve diğ., 1998), yaş ile birlikte gelişen doku bozukluklarının pasif bir şekilde birikimidir. Yaşlanma, depolama süresince tohumların canlılığının dereceli olarak kaybı şeklinde de tanımlanabilmektedir (Noodén ve Leopold, 1978; Priestley, 1986; Roberts, 1988). Bu

nedenle günümüzde senesens ve yaşlanma, farklı fizyolojik başlıklar altında incelenmektedir.

Srivastava (2002) senesensi, büyüme ve reproduksiyon gibi bitki gelişiminin normal bir evresi olarak tanımlamakta; genetik program tarafından belirlendiğini ve bitkinin tüm kısımlarında görüldüğünü ifade etmektedir. Bitkiler sıcaklık, kuraklık, azot eksikliği, yetersiz ışık, hastalık ve patojen saldırıları içeren elverişsiz çevre koşullarına yaprak senesensi ve absisyonu, erken tohum gelişimi ve hayat sürecinin azalması gibi değişikliklerle cevap vermektedir (He ve Gan, 2002; Srivastava, 2002). Bu değişikliklerin doğal olarak programlanmış senesensten farkı, büyüme koşulları uygun hale getirildiğinde tersine dönebilecek olmasıdır. Buna karşın gelişimsel programın bir kısmı olan doğal senesens, en uygun çevre koşullarında bile oluşmaktadır. Smart (1994) ile Gan ve Amasino (1997) da, senesens sürecini çeşitli içsel ve çevresel faktörlerin düzenlediği kontrol mekanizması ile özel bir genetik programın uygulanmasına bağlamaktadır.

Monokarpik bitkilerde genellikle tek bir reproduktif faz ölümle sonuçlandığı için reproduktif gelişimi geciktiren faktörler senesensi erteleyebilmektedir (Noodén ve Leopold, 1988). Monokarpik bitkiler arasında senesensin kontrol edilmesi, genellikle reproduktif yapılar tarafından gerçekleşmesine rağmen bu durum monokarpik bitkilerin tümünde meydana gelmeyebilir. Örneğin, yaprağın yaşam süresi gelişen reproduktif yapılar tarafından kontrol edilmediği için *Arabidopsis* bu yönü ile diğer monokarpik bitkilerden farklıdır (Noodén ve Penney, 2001). Oysa buğday gibi monokarpik türlerde hücrede en bol bulunan protein olan ribuloz 1,5 bifosfat karboksilaz/oksijenaz (rubisko) içeriğindeki ve total çözülebilir proteinlerdeki kayıp, tohum gelişiminin başlangıç döneminde çok hızlıdır (Srivalli ve Khanna-Chopra, 1998; Khanna-Chopra ve diğ., 1999).

Genetik olarak düzenlenen senesens, programlanmış bir şekilde klorofil ve proteinlerin azalması ile fotosentetik aktivitenin durmasını kapsadığı (Buchanan-Wollaston ve Ainsworth, 1997) için programlanmış hücre ölümü (PHÖ) olgusu olarak kabul edilmektedir (Gan ve Amasino, 1995; Pennel ve Lamb, 1997; Quirino ve diğ., 2000; Srivalli ve Khanna-Chopra, 2001; Thomas ve diğ., 2003; Zentgraf ve diğ., 2004).

Senesens süreci, genellikle belirli bir yer ile sınırlı olan ve hızlı hücre ölümü gösteren PHÖ nün diğer tiplerinden daha yavaş meydana gelmektedir. Bu süreç içinde gerçekleşen hücre ölümü; yapraklar, petaller ve meyvalar gibi bitki organlarında ve tüm bitkide gözlenmektedir (Lim ve diğ., 2003). Ksilogenez, embriyogenez, absiyon zonunun oluşumu ve patojen infeksiyonlara karşı aşırı duyarlılık PHÖ ile kontrol edilen diğer olaylardır (Greenberg, 1996; Jones ve Dangl, 1996).

Son yıllarda senesens süresince anlatımları düzenlenen çok sayıda gen bulunmuştur (Buchanan-Wollaston, 1997; Nam, 1997). “Senesens ile ilişkili genler (SAGs)” olarak adlandırılan bu genler, çeşitli bitki türlerinden izole edilmiştir (Buchanan-Wollaston, 1997; Biswal ve Biswal, 1999; Ansari ve diğ., 2005).

Bir grup araştırmacı yaprak senesensinin başlangıç, yıkım ve terminal olmak üzere üç aşamadan meydana geldiğini ifade etmektedir (Yoshida, 2003). Başlangıç mekanizmaları farklı koşullarda değişebilmektedir. Senesens programı tetiklenir tetiklenmez, hücrenel bileşenlerin yıkımı başlamaktadır. Proteolitik sürecin yaprak senesensi boyunca aktive edildiği bilinmektedir (Belknap ve Garbarino, 1996; Noodén ve diğ., 1997). Hızlı katabolik reaksiyonlar yıkım aşamasında meydana gelmektedir. Terminal aşama ise, hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Bu aşamada meydana gelen değişiklikler göz önüne alındığında, senesensin hayvanlarda görülen apoptosise benzer hücre ölümü sürecini kapsadığı ifade edilmektedir (Delorme ve diğ., 2000; Simeonova ve diğ., 2000).

Diğer bir grup araştırmacı ise, senesensin iki aşamadan meydana geldiği sonucuna varmıştır (Buchanan-Wollaston ve diğ., 2003). Bu araştırmacılara göre, geri dönüşümü olabilen ilk aşamada tüm hücreler varlığını sürdürebilmektedir. İkinci aşama ise, hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır. *Arabidopsis* ve diğer birçok monokarpik bitki ikinci aşamada iken, yaprakları görünüşte kahverengi ve kurumuştur. Diğer türler ise, (örneğin, yaprağını döken ağaçlar) bu aşamaya ulaşmadan önce yapraklarını dökülebilmektedir. Bu durum “PHÖ senesens sürecinin bir parçası mıdır?” sorusunu akla getirebilmektedir.

Senesens süreci, çok sayıda genin anlatımına sebep olan ani metabolik ve fizyolojik değişiklikler ile birlikte ilerlemektedir (Gan ve Amasino, 1997; Yoshida, 2003). Yaprak senesensinin teşvik edilmesini ve ilerlemesini düzenleyen mekanizma çok karmaşık olduğu için tam olarak aydınlatılamamıştır (Yoshida, 2003).

## **2.2. SENESENS ÇEŞİTLERİ**

Senesens, Leopold (1961) tarafından yapılan en klasik gruplandırmaya göre dörde ayrılmıştır: 1- Genellikle sonbaharda yapraklarını döken ağaçlarda meydana gelen “mevsimsel yaprak senesensi”, 2- Çoğunlukla otsu bitkilerde görülen ve sadece gövdenin ölümüne sebep olan “gövde (top) senesensi”, 3- Ömrü boyunca bir kez çiçek açan ve meyva veren (monokarpik) bitkilerde görülen, tohum hariç tüm bitkinin ölümüne sebep olan “monokarpik senesens”, 4- En yaşlısından başlayarak yaprakların sıra ile ölmesine sebep olan “sırasal (sequential, progressive) yaprak senesensi” dir.

## **2.3. SENESENSİN DÜZENLENMESİNDE ETKİLİ OLAN İÇ VE DIŞ FAKTÖRLER**

Senesens süreci, çeşitli iç ve dış faktörler tarafından kontrol edilen metabolik olaylar zinciridir (Nam, 1997). Senesensi etkileyen iç faktörler; yaş, reproduktif gelişim ve fitohormon düzeyindeki değişiklikleri içermektedir (Gan ve Amasino, 1997; Ansari ve diğ., 2005). Bunun yanısıra, gelişimsel bir süreç olan senesens çevresel koşullar tarafından teşvik edilerek daha erken meydana gelebilmektedir. Bitkilerde erken senesense sebep olan çevresel koşullar arasında ozon ya da ultraviyole tarafından teşvik edilen oksidatif stres, patojen infeksiyonu, ısı artışı, yaralanma, ışık şiddetindeki değişiklikler ve besin ya da su stresi yer almaktadır (Noodén ve diğ.,1997; Gan ve Amasino, 1997; Bleecker ve Patterson, 1997; Buchanan-Wollaston ve diğ., 2003). Bu koşullar arasındaki su ve besin (özellikle azot) yetersizliği, pek çok ekosistemde bitki yaşamını olumsuz yönde etkileyen başlıca dış faktörlerdir (Gan ve Amasino, 1997).

Yaprak senesensi genetik olarak düzenlenen bir süreç olmasına rağmen ayçiçeği ile yapılan bir çalışmada, çevresel ve içsel faktörlerin yaprak senesensinin başlangıcını ve hızını etkilediği belirtilmektedir (Cevahir, 1992; Sadras ve diğ., 2000).

## 2.4. SENESENS SÜRECİNDE MEYDANA GELEN YAPISAL VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER

### 2.4.1. Yapısal Değişiklikler

Bitkilerde bir gelişim aşaması olan senesens, ani renk değişiklikleri ile net bir şekilde izlenmektedir. Ağaçlardaki ve diğer çok yıllık bitkilerdeki yeşil yapraklar sarı, turuncu rengine döndükten sonra kahverengine bürünerek yaprağın ölümü ya da absisyonu gerçekleşmektedir (Buchanan-Wollaston ve diğ., 2003).

Senesens sürecinde hücre yapısında görülen en erken ve önemli değişim, yaprak proteinlerinin %70 inden fazlasını içeren kloroplastın yıkımıdır (Gan ve Amasino, 1997; Srivastava, 2002). Gen transkripsiyonu için gerekli olan nukleus ve enerji temini için ihtiyaç duyulan mitokondri ise, hücrede meydana gelen otolitik değişikliklerden etkilenmeden senesens sürecinin en son aşamasına kadar kalmaktadır (Smart, 1994; Noodén ve Guisardis, 1996; Gan ve Amasino, 1997). Peroksizomlar gibi diğer organeller, biyokimyasal değişimler için gereklidir (Vicentini ve diğ., 1993). *Pisum sativum* L.' de yapılan bir çalışmada, karanlık tarafından teşvik edilen senesens sırasında mitokondrilerin ve yaprak peroksizomlarının sayısının arttığı rapor edilmiştir (Pastori ve Del Rio, 1994; Del Rio, 2003). Senesensin erken evresinde endoplazmik retikulum sayısının da azaldığı gözlenmiştir (Van Doorn, 2004).

Senesens sırasında hücre membranlarının yapısal ve işlevsel bütünlüğünde (Thompson ve diğ., 1998), bunun yanısıra hücrelerin sitoplazmik hacminde ve sitoplazmik ribozomlarının sayısında azalma görülmektedir (Bleecker ve Patterson, 1997). Yaprak senesensinin son aşamasında yapraklar hemen hemen tümüyle sarıya döndüğünde, DNA'nın ipliksi yapısının bozulması ve kromatin yoğunlaşması gözlenmektedir (Delorme ve diğ., 2000; Simeonova ve diğ., 2000).

Ayrıca birçok türde izlenen yaprak senesensinde, vaskular sistem etrafındaki dokuların besinlerin taşınmasında gerekli olmaları nedeni ile senesense en son uğrayan kısımlar oldukları gözlenmiştir (Gan ve Amasino, 1997).

### 2.4.2. Biyokimyasal Değişiklikler

Bitkilerdeki en önemli fotosentetik organ yapraktır (Quirino ve diğ., 2000; Yoshida, 2003). Yaprak hücreleri verimli bir fotosentetik periyottan sonra senesens safhasına girmektedir (Quirino ve diğ., 2000). Metabolik değişiklikler, fotosentetik aktivite kaybını ve büyüme süresince birikmiş olan makromoleküllerin hidrolizini içermektedir.

Senesense uğrayan yapraklarda klorofil yıkımının sebep olduğu yaprak sararması, senesensin gözlenebilen ilk semptomudur (Buchanan-Wollaston ve diğ., 2003). Klorofil yıkımına bağlı olarak fotosentez hızı azalmaktadır (Biswal ve Biswal, 1999; Srivastava, 2002; He ve diğ., 2005). Hörtensteiner ve Feller (2002), senesens süresince klorofil ve protein yıkımının aşamalarını saptamıştır. Klorofilin yıkım yolu, Matile ve diğ. (1999) tarafından açıklanarak bu yoldaki çok sayıda gen klonlanmıştır. Ancak senesens süresince bu genlerin hiçbirinde artan bir anlatım gözlenmemiştir (Takamiya ve diğ., 2000). Bunun yanında yapılan genetik çalışmalar, fotosentez ile ilişkili genlerin genel özelliklerini taşıyan ve senesens boyunca anlatımı azalan genleri de tanımlamaktadır (Hensel ve diğ., 1993).

Senesens sırasında klorofil ve total çözünür proteinler yıkılmakta ve proteolitik aktivite artmaktadır (Borrell ve diğ., 2000; Reyes-Arribas ve diğ., 2001). *Arabidopsis* ile yapılan çalışmalar, senesens geçiren dokularda rRNA ve proteinlerin azaldığını göstermektedir (Hensel ve diğ., 1993; Lohman ve diğ., 1994). Protein ve RNA yıkımı, fotosentetik aktivitenin kaybı ile paralellik göstermektedir (Buchanan-Wollaston, 2003). Ribuloz bifosfat karboksilaz ve klorofil a/b bağlayıcı proteinleri gibi kloroplastlarla ilişkili proteinlerin artan kaybı, kloroplastların membran yapısındaki bozulma ile bağlantılıdır (Bate ve diğ., 1990). Yaprak senesensi boyunca fotosentetik aktivitedeki azalmaya sebep olan anahtar olay, rubisko kaybı ile ilişkilidir (Crafts-Brandner ve diğ., 1990; Grover, 1993). Ayrıca yaprak senesensi esnasında gliksalat devri aktivitesindeki (DeBellis ve diğ., 1990; Graham ve diğ., 1992), amino asit metabolizmasındaki (Kamachi ve diğ., 1992) ve RNaz aktivitesindeki (Taylor ve diğ., 1993) artışlar rapor edilmiştir.

Lipid yıkımı senesens süresince teşvik edilmektedir (Thompson ve diğ., 1998). Fosfolipaz D, fosfatidik asit fosfataz, litik açıl hidrolaz ve lipoksigenaz gibi lipolitik

enzimlerin aktivitesinde artışlar saptanmış ve bu enzimleri kodlayan belli genlerin senesensi teşvik edici anlatım gösterdiği ifade edilmiştir (Thompson ve diğ., 1998; He ve Gan, 2002). Lipidlerin yıkım ürünleri, floemde taşınan sukrozun senesens geçiren yapraklardan genç yapraklara lokalize olması için metabolize olmaktadır (Thompson ve diğ., 1998, Kaup ve diğ., 2002).

Senesens sırasında artan enzimlerin birçoğu yıkım ürünlerini metabolize etmekte ve taşınabilir formlara dönüştürmektedir. Senesens süresince nükleik asitlerin yıkımında rol oynayan birkaç farklı nükleazı kodlayan genlerin, senesensi arttırıcı anlatım yaptıkları rapor edilmiştir. Total RNA düzeyi senesensin ilerlemesiyle birlikte hızla düşerken, nükleer DNA bu sürecin devamı için senesensin sonuna kadar gen anlatımına izin vermektedir (Buchanan-Wollaston, 2003). Senesens, süper oksit radikalleri, hidroksil radikalleri, tek oksijen ve hidrojen peroksit gibi aktive olmuş oksijen türlerindeki genel artış ile karakterize edilmektedir. Aktive olmuş oksijen türleri, lipid peroksidasyonuna ve membran yıkımına katılmaktadır (Thompson ve diğ., 1987; Pastori ve Del Rio, 1997). *Arabidopsis*, domates, mısır, tütün, patates, fasulye gibi çeşitli bitki türleri ile yapılan çalışmalarda, yaprak senesensi sırasında miktarları artan genler izole edilmiş ve bu genlerin proteinaz, nükleaz, lipaz, klorofillaz gibi yıkıcı enzimler ile glutamat sentetaz gibi azot taşıyan enzimleri sentez ettiği bulunmuştur (He ve Gan, 2002). Ayrıca senesensi arttıran bazı proteazların vakuolde biriktikleri ve senesensin geç evrelerinde aktif bir enzim üretmek için yavaş yavaş işlev kazandıkları bilinmektedir (Yamada ve diğ., 2001). Bununla birlikte senesense uğrayan birçok dokuda proteaz aktivitesinin arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Palavan-Ünsal ve diğ., 2002; Çağ ve diğ., 2004).

Transgenik bitkilerin yapraklarında, senesens sürecinde meydana gelen klorofil ve protein yıkımı ile fotosentetik aktivite kaybının geciktiği gözlenmiştir (Wingler ve diğ., 1998).

Yaprak hücrelerinin bileşiminde bulunan K, Mo, Cu ve Fe gibi metal iyonları büyük olasılıkla senesens sırasında yapraklardan taşınmaktadır (Buchanan-Wolleston, 2003). Himmelblau ve Amasino (2001), *Arabidopsis* yapraklarında besin hareketini analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda ölçülen birçok bileşimin düzeyleri (Mo, Cr, S, Fe, Cu,

Zn) yeşil yapraklarla karşılaştırıldığında, senesens geçirmiş yapraklarda %50 nin üzerinde azalma olduğu gözlenmiştir. N, P, K gibi önemli besinlerin düzeyleri de en az %80 oranında düşüş göstermektedir.

## **2.5. SENESENS İLE İLGİLİ HİPOTEZLER**

Bitkilerin yeşil yaprakları büyüme ve gelişmeleri süresince besinlerle dolu bir organdır. Bitki artık yaprağa ihtiyaç duymadığında senesens süreci teşvik edilmekte ve tüm taşınabilir besinlerin hareketi meydana gelmektedir. Bu sürecin son döneminde ise yaprak ölmektedir. Yaprak ölümü, senesens gelişim süreci içinde tüm besinler taşınana kadar aktif olarak geciktirilmektedir (Buchanan-Wollaston, 2003).

Birçok tek yıllık türde senesens programına giren yaprakların sayısı, çiçeklenme ve tohum gelişimi sırasında artmaktadır. Böylece yapraklarda (source) asimile olmuş besinlerin, gelecek nesiller için gelişen tohumlar (sink) da depo edilmesi ve taşınmasına izin verilmektedir (Hayati ve diğ., 1995; Buchanan-Wollaston, 1997). Bu süreçten genellikle yaprak senesensinin “korelatif kontrolü” olarak bahsedilmektedir. Hayati ve diğ. (1995) senesens sürecini açıklayan 2 olgudan bahsetmektedir: 1. Reprodüktif dokular tarafından kuvvetli bir şekilde azot talep edilmesi senesense sebep olmaktadır. 2. Reprodüktif dokular senesens sürecini başlatmak için yapraklara taşınan bir senesens hormonu üretmektedir. Fakat, yaprak senesensinin korelatif kontrolündeki moleküler mekanizma hakkında çok az bilgi vardır. Bu hipotezlerden ilki “Besin Boşalımı Hipotezi”, ikincisi ise “Senesens Sinyali Hipotezi” olarak adlandırılmaktadır.

### **2.5.1. Besin Boşalımı Hipotezi**

Senesens sırasında hücrelerdeki makromoleküllerin yıkılarak başka organlara taşınması ve bu maddelerin başka hücrelerce besin olarak kullanılmasını göz önüne alan araştırmacılar hücre içeriğinin boşalmasını senesensin nedeni olarak yorumlamıştır (Kawakami ve Watanabe, 1988; Noodén ve Leopold, 1988). Monokarpik bitkilerde, tohumlar gelişirken vegetatif organlardan tohumlara doğru madde taşınması bu hipotezi destekler niteliktedir (Williams, 1955; Blomquist ve Kust, 1971; Derman ve diğ., 1978). Ancak genetik programlamayı destekleyen çalışmaların artması ile besin yetersizliğinin

senesens mekanizmasının açıklanmasında esas olmadığına işaret edilmektedir (Noodén ve diğ., 1997).

### 2.5.2. Senesens Sinyali Hipotezi

Senesens sürecinde meydana gelen dikkat çekici değişikliklerden biri, fotosentez hızının ani azalmasıdır (Jiang ve diğ., 1993). Bu konu ile ilgili yapılan son araştırmalar, yapraklardaki şeker birikiminin fotosentez ile ilgili bazı genlerin anlatımını durdurduğunu göstermiştir (Jang ve diğ., 1997; Gan ve Amasino, 1997; Quirino ve diğ., 2000). Bazı araştırmacılar, fotosentetik aktivite azalmasının senesensi teşvik edici sinyal olarak rol aldığını düşünmektedir (Smart, 1994; Bleecker ve Patterson, 1997). Nitekim, şekerlerin senesensi de içine alan çeşitli bitki gelişim evreleri süresince sinyal moleküller olarak görev aldıkları saptanmıştır (Rolland ve diğ., 2002). Son yıllarda yapılan fizyolojik ve genetik analizler, artan şeker konsantrasyonunun ya da şeker sinyallerinin yaprak senesensini arttırdığını göstermektedir. *Arabidopsis* ve diğer bitki türlerinin senesens geçiren yapraklarında artan şeker düzeyi rapor edilmiştir (Noodén ve diğ., 1997; Quirino ve diğ., 2001; Stessman ve diğ., 2002). Benzer şekilde senesensin başlangıcında tütün yapraklarında şekerlerin biriktiği gözlenmiştir (Masclaux ve diğ., 2000). Doğal koşullarda şekerlerin yaprak senesensini nasıl teşvik ettiği henüz tam olarak açıklanamamıştır (Noodén ve diğ., 1997; Yoshida, 2003). Bir grup araştırmacı ise, yaprak senesensinin ilk belirlenen özelliklerinden biri fotosentezin azalması olduğu için yapraklardaki azalan şeker konsantrasyonunun senesens programını tetiklediği fikrini öne sürmüşlerdir (Noh ve Amasino, 1999; Quirino ve diğ., 2000; Fujiki ve diğ., 2001).

Yaprak senesensi sürecinde organ-organ ilişkisinde aracı olan ve henüz tam olarak bilinmeyen sistemik sinyaller olduğu da düşünülmektedir. Bir grup araştırmacıya göre, gelişmekte olan organlar (meyvalar, tohumlar ve apikal meristem dokusu) tarafından üretilen bir sinyal, hedef hücrelere taşınarak senesensin meydana gelmesine neden olmaktadır (Okatan ve diğ., 1981; Noodén ve Murray, 1982). Monokarpik bitkilerde tohumların olgunlaşması esnasında senesensin meydana gelmesi, tohumların koparılmasıyla senesensin engellenmesi senesens sinyali hipotezini destekleyen bir olaydır (Lindoo ve Noodén, 1977; Okatan ve diğ., 1981; Noodén ve Leopold, 1988). Yapılan araştırmalar sinyal hipotezinin geçerliliğini ortaya koysa da yaprak senesensi

programı, gen anlatımındaki değişiklikler ile birlikte yürümektedir (Gan ve Amasino, 1997).

## 2.6. BİTKİ BÜYÜME REGÜLATÖRLERİNİN SENESENS ÜZERİNE ETKİSİ

Bütünüyle çok karmaşık olan senesens sürecindeki değişimlerin zamanlaması, hormon uygulaması ile geri dönüşümlü olarak kontrol edilebilmektedir (Bleecker ve Patterson, 1997). Bitki hormonlarının beş önemli sınıfının (oksinler, sitokininler, gibberellinler, absisik asit ve etilen) ve jasmonatlar gibi diğer bitki büyüme regülatörlerinin senesensin düzenlenmesinde rol oynadıkları bilinmektedir. Oksinler, sitokininler ve gibberellinler (GA) senesensi inhibe ederken, absisik asit (ABA) ve etilen senesensi arttırmaktadır (Smart, 1994; Gan ve Amasino, 1996).

Sitokininler, senesensin kontrolünde rol oynamaktadır (Noodén ve Letham, 1993; Nam, 1997). Senesens geçiren yapraklardaki sitokinin düzeyinde azalma görülmekte ve dışarıdan sitokinin uygulaması ile senesens genellikle gecikmektedir (Woolhouse, 1983; Noodén ve Leopold, 1988; Gan ve Amasino, 1995). Diğer yandan, *Arabidopsis*'te intakt yapraklara sitokinin uygulaması, yaprak senesensinin meydana gelişinde fazla etkili olmamıştır (Bleecker ve Patterson, 1997). Yaprak senesensini geciktiren sitokininler senesensin meydana gelmesini engelleyememektedir (Srivastava, 2002). Senesens sırasında ya da öncesinde, gibberellin düzeyleri azalmaktadır. Gibberellinler yapraklar, meyva ve çiçek saplarında klorofil kaybını engelleme yeteneğine sahiptirler (Arteca, 1996). *Trapeolum majus* (latin çiçeği) ve *Alstromeria hybrida* (alstromerya)'ya eksojen olarak uygulanan GA, yaprak senesensini ertelemiştir (Beevers ve Guernsey, 1967; Kappers ve diğ., 1998). Oksinler bazı bitki dokularında senesensi geciktirebilmekte ya da etki etmeden kalabilmektedir (Arteca, 1996). *Pisum*'da yapılan bir çalışma ile senesens sırasında oksinlerin üretiminde bir artış meydana gelmiş ve bu artış etilen sentezini teşvik etmiştir (Galston ve Davies, 1970; Engvild, 1989).

Etilen ve sitokinin gibi büyüme hormonları senesens düzenleyici faktörlerin en belirgin olanlarıdır (Gan ve Amasino, 1997; Nam, 1997; Dangl ve diğ., 2000). Sitokininlerin geciktirici etkilerine karşın etilen ve absisik asit genellikle senesensin erken başlamasını teşvik etmektedir (Noodén ve Leopold, 1988; Grbic ve Bleecker, 1995). *Arabidopsis*'in

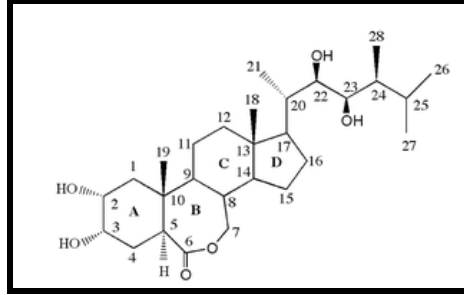
etilene duyarsız mutantının (Etr1) yapraklarında senesens başlangıcı ertelenebilmektedir (Grbic ve Bleeker, 1995). Etilen uygulaması yapılan bitkilerde senesensin erken başladığı görülmüş ve özellikle daha yaşlı yapraklarda senesensin hızlandığı tespit edilmiştir (Buchanan-Wollaston ve diğ., 2003). Benzer olarak çok düşük düzeylerde etilen sentez eden duyarsız domates bitkisinde, yaprak senesensinin geciktiği gözlenmiştir (Picton ve diğ., 1993). ABA'nın, klorofil yıkımını teşvik ve klorofil biyosentezini inhibe ederek senesensi teşvik ettiği bilinmektedir (Nooden, 1988). ABA'nın senesens esnasındaki rolü çok iyi anlaşılmasa da, *Arabidopsis* yapraklarındaki senesensi teşvik ettiği gözlenmiştir (Park ve diğ., 1998; He ve diğ., 2001).

Salisilik asitin senesensi hızlandığı gözlenmiş olsa da (Morris ve diğ., 2000), salisilik asit eksik bitkilerde senesensin normal olarak oluştuğunun gözlenmesi salisilik asit tarafından kontrol edilen genlerin senesens için gerekli olmadığına işaret etmektedir (Buchanan-Wollaston ve diğ., 2003). JA (jasmonik asit) ya da MeJA'nın arpa yapraklarına eksojen uygulaması ile ortaya çıkan klorofil kaybı ve azalan rubisko düzeyi, bu moleküllerin senesensi teşvik ettiğini ortaya koymuştur (Parthier, 1990). JA'nın *Arabidopsis*'e uygulanması erken senesense yol açmış ve bu durum jasmonik asite duyarsız mutantta meydana gelmemiştir (Xie ve diğ., 1998). Senesensin meydana gelmesinde brassinosteroidlerin (BR) de önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu araştırmada BR lerin senesens üzerine etkisi incelenmiştir.

## 2.7. BRASSİNOSTEROİDLERİN TANIMI

Steroid hormonlar hayvanlardaki embriyonik gelişim ve yetişkin homeostasisi açısından çok önemlidir (Evans, 1988). Steroidler bitkilerde önemli hormonlar olarak görev almaktadırlar. Bitkiler çok sayıda steroid ve sterol üretmektedir (Geuns, 1978; Jones ve Roddick, 1988). Bitki hormonları arasında yer alan brassinosteroidler (BR) büyümeyi teşvik eden bitki steroidleridir (Müssig, 2005). Yapılan genetik ve biyokimyasal çalışmalar sonucunda normal bitki büyümesi ve gelişimi için gerekli oldukları bilinen BR ler çok sayıda araştırmacı tarafından bitki hormonlarının yeni bir sınıfı olarak kabul edilmektedir (Clouse ve Sasse, 1998; Sasse, 1999; Li ve Chory, 1999; Müssig ve Altmann, 1999; Bajguz, 2000; Rao ve diğ., 2002; Clouse, 2002; Vardhini ve Rao, 2002; Bajguz ve Tretyn, 2003; Michelini ve diğ., 2004).

Bazı polen ekstraktlarının büyümeyi teşvik edici özellikte olduğunun farkına varılması, bitkilerde BR lerin keşfedilmesine zemin hazırlamıştır. Mitchell ve diğ. (1970), *Brassica napus* (kolza) polenlerinden elde edilen yağlı bir ekstraktın fasulye internodlarında aşırı bir uzamaya neden olduğunu saptadıktan sonra yaklaşık 60 farklı türün polen ekstraktlarını çeşitli yöntemlerle test ederek, büyümeyi teşvik edici aktivitelere sahip olduklarını belirlemişlerdir. Büyümeyi teşvik eden en aktif bileşiği *Brassica* cinsinden ekstre ettikleri için brassinler olarak isimlendirmişlerdir. Brassinlerin gerçek kimyasal yapısını belirlemek için Grove ve diğ. (1979) tarafından yürütülen çalışmalar sonucunda 40 kg polenden 4 mg kristal elde edilmiş ve bu aktif bileşik brassinolid (BL) olarak tanımlanmıştır. Brassinolid (BL) [(22R, 23R,24S)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ , 22,23-tetrahidroksi-24-metil- $\beta$ -homo-7-oksa-5 $\alpha$ -kolestan-6-on], steroid yapıdaki ilk bitki hormonudur. İki yıl içinde BL (Şekil 2.1) ve onun stereo izomeri olan 24-epibrassinolid (eBL) kimyasal olarak sentez edilmiştir. 1982 de ise, büyümeyi teşvik edici yapısı ile diğer bir steroidal madde olan kastasteron (CS) bulunmuştur (Yokota ve diğ., 1982).



Şekil 2.1: Brassinolidin kimyasal yapısı

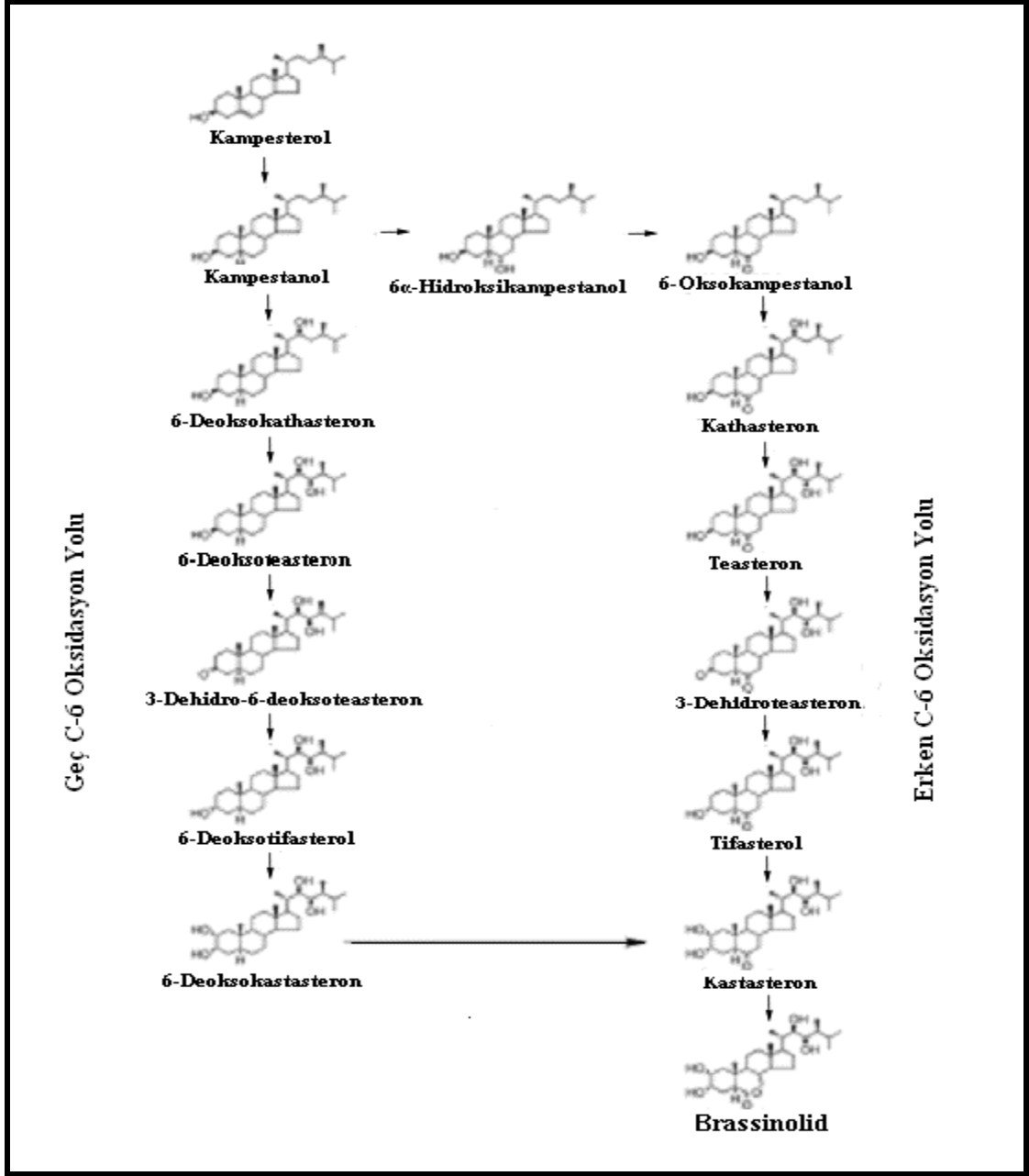
BR ler vertebratlar ve böceklerde bulunan büyümeyi düzenleyici steroid hormonlara benzerlik gösteren yapıları ile doğal olarak meydana gelen polihidroksi steroidlerdir (Yokota, 1997, Clouse, 2001, Müssig ve Altmann, 2001, Clouse, 2002). Doğal BR ler ortak bir 5 $\alpha$ -kolestan iskeletine sahiptirler (Fujioka ve Sakurai, 1997). Birbirine bitişik A, B, C ve D halkaları ile 17. karbona bağlı bir alkil yan zincirinden oluşan tipik steroid nükleus içermektedirler (Müsig ve Altmann, 1999). Hem nükleus hem de yan zincir, fazla karmaşık olan BR lerin nomenklatürü ile steryokimyasını oluşturan farklı izomerik konfigürasyonlarda çeşitli gruplar taşımaktadır (Mandava, 1988). Bu bileşikler, yan zincirdeki alkil gruplarının şekline göre C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub> ya da C<sub>29</sub> BR ler olarak sınıflandırılmaktadır (Yokota, 1997). Yüksek bitkilerde BR lerin en yaygın iki tipi

olarak, C<sub>28</sub> grubu BR lerden BL ve onun keton prokürsörü olan CS bulunmaktadır (Srivastava, 2002).

Brassinolid, doğal olarak bulunan BR ler arasında en yüksek aktiviteye (5 kat daha fazla) sahip olduğu için biyosentez yolunu aydınlatmak için çalışmalar yapılmıştır (Suzuki ve diğ., 1995; Srivastava, 2002). BL biyosentezinin başlangıç noktası kampesterol (24 $\alpha$ -metil kolesterol) dür. İlk önemli basamak, kampesterolün 5,6 çift bağının redüksiyonuyla kampestanol (CN) un oluşmasıdır. Daha sonra kampestanolden BL nin bir adım önceki prekürsörü olan CS ye giden 2 paralel biyosentez yolu vardır. Bu biyosentez yolları erken ve geç C6-oksidasyon yolu olarak adlandırılmaktadır (Choi ve diğ., 1997; Bishop ve Yokota, 2001; Srivastava, 2002) (Şekil 2.2). Bu iki değişimli yol yan zincirdeki hidroksilasyondan önce ya da sonra C6 oksidasyonunun meydana gelip gelmemesine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Noguchi ve diğ., 2000). Herbir yolun predominansı bitki türleri ve dokular arasında farklılık göstermektedir (Srivastava, 2002). Örneğin erken ve geç C6-oksidasyon yollarının her ikisinde bezelye ve *Arabidopsis*'ide kapsayan çok sayıda türde yaygın iken meydana gelirken (Nomura ve diğ., 1999; Nomura ve diğ., 2001), geç C6-oksidasyon yolu domateste predominant olmaktadır (Bishop ve diğ., 1999; Noguchi ve diğ., 2000).

BR lerin tümü daima biyolojik olarak aktif değildir. Biyolojik olarak aktif BR lerden brassinolid, 24-epibrassinolid ve 24-homobrassinolid fizyolojik çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Rao ve diğ., 2002).

Şimdiye kadar 42 tane BR ve 4 tane de BR konjugatı tanımlanmıştır. Bunların 37 si angiospermlerden (9 monokotil ve 28 dikotil), 5 i gymnospermlerden, 1 i pteridofitten, 1 ide algden tayin edilmiştir (Fujioka, 1999). Sasse (1997), BR lerin şimdiye kadar araştırılan tüm bitkilerde tanımlanması üzerine bitkiler aleminde yaygın olarak buldukları fikrini öne sürmüştür.



Şekil 2.2: Brassinolidin biyosentez yolu (Bishop ve Yokota, 2001)

BR ler bitkinin hemen hemen tüm kısımlarında oluşmaktadır. BR ler polen, tohumlar, yapraklar, gövdeler, kökler ve çiçekler gibi çeşitli bitki kısımlarında (Fujioka, 1999) çok düşük konsantrasyonlarda (nano-gram düzeyler) bulunmaktadır. BR lerin endojen düzeyleri bitki organ tipine, dokunun yaşına ve türüne göre değişmektedir. Reprodüktif organlar ve büyümekte olan dokular (polen, olgunlaşmamış tohum, gövdeler), daha olgun dokulardan fazla miktarda BR içermektedir (Yokota ve diğ., 1986; Fujioka ve diğ., 1998; Sasse ve diğ., 1998; Schmidt ve diğ., 1998; Shim ve diğ., 1998; Clouse,

2002). Gövdeler ve yapraklar genellikle g taze ağırlık başına 0,01-0,1 ng, polen ve olgunlaşmamış tohumlar ise g taze ağırlık başına 1-100 ng BR içermektedir (Srivastava, 2002).

Yapılan çalışmalardan, BR lerin hareket yerlerine yakın yerlerde sentezlendiği tespit edilmiştir (Bishop ve Yokota, 2001). Uzun mesafede taşınmasının BR lerin endojen etkileri için önemli olup olmadığı henüz bilinmemekle birlikte kısa mesafede taşınmasının etkilerinin, polen ve tohumlar açısından önem taşıdığı düşünülmektedir (Sasse, 1997). Radyoaktif işaretli BR lerin eksojen olarak uygulanması sonucunda pirinç, salatalık ve buğdayda kökten gövdeye doğru (akropetal) taşınmasının ksilem aracılığı ile hızlı bir şekilde gerçekleştiği saptanmıştır (Schlaghaufer ve Arteca, 1991; Yokota ve diğ., 1992; Nishikawa ve diğ., 1994). <sup>14</sup>C ile işaretlenmiş 24-epibrassinolidin metabolizması ve taşınması salatalık ve buğday fidelerinde çalışılmıştır. 24-eBL köklere uygulandığında kolayca alınmakta ve yapraklara taşınmaktadır. Buna karşı, yapraklara uygulandığında taşınması köklerden taşınmasına göre daha yavaştır (Fujioka ve Sakurai, 1997).

BR ler büyümeyi teşvik etmelerinin yanında tohum çimlenmesi, rizogenez, çiçeklenme, senesens, absisyon, olgunlaşma gibi farklı gelişim süreçlerine de etki etmekte ve farklı abiyotik streslere karşı bitkilere direnç sağlamaktadır (Müssig ve Altmann, 1999; Rao ve diğ., 2002; Michelini ve diğ., 2004). Dikotillerde epikotil, hipokotil ve pedunkul uzamasını teşvik etmekte, mezokotil ve koleoptil büyümesini arttırmaktadır (Mandava, 1988). BR ler genç vegetatif dokularda meydana gelen büyümede daha etkilidir (Sasse, 1991). Azuki fasulyesi (Mandava, 1988) ve bezelye epikotillerinde (Clouse ve diğ., 1992), ayçiçeği ve salatalık hipokotillerinde (Katsumi, 1985), *Arabidopsis* pedunkulleri (Clouse ve diğ., 1993) ve buğday koleoptillerinde (Sasse, 1985) yapılan çalışmalarda, BR lerin uzamayı teşvik ettikleri bulunmuştur.

BR lerin *Triticum aestivum* (Hayat ve Ahmad, 2003), pirinç (Dong ve diğ., 1989) ve tütünde (Leubner-Metzger, 2001) de tohum çimlenmesini teşvik ettiği görülmüştür. Ayrıca BR lerin yapraklara uygulanması ile çilekte çiçeklerin sayısında artış olmuştur (Pipattanawong, 1996).

BR ler kök büyümesini arttırmaktadır. *Pinus radiata*'nın transplante olmuş fidelerine 24- eBL uygulanması sonucunda kök kütlesinde artış gözlenmiştir (Sasse ve Sasse, 1994). Arteca ve Arteca (2001), *Arabidopsis thaliana*'da brassinolid uygulaması ile elde edilen büyüme artışının bilinen diğer fitohormonlardan bağımsız gerçekleştiğini kanıtlamıştır. Şeker kamışına homobrassinolid uygulanmasıyla kök kitlesinde bir artış tespit edilmiştir (Schilling ve diğ., 1991).

BR ler ile büyümenin teşviki hem hücre bölünmesi hem de hücre uzaması ile gerçekleşmektedir. BR ler hücre bölünmesi ve uzamasını teşvik etmektedir (Müssig, 2005). 24-eBL ile *Helianthus tuberosus*'un kültüre alınan parenkimatik hücrelerinde hücre bölünmesinde artış gözlenmiştir (Clouse ve Zurek, 1991). Soya fasulyesi hipokotillerinde yapılan çalışmalar BR lerin hücre uzamasını teşvik etme yeteneğini ortaya çıkarmıştır (Zurek ve diğ., 1994).

BR ler çeşitli abiyotik streslere karşı bitkilerin direncini arttırmaktadır. BR uygulaması ile pirinçte (Wang ve Zeng, 1993) düşük sıcaklık stresine; buğday yapraklarında (Kulaeva ve diğ., 1991) yüksek sıcaklık stresine; şeker pancarında (Schilling ve diğ., 1991) kuraklık stresine karşı tolerans artmıştır. Bunun yanında BR ler yer fıstığı fidelerinin büyümesinde (Vardhini ve Rao, 1999) ve *E. camaldulensis*'in tohum çimlenmesinde tuzluluğun inhibitör etkilerini (Sasse ve diğ., 1995) ortadan kaldırmıştır.

Ayrıca yapılan çalışmalarda BR lerin domateste meyva oluşumunu arttırdığı (Kamuro ve Takatsuto, 1999), ksilem farklılaşmasını (Clouse ve Sasse, 1998; Müssig ve Altmann, 1999; Altmann, 1999) ve köklenmeyi teşvik ettiği, yaprak absisyonunu geciktirdiği (Iwahari ve diğ., 1990; Ronsch ve diğ., 1993) rapor edilmiştir. Bunun yanında polen tüpü büyümesi, yaprak eğilmesi ve epinasti, kök inhibisyonu, etilen biyosentezinin induksiyonu, proton-pompa aktivasyonu ve gen anlatımının düzenlenmesi gibi hücresel yanıtlara neden olabildikleri de bilinmektedir (Mandava, 1988; Clouse ve Sasse, 1998).

Yapılan son çalışmalar BR reseptörü olarak BRI1 in çalıştığını göstermektedir (Bishop ve Koncz, 2002). *Arabidopsis thaliana*'da yapılan moleküler genetik çalışmalar BRI1 in tanımlanması ve klonlanmasını sağlamıştır. BRI1, bir transmembran reseptör

serin/threonin kinazdır. BRI1 in çoğunlukla lösün-zengin tekrarları içeren ekstrasellular bölgesi, BR bağlanması için gerekmektedir (Friedrichsen ve Chory, 2001). BRI1 in ekstrasellular bölgesi BR leri algılamaktadır. Sinyal, intrasellular kinaz bölgesi tarafından oluşmaktadır. Sinyal iletimi için hipotetik olarak önerilen plana göre, BR molekülünün reseptöre bağlanması kinaz bölgesinin aktivasyonuna ve sonradan eklenen kinazlar ve/veya fosfatazların fosforilasyonuna sebep olmaktadır (Rao ve diğ., 2002). BRI1, plazma membranının bir tarafından diğer tarafına steroid sinyaller iletmektedir ve genomik etkilere aracılık etmektedir.

## 2.8. GRAVİTROPİZMANIN TANIMI

Yerçekimi bütün çevresel sinyaller içinde sürekliliği en fazla olan ve her zaman hissedilendir. Yerçekiminin yönlendirdiği büyüme sürecine gravitropizma adı verilmektedir. Gravitropizma, yerçekimi uyarıcısına yanıt olarak bitkinin belli bir yöndeki hareketidir. Bu süreçten önceleri geotropizma olarak bahsedilmekteydi. Yerçekiminin yönü, gravitropizma yanıtını teşvik etmektedir. Fidelerin hem gövdesini hem de köklerini etkilemektedir. Gövde negatif, kök ise pozitif olarak gravitropiktir. Primer gövde yukarı, kökler genellikle aşağıya doğru vertikal olarak büyür. Gravitropizma ile ilgili terminoloji sistemine göre; birçok ana kök ve gövde eksenlerinin yerçekimi yönüne paralel pozisyonları ortogravitropik, 2. ve 3. sıradaki lateral kökler ve yan dalların eksenlerinin yerçekimi yönüne duyarsız pozisyonları agravitropik adını almaktadır. Agravitropik kökler ve gövdelerde yerçekimi duyarlılığı üzerine bilgiler yeterli değildir.

Bir bitki horizontal olarak yetiştirildiğinde, gövde yukarı doğru yönelirken kök yerçekimi etkisinde aşağıya doğru eğilmektedir. Her iki organda da kıvrılma, subapikal bölgede ve organın en alt kısmına göre en üstteki hücrelerin fizyolojik olarak farklı büyümesi sonucu meydana gelmektedir. Kıvrılma gerçekleştikten sonra normal büyüme devam etmektedir.

Yerçekimini algılama yeri, kök ve gövdede farklılık göstermektedir. Yerçekiminin algılanması için amiloplast olarak adlandırılan nişasta ile dolu plastidlerin sedimentasyonu gerekmektedir. Amiloplast sedimentasyonu, statosit adı verilen

özelleşmiş hücrelerde meydana gelmektedir. Eskiden beri bu konuda yapılan araştırmalar sonucunda, kök ucunun yerçekimini algıladığı, kök şapkasının kolumellasındaki merkez hücrelerinin bu fonksiyonda etkin olduğu tespit edilmiştir. Ciesielski (1872) ve Darwin (1880) tarafından yapılan deneyler bezelye, mercimek, fasulye gibi bitkilerin kök uçları kesildiğinde yeni bir kök ucu ve kök şapkası rejenere olana kadar bir gravitropik uyarıcıya tepki vermediklerini göstermiştir. Buna karşın yerçekimini gövdede algılama yeri, gövde endodermisindeki statositlerdir. Hücre uzama hızındaki değişiklikler, epidermis ve korteksin periferal tabakalarında belirgindir. Statositler ve uzayan dokular arasındaki hücreler arası sinyalleşme, oksinin yeniden dağılmasına neden olmaktadır (Hart, 1989; Leyser ve Day, 2003).

Gövde ve kök gravitropizmasında yerçekimine karşı verilen yanıtlar, organın karşıt kısımlarındaki hücre uzamasının farklı olması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu farklı hücre uzamasına, organların bir tarafından diğer tarafına oksinin yeniden dağılması ile oluşan oksin gradiyentinin aracılık ettiği düşünülmektedir. Endojen ve eksojen (işaretlenmiş) oksinin horizontal pozisyondaki fidelerin alt kısmında arttığı ve buna bağlı olarak bu kısımda hücre uzamasının da arttığı; üst tarafta ise oksin konsantrasyonunun ve bu taraftaki hücre uzamasının da azaldığı saptanmıştır. Bu nedenle gövdenin yukarıya doğru yöneldiği bilinmektedir (Chen ve diğ., 1999).

## **2.9. BRASSİNOSTEROİDLERİN SENESENS VE GRAVİTROPİZMA ÜZERİNE ETKİLERİ**

Senesens sürecinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan BR ler senesensin teşvikini içeren gelişme olaylarında çeşitli fonksiyonlara hizmet etmektedir (Khripach ve diğ., 2000; He ve diğ., 2001; Rao ve diğ., 2002; Nemhauser ve Chory, 2004). Yaprak ve kotiledon senesensi bazı sistemlerde 24-eBL uygulaması sonucu hızlanmıştır. Peroksidaz, süper oksit dismutaz ve katalaz aktivitelerindeki değişimler sonucunda BR lerin bu etkilerini aktive olmuş oksijen aracılığıyla düzenlediği fikri öne sürülmüştür (Clouse ve Sasse, 1998). BL nin, *Xanthium* ve *Rumex* eksplantlarında senesensi hızlandırdığı, salatalık fidelerinin kesik kotiledonlarında (Zhao ve diğ., 1990) ve fasulye fidelerinin yapraklarında (He ve diğ., 1996) senesensi teşvik ettiği tespit edilmiştir. Biyolojik olarak aktif BR leri olmayan *Arabidopsis* mutantları ile yapılan çalışmalarda

kloroplast senesensinde gecikme gözlenmiştir (Li ve diğ., 1996). Ayrıca Vardhini ve Rao (2002), BR uygulaması sonucunda klorofil düzeyinin azaldığını ve meyva senesensinin hızlandığını rapor etmiştir. Bu bilgilere karşı Srivasta (2002), BR lerin senesensin gecikmesinde rol aldığını söylemektedir. Senesens üzerine BR lerin etkisinin moleküler mekanizması hala bilinmemektedir.

Gravitropik cevapların oksin tarafından teşvikinin yanında BR ler tarafından da teşvik edildiği, hatta BR lerin bu cevapta oksin ile sinerjistik çalıştığı ifade edilmiştir. Bu sinerjistik çalışma her iki hormonun bitki büyüme ve gelişiminin bazı yönlerinde birbirini etkilediğine işaret etmektedir (Yopp ve diğ., 1981; Takeno ve Pharis, 1982; Cohen ve Meudt, 1983; Katsumi, 1985; Eun ve diğ., 1989; Fujioka ve diğ., 1998; Sasse, 1999). Meudt (1987), BR uygulamasının fasulye hipokotillerinin gravitropik yanıtını arttırdığını ortaya koymuştur. BR tarafından gravitropik yanıtın artışının domates hipokotillerinde gösterilmesi (Park, 1998), BR lerin gövde gravitropizmasının düzenlenmesine katılabilecekleri fikrini öne sürmüştür. Bulgular, BR lerin kök gravitropizmasına katılabileceklerini de göstermektedir. Kim ve diğ. (2000) mısır fidesinin ilk kökünde çalışarak, BR lerin oksinin teşvik ettiği gravitropik cevabı arttırdığını rapor etmiş ve burada BR bulunduğunu ispatlamıştır.

Bitkilerin yaşam devirleri yerçekimi tarafından etkilenmektedir. Bitkiler gelişirken büyüme ve gelişmelerinin düzenlenmesi için yerçekimini kullanma yeteneğini elde ederler. Mikroyerçekimi şartları tohum çimlenmesine, gövde büyümesine ve çiçeklenmeye etki etmektedir (Volkman ve diğ., 1986; Halstead ve Dutcher, 1987; Brown ve diğ., 1990; Musgrave ve diğ., 1997; Kiss ve diğ., 1998; Hoson ve diğ., 1999; Ueda ve diğ., 1999; Musgrave ve diğ., 2000). Mikroyerçekimi şartları altındaki bitkinin her tarafı eşit kuvvette yerçekimi etkisinde kaldığı için hiçbir yönelme hareketi gözlenmemektedir. Bitkilerin yaşam devirlerinde önemli bir fizyolojik olgu olan senesens olayının fizyolojik yolunda yerçekiminin rolü henüz tam olarak açıklanamamakla birlikte, Sağlam ve Okatan (1990) yan yatırılan fidelerde alt kotiledonun üst kotiledondan önce senesense uğradığını tespit etmiştir. Diğer bir çalışmada üç boyutlu klinostat ile uyarılan mikroyerçekimi koşullarında, yulaf yaprak segmentlerinde senesensin gözle görülür semptomu olan klorofil kaybının artışı gözlenmiştir (Miyamoto ve diğ., 1995). Başka bir grup araştırmacı ise, horizontal klinostat

ortamında yetiştirilen ayçiçeği fidelerinin kotiledonlarında senesensin geciktiğini ifade etmiştir (Ünal ve Okatan, 1996). Bir fide horizontal konumda yerleştiği zaman kök aşağıya doğru (pozitif gravitropizma), gövde yukarıya doğru (negatif gravitropizma) bir eğilme gösterir. Bu olayın organlarda meydana gelen oksin gradiyentinden kaynaklandığına inanılmaktadır (Chen ve diğ., 1999). Nitekim Ünal ve Okatan (1996), senesensin gecikmesini oksinin taşınmasının yavaşlamasına bağlamışlardır.

Bu araştırmada, yan yatırılan fidelerin alt kotiledonlarında üst kotiledonlara göre daha erken meydana gelen senesensin hızı, epibrassinolid (özellikle  $10^{-9}$  M eBL) uygulaması ile hem alt hem de üst kotiledonlarda kontrole göre artış göstermiştir. Oksin taşınma inhibitörünün (TIBA) uygulanması ile aksine senesens hızında kontrole göre azalma meydana geldiği görülmüştür.

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. BİTKİSEL MATERYAL

Bu çalışmayı oluşturan deneylerde sistematik tanımlaması aşağıda gösterilen *Helianthus annuus* L. (ayçiçeği) bitkisinin fideleri kullanılmıştır. Ayçiçeği tohumları AS 6310 kod numaralı ve çimlenme yüzdesi %99,9-96 olarak May Tohumculuktan (Bursa) alınmıştır.

Familya: Compositae

Cins: *Helianthus*,

Tür: *annuus* L.

Monokarpik bir bitki olan *Helianthus annuus* L., reproduktif gelişiminin sonunda monokarpik senesens göstermektedir. Vegetatif gelişme süresi içinde sahip olduğu yaprak sayısının 1/3 kadarı, kotiledonlardan başlayarak yukarı doğru tipik bir sırasal yaprak senesensi göstermektedir (Sağlam ve Okatan, 1990). Ayrıca epigeik çimlenme özelliğinden dolayı kotiledonlarının toprak üstünde bulunması, kolay yetiştirilebilmesi ve oldukça kısa zamanda deney objesi haline gelmesi bu bitkinin deney materyali olarak seçilmesine neden olmuştur.

#### 3.2. FİDELERİN YETİŞTİRİLMESİ

Ayçiçeği akenleri %5 lik hipoklorik asit çözeltisi ile 5 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra 2 saat süreyle akan musluk suyu altında bırakılmıştır. Distile su ile çalkalanan akenlerden eşit büyüklükte olanlar seçilerek, içinde nemli fitre kağıdı bulunan 11 cm çaplı petri kutularına yaklaşık olarak 15 mm aralıklarla dizilmiştir. Sıcaklığı 25°C ye ayarlanmış etüvde 48 saat çimlenmeye bırakılan tohumlardan homojen çimlenme gösterenleri, içinde 2 ölçü kum 1 ölçü toprak karışımı bulunan saksılara ekilmiştir. Bitkiler 12 saat fotoperiyot altında, sıcaklığı 25±1°C de, büyüme odasında 6000 lüks ışık şiddeti altında yetiştirilmiştir.

### 3.3. FİDELERİN HORIZONTAL KONUMA GETİRİLMESİ

Ayçiçeği fideleri içinde kum-toprak karışımı bulunan saksılara ekildikten sonra milimetrik taksimatlı cetvel yardımı ile 3. günden itibaren hergün hipokotil boyunun uzunluğu ölçülmüştür. Hipokotil uzamasının 15. günde durduğu tespit edilerek, fidelerin bir kısmı bu günden itibaren kotiledonlardan biri aşağıya doğru (alt kotiledon) diğeri yukarıya doğru (üst kotiledon) bakacak şekilde yatay konuma getirilmiştir.

### 3.4. BİTKİLERE EPİBRASSİNOLİD UYGULANMASI

Hipokotil büyümesi sona eren bitkilerin (15 günlük) bir kısmına 14. günden itibaren gün aşırı hormon püskürtülmüş, diğeri bir kısmına kontrol amacı ile uygulama yapılmamıştır. Hormon uygulaması yapılan bitkiler ve kontrol bitkileri, 15. günde ikişer gruba ayrılmıştır. Bu gruplardan biri yan yatırılarak horizontal konuma getirilirken diğeri vertikal konumda bırakılmıştır. Böylece horizontal ve vertikal deney serileri ile horizontal ve vertikal kontrol serileri elde edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL ile 100 mg/l TIBA (2,3,5-triiyodobenzoik asit) (Okatan ve Ünal, 1996) hormon serileri, 100 mililitresine 1 damla %1 tween-20 katılarak hazırlanmıştır.  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL, horizontal ve vertikal deney serilerine 14. günden itibaren uygulanmıştır.  $10^{-9}$  M eBL+TIBA ve  $10^{-11}$  M eBL+TIBA deney serilerine de sırasıyla bir gün TIBA bir gün  $10^{-9}$  M ya da  $10^{-11}$  M eBL çözeltileri püskürtülmüştür. Bu konsantrasyonlar, ön deneyler ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Püskürtme işlemi bitkiler karanlık periyoda girerken yapılmıştır. Vertikal bitkilerin kotiledonları %50 senesens anına geldiği gün, tüm kontrol ve deney kotiledonları hasat edilerek analizler yapılmıştır.

### 3.5. SENESENS DERESESİNİN TAYİNİ

Tek tek yada gruplar halindeki bitkilerin kotiledonlarındaki senesensin derecesi, Lindoo ve Noodén (1976) tarafından soya fasulyesi için geliştirilen ve daha öncede değiştirilerek başarıyla kullanılan bir yöntemle (plastokron indeks) (Sağlam, 1989; Sağlam ve Okatan, 1990; Lohman ve diğ., 1994; Okatan ve Ünal, 1996; Ünal ve Okatan, 1996; Sağlam-Çağ, 1997) belirlenmiştir. Buna göre bir bitkinin kotiledonlarının senesens derecesi, kotiledonların yeşil alan yüzdesi göz önüne alınarak belirlenmiştir

(Şekil 3.1). Ayrıca kullanılan plastokron indeks ile kotiledonların klorofil içeriğinde karşılaştırılarak, senesensin plastokron indeks ile ne derece doğru değerlendirilebildiği de kontrol edilmiştir.



<u>Kotiledon No.</u>	<u>Yeşil Alan % si</u>	<u>Senesens Derecesi</u>
1	100	0.00
2	75	0.25
3	50	0.50
4	25	0.75
5	0	1.00

Şekil 3.1: *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki senesens derecesinin yeşil alan % si cinsinden belirtilmesi (Plastokron indeks).

Deney ve kontrol gruplarını oluşturan bitki gruplarının belli bir zamanda ulaştıkları senesens derecesini ortalama yeşil alan yüzdesi (O.Y.A %) si cinsinden saptamak için aşağıdaki denklem kullanılmıştır (Sağlam, 1989):

$$\text{O.Y.A. \% 'si} = \frac{(n_1 \times 1,00) + (n_2 \times 0,75) + (n_3 \times 0,50) + (n_4 \times 0,25) + (n_5 \times 0,00)}{\sum n}$$

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,

$\Sigma n$  = Kotiledonların toplam sayısını ( $n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5$ ) göstermektedir.

### 3.6. TOTAL KLOROFİL MİKTARININ TAYİNİ

Klorofil miktarı saptanacak olan kotiledonlar taze ağırlıkları alındıktan sonra bir miktar  $\text{CaCO}_3$  tozu ve 6 ml %80 aseton ilave edilerek ekstre edilmiştir. Ekstreler 3000 g de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvının (süpernatant) hacmi ölçülmüştür. Hacmi ölçülen ham klorofil ekstresinin 645 ve 663 nm dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri ölçülerek Arnon formülünde (Arnon, 1945) yerine konularak örneklerin total klorofil içerikleri tayin edilmiştir.

### 3.7. ÇÖZÜNEBİLİR TOTAL PROTEİN MİKTARININ TAYİNİ

Total protein miktarı saptanacak olan kotiledonlar taze ağırlıkları alındıktan sonra pH 7.0 fosfat tamponu kullanılarak, buz kalıpları içine alınan soğuk havanda ekstre edilmiştir. Ependorflara alınan homojenatlar, 13.000 devir/dakika  $4^\circ\text{C}$  da 30 dakika santrifüj edilmiştir. Suda çözünen proteinleri içeren üst sıvı (süpernatant) daki protein miktarının tayini Bradford yöntemi (Bradford, 1976) kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemde, bovin serum albuminin (BSA) suda çözülmesiyle hazırlanan 16 mg/ml stok çözeltisinden 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1600  $\mu\text{l}$  alınarak 0,1 ml ye tamamlanmıştır. BSA'nın bu farklı konsantrasyonlarının 595 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri ölçülerek standart protein eğrisi çizilmiştir. Süpernatantın 0,1 ml si alınarak üzerine 5 ml Comassi Blue Brilliant boyası eklenip iyice karıştırılmış ve 15 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Elde edilen absorpsiyon değerleri standart egride yerine konularak bu absorpsiyona karşılık gelen total protein miktarı belirlenmiştir.

### 3.8. PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN SPEKTROFOTOMETRİK TAYİNİ

Taze ağırlıkları alınan kotiledonlar total protein miktarının tayininde anlatıldığı gibi fosfat tamponunda ekstraksiyon yapılarak santrifüj edilmişlerdir. Üst sıvıdan alınan 100 µl örnek üzerine içinde %0,1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve %25 guaiakol bulunan 0,1 M fosfat tamponundan (pH 5,8) 1 ml eklenerek, 2 dakika içerisinde 10 sn aralıklarla 470 nm dalga boyundaki absorpsiyonu ölçülmüştür (Birecka ve diğ., 1973). Elde edilen absorbans değerlerinden 1 gram örnekteki peroksidaz enziminin 1 dakikadaki aktivitesi hesaplanmıştır.

### 3.9. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR

Araştırmada yapılan deneylerin sonuçları hesaplanırken kullanılan standart sapma formülü aşağıda belirtilmektedir:

$$X = \sum X_i / N$$

X: Aritmetik ortalama

$\sum X_i$ : Değerlerin toplamı (birinciden N'inciye kadar değişkenin bütün değerlerinin toplamı)

N: Tekrarlanan deney sayısı

$$S = \sqrt{\sum X_i / N}$$

S: Standart sapma

X<sub>i</sub>: Sapma değeri

## **4. BULGULAR**

### **4.1. KOTİLEDONLARDA SENESENS DERESESİNİN SAPTANMASI**

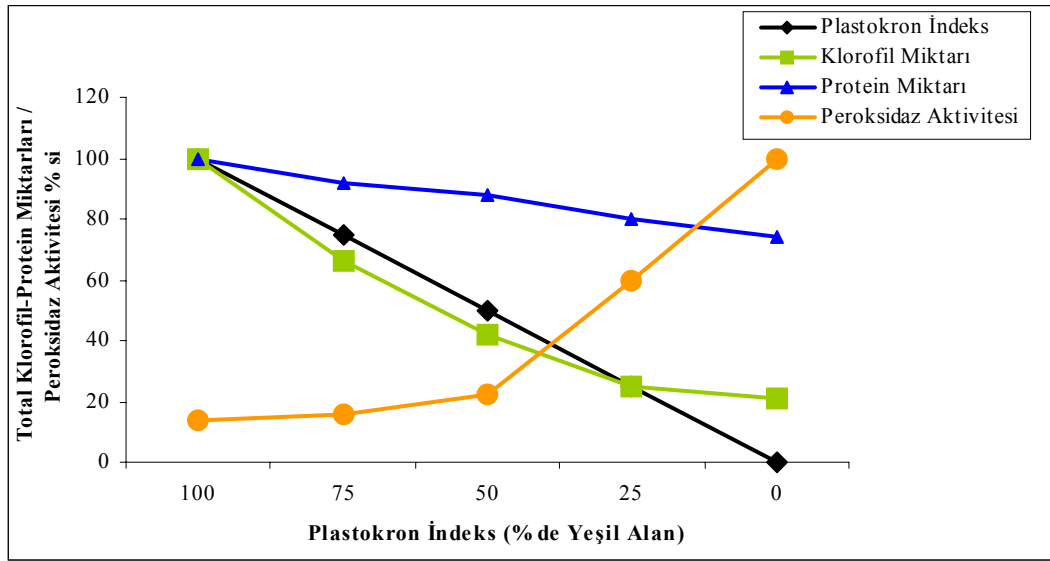
Petrilerde çimlendirilen ayçiçeği tohumlarından homojen çimlenme gösterenleri, içerisinde kum-toprak bulunan saksılara ekilmiştir. Hipokotil büyümesi sona eren fidelerin bir kısmı yan yatırılarak horizontal konuma getirilirken diğer bir grup vertikal konumda bırakılmıştır. İlk olarak horizontal konuma getirilen ayçiçeği fidelerinin alt ve üst kotiledonları ile vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarında meydana gelen senesensin seyri takip edilmiştir (kontrol). Daha sonra aynı işleme tabi tutulan vertikal ve horizontal konumdaki diğer bitki gruplarına, 14. günden itibaren sırasıyla  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL ile  $10^{-9}$  M eBL+TIBA ve  $10^{-11}$  M eBL+TIBA hormon serileri uygulanarak senesensi izlenmiştir (deney). Kontrol bitkilerinde yeşil alan % si 50 olduğu gün (23. gün) tüm kotiledonlar hasat edilmiş, biyokimyasal analizler yapılmıştır.

### **4.2. KOTİLEDONLARDA MEYDANA GELEN SENESENSİN ÇEŞİTLİ AŞAMALARINI GÖSTEREN PLASTOKRON İNDEKS**

Deney ve kontrol bitkilerinin kotiledonlarında meydana gelen senesens sırasında klorofil miktarının azalmasında, protein yıkımının ve peroksidaz aktivitesinin artmasında görülen değişiklikleri kıyaslayarak, uyumlu olup olmadığını anlamak amacı ile plastokron indeks eğrisi oluşturulmuştur. Yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar, Tablo 4.1 ve Şekil 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin çeşitli aşamalarını gösteren Plastokron İndeksin, kotiledonlardaki total klorofil ve total protein miktarları ile peroksidaz aktiviteleri

Plastokron İndeks	Total Klorofil Miktarı (mg.kl / kotiledon)	Total Protein Miktarı (µg / kotiledon)	Peroksidaz Aktivitesi (ΔA / g.T.A.dk)
100	100	100	14
75	66	92	16
50	42	88	22
25	25	80	60
0	21	74	100



Şekil 4.1: *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin çeşitli aşamalarını gösteren Plastokron İndeksin, deney bitkilerinin kotiledonlarındaki total klorofil ve total protein miktarları ile peroksidaz aktivitelerinin karşılaştırılması

Tablo 4.1 ve Şekil 4.1 den anlaşılacağı gibi, kotiledonlarda senesens başlamadan hemen önce %100 yeşil görümlü kotiledonların içerdiği total klorofil ve protein miktarı 100 kabul edildiğinde, ortalama yeşil alan % si 75 olan kotiledonların klorofil miktarı %66 iken protein miktarı %92 olarak saptanmıştır. %50 yeşil olan kotiledonların klorofil ve protein miktarları sırasıyla %42 ve %88 oranında belirlenmiştir. %25 yeşil olan kotiledonların klorofil miktarı %25 iken protein miktarının %80 olduğu; %0 yeşil yani tamamı kuru olan kotiledonların klorofil ve protein miktarlarının ise %21 ve %74 oranında değiştiği gözlenmiştir. Kotiledonlardaki ortalama yeşil alan % sinin azalmasına paralel olarak total klorofil miktarının azaldığı, buna karşın tamamı kuru kotiledonların klorofil içeriklerinin belirli bir seviyede kaldığı tespit edilmiştir. Protein

miktarlarındaki düşme ise, klorofil miktarındaki düşme kadar belirgin değildir. %0 yeşil (tamamen kuru) görünümlü kotiledonların POD aktiviteleri 100 kabul edildiğinde, ortalama yeşil alan % si 25 olan kotiledonlarda POD aktivitesi %60 iken, %50 ve %75 yeşil olan kotiledonlarda POD aktivitesi sırasıyla %22 ve %16 oranında belirlenmiştir. %100 yeşil olan kotiledonlardaki POD aktivitesi ise %14 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yeşil alan % si azaldıkça POD aktivitesinde artma, total protein ve total klorofil içeriklerinde azalma görülmektedir.

### 4.3. TAZE AĞIRLIK MİKTARINDAKİ DEĞİŞİMLER

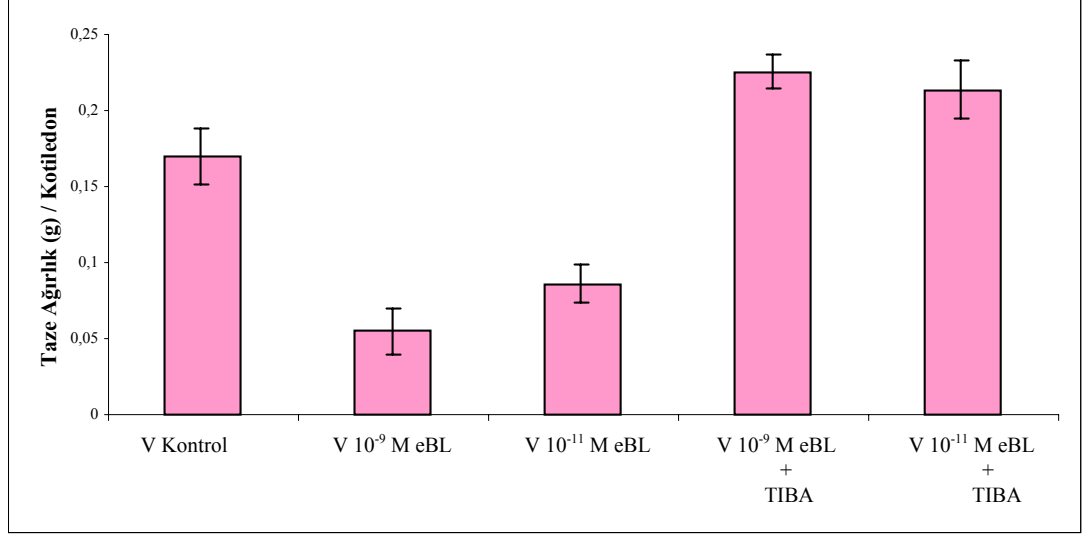
Vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kontrol grubu %50 senesens anına ulaştığı gün, kontrol ve deney fidelerinin kotiledonları hasat edilmiş ve taze ağırlıkları saptanmıştır. Vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarındaki taze ağırlık miktarları Tablo 4.2 ve Şekil 4.2 de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık değişimi

Deney Serileri	Taze Ağırlık (g) / Kotiledon
Vertikal Kontrol	0,1700±0,0188
$10^{-9}$ M eBL Vertikal	0,0549±0,0152
$10^{-11}$ M eBL Vertikal	0,0861±0,0125
$10^{-9}$ M eBL+TIBA Vertikal	0,2253±0,0111
$10^{-11}$ M eBL+TIBA Vertikal	0,2136±0,0189

Tablo 4.2 de görüldüğü üzere, vertikal konumdaki kontrol bitkilerinin kotiledonları %50 senesens anında iken taze ağırlıklarının  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin taze ağırlıklarına göre %68,  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin taze ağırlıklarına göre de %49 daha fazla olduğu görülmüştür. Sağlam ve Okatan (1990) ile Gören (2004)'in, senesens sinyalinin IAA tabiatında veya IAA gibi davranan bir madde olabileceğini ifade etmesi üzerine, IAA ile sinerjistik de çalışan epibrassinolidin tek başına etkisini anlamak amacıyla fidelere epibrassinolid ile birlikte 2,3,5-triiodobenzoik asit (TIBA) püskürtülmüştür.  $10^{-9}$  M ya da  $10^{-11}$  M eBL ile birlikte TIBA uygulanan fidelerin kotiledonlarının taze ağırlıkları kontrole kıyasla ortalama olarak yaklaşık 1,3 kat artış

gösterirken,  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin taze ağırlıklarına göre ise yaklaşık 4 kat artmıştır.

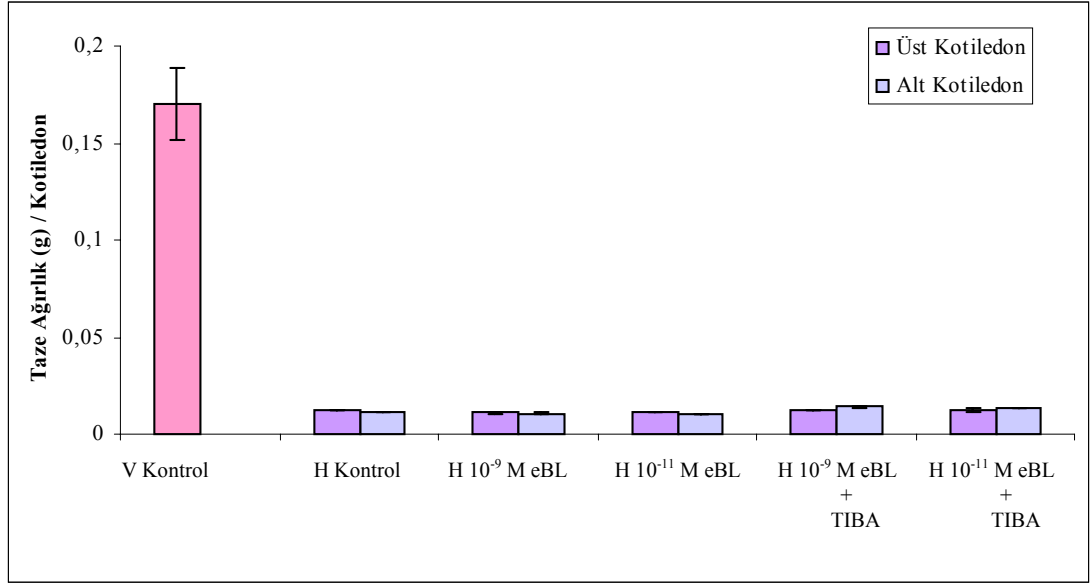


Şekil 4.2: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık miktarlarının karşılaştırılması (V: Vertikal)

Horizontal konumda bırakılan, eBL ve eBL+TIBA ile muamele edilen fidelerin kotiledonlarının taze ağırlık miktarları tespit edilmiş ve elde edilen değerler aşağıdaki Tablo 4.3 ve Şekil 4.3 de gösterilmiştir.

Tablo 4.3: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık değişimi

Deney Serileri	Taze Ağırlık (g) / Kotiledon	
Vertikal Kontrol	0,1700±0,0188	
Horizontal Kontrol	üst	0,0122±0,0003
	alt	0,0112±0,0001
$10^{-9}$ M eBL Horizontal	üst	0,0110±0,0004
	alt	0,0105±0,0004
$10^{-11}$ M eBL Horizontal	üst	0,0111±0,0002
	alt	0,0107±0,0001
$10^{-9}$ M eBL+TIBA Horizontal	üst	0,0124±0,0001
	alt	0,0142±0,0003
$10^{-11}$ M eBL+TIBA Horizontal	üst	0,0123±0,0007
	alt	0,0132±0,0001



Şekil 4.3: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki taze ağırlık miktarlarının karşılaştırılması (V: Vertikal, H: Horizontal)

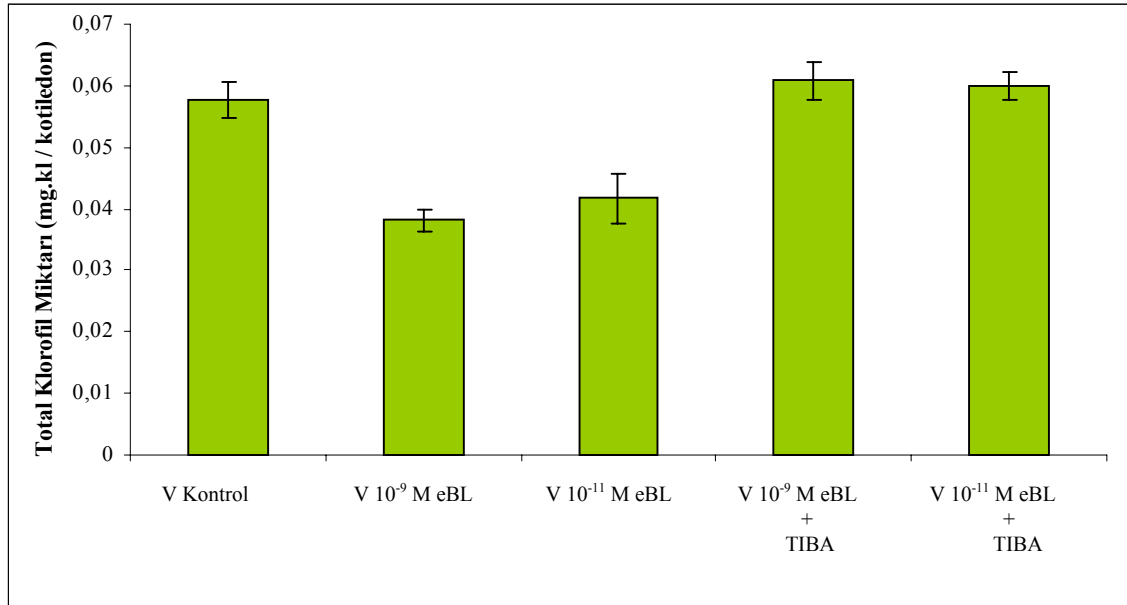
Yukarıda Şekil 4.3 de görüldüğü gibi, vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarının taze ağırlığı horizontal konumdaki fidelerin alt ve üst kotiledonlarına kıyasla çok yüksektir. Horizontal konumdaki fidelerin kontrol grubundaki alt kotiledonların taze ağırlıkları üst kotiledonların taze ağırlıklarından %8 daha düşüktür. Aynı durum  $10^{-11}$  M eBL uygulanan horizontal fidelerin kotiledonlarında da gözlenmiştir. Ancak,  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin g bazındaki taze ağırlıklarının kontrol fidelerinkinden düşük miktarda çıktığı görülmüştür.  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin taze ağırlıkları alt kotiledonlarında üst kotiledonlara göre %5 oranında azalmıştır.  $10^{-9}$  M eBL+TIBA uygulanan fidelerin üst kotiledonlarında alt kotiledonlara kıyasla %13 oranında,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan fidelerin üst kotiledonlarında ise %7 oranında düşme görülmüştür. Tüm alt kotiledonlar ile tüm üst kotiledonların ayrı ayrı kıyaslanması durumunda bu oranlar yaklaşık olarak korunmuştur.  $10^{-9}$  M eBL ve  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin alt ve üst kotiledonlarının, g bazındaki taze ağırlıkları arasında bir fark görülmemiştir.  $10^{-9}$  M eBL+TIBA uygulaması alt kotiledonların taze ağırlığının artışına neden olmuştur (%27).

#### 4.4. TOTAL KLOROFİL MİKTARINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER

Vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kontrol grubu %50 senesens anında iken kontrol ve deney fidelerinin kotiledonları hasat edilerek klorofil miktarları tayin edilmiştir. Vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarındaki total klorofil miktarları Tablo 4.4 ve Şekil 4.4 de gösterilmiştir.

Tablo 4.4: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarının değişimi

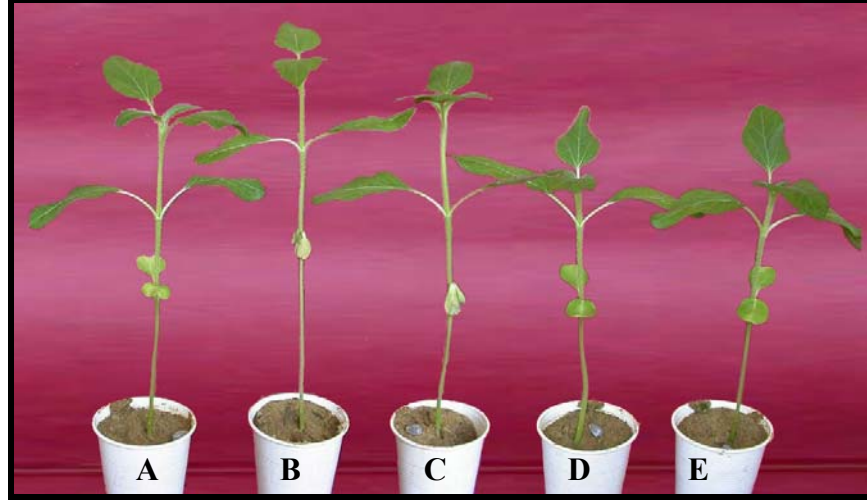
Deney Serileri	Total Klorofil Miktarı(mg.kl / kotiledon)
Vertikal Kontrol	0,0578±0,0029
$10^{-9}$ M eBL Vertikal	0,0381±0,0019
$10^{-11}$ M eBL Vertikal	0,0417±0,0041
$10^{-9}$ M eBL +TIBA Vertikal	0,0608±0,0032
$10^{-11}$ M eBL +TIBA Vertikal	0,0599±0,0022



Şekil 4.4: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarlarının karşılaştırılması (V: Vertikal)

Yukarıdaki şekilden anlaşıldığı üzere,  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin kotiledonlarının total klorofil miktarları kontrol kotiledonlarına göre %34 oranında azalırken,  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin kotiledonlarındaki azalma %28 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan,  $10^{-9}$  M eBL in klorofil yıkımında daha etkili olduğu ve bu konsantrasyonda

senesensin hızlandığı görülmüştür. TIBA uygulamasının ise, klorofil yıkımını engellediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar aşağıda Şekil 4.5 deki gibi gözlemlenmiştir.

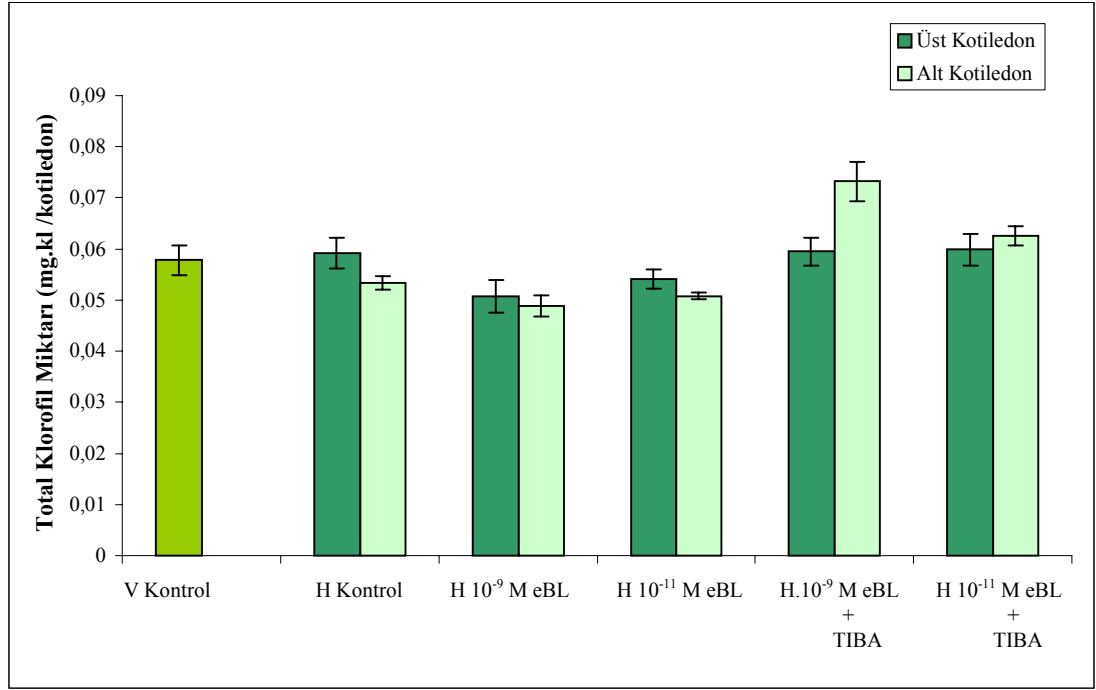


Şekil 4.5: eBL ve eBL+TIBA uygulanan, vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kontrol grubundaki kotiledonların ortalama yeşil alan % si 50 olduğu anda, kotiledonlarının senesens derecelerini gösteren fotoğraf: A. Kontrol, B.  $10^{-9}$  M, C.  $10^{-11}$  M eBL, D:  $10^{-9}$  M eBL+TIBA, E:  $10^{-11}$  M eBL+TIBA

Vertikal konumda yetişen fidelerin kotiledonlarının yeşil alan % si 50 ye eriştiği gün hasat edilen horizontal konumdaki fidelerin kontrol ve deney kotiledonlarının total klorofil miktarları saptanmıştır. Vertikal ve horizontal konumdaki fidelerin kotiledonlarındaki total klorofil miktarları Tablo 4.5 ve Şekil 4.6 da gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarının değişimi

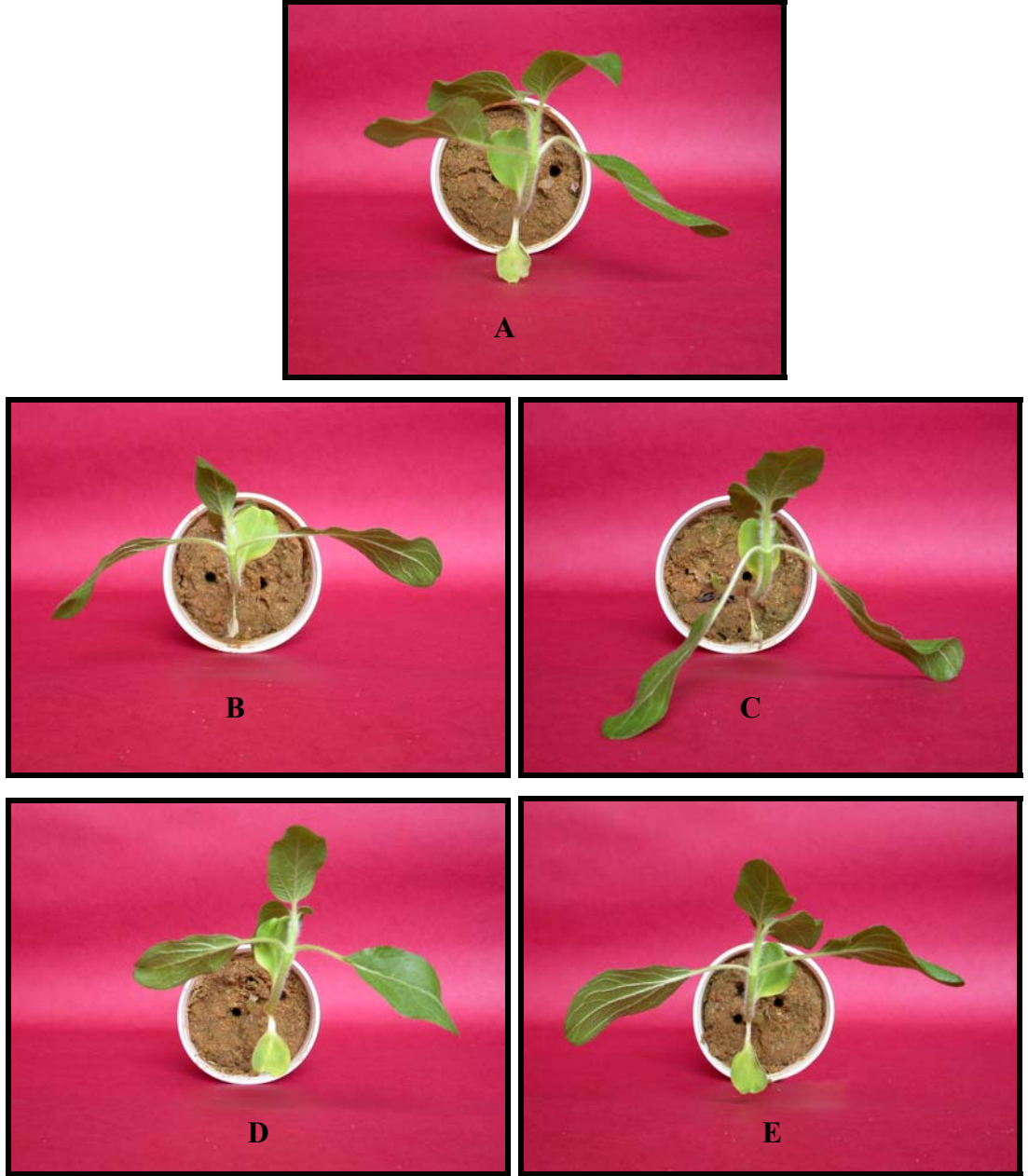
Deney Serileri		Total Klorofil Miktarı (mg.kl/kotiledon)
Vertikal Kontrol		0,0578±0,0029
Horizontal Kontrol	üst	0,0592±0,0030
	alt	0,0533±0,0013
$10^{-9}$ M eBL Horizontal	üst	0,0508±0,0032
	alt	0,0489±0,0021
$10^{-11}$ M eBL Horizontal	üst	0,0541±0,0018
	alt	0,0508±0,0007
$10^{-9}$ M eBL+TIBA Horizontal	üst	0,0595±0,0027
	alt	0,0732±0,0039
$10^{-11}$ M eBL+TIBA Horizontal	üst	0,0599±0,0031
	alt	0,0626±0,0019



Şekil 4.6: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarlarının karşılaştırılması (V: Vertikal, H: Horizontal)

Yan yatırılan fidelerin alt kotiledonlarının üst kotiledonlardan daha önce senesense başlaması ve hızlı seyretmesi, ilk olarak Sağlam ve Okatan (1990) tarafından gözlemlenmiş olup, bu çalışmada da tekrarlanarak teyit edilmiştir. Vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarının klorofil miktarları ile horizontal konumdaki fidelerin alt ve üst kotiledonlarındaki klorofil miktarları arasında belirgin bir fark oluşmadığı görülmüştür.  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin alt kotiledonlarındaki klorofil miktarlarının yan yatırılan kontrol fidelerinin alt kotiledonlarındakine kıyasla %8 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Aynı grubun üst kotiledonları arasındaki fark ise %14 olarak saptanmıştır.  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin alt ve üst kotiledonları ile yatay kontrol kotiledonları arasındaki farkın da belirgin olmadığı anlaşılmıştır. Ancak bu farkın vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kotiledonlarına kıyasla  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin alt kotiledonlarda daha belirgin olduğu görülmüştür. (%15-%12). IAA taşınmasını inhibe etmek için eBL+TIBA uygulandıktan sonra bu fidelerin kotiledonlarındaki klorofil miktarları, horizontal kontrol fidelerinin kotiledonlarının klorofil miktarları ile kıyaslanmıştır. TIBA ile birlikte uygulanan eBL in üst kotiledonlar arasında horizontal kontrole kıyasla bir fark oluşturmazken, alt kotiledonlarda belirgin bir farkla senesensi geciktirdiği tespit edilmiştir. Hatta bu farkın %37 ile en fazla  $10^{-9}$  M eBL uygulanan

fidelerin alt kotiledonlarında görülmesi dikkat çekicidir. Horizontal konumdaki fidelerin kontrol ve deney grupları aşağıdaki şekilde gösterilmiştir. Fotoğraflar, fideler yan yatırıldıktan sonra karşı yönden çekilmiştir (Şekil 4.7).



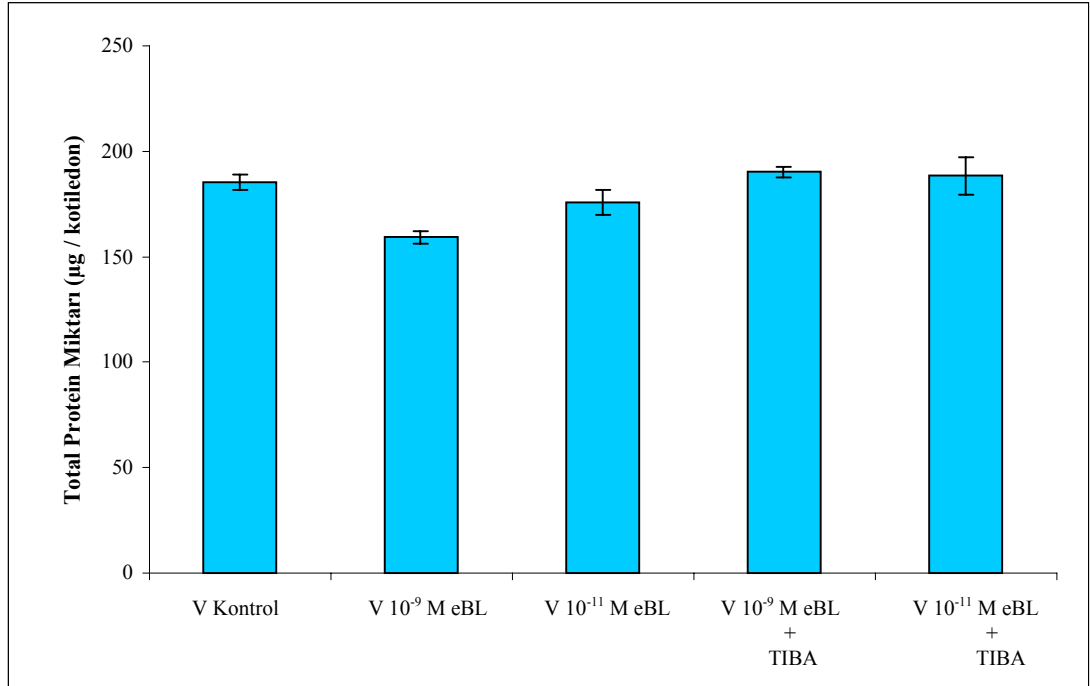
Şekil 4.7: Vertikal kontrol grubundaki fidelerin kotiledonlarının ortalama yeşil alan % si 50 olduğu anda, horizontal konumdaki eBL ve eBL+TIBA uygulanmış fidelerin kotiledonlarının senesens derecelerini gösteren fotoğraf : A. Kontrol, B.  $10^{-9}$  M, C.  $10^{-11}$  M eBL, D:  $10^{-9}$  M eBL+TIBA, E:  $10^{-11}$  M eBL+TIBA

#### 4.5. ÇÖZÜNEBİLİR TOTAL PROTEİN MİKTARINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER

Vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kontrol grubunun O.Y.A. % si 50 olduğu anda kontrol ve deney fidelerinin kotiledonları hasat edilmiş ve total protein miktarları tespit edilmiştir. Bu kotiledonlardaki total protein miktarları Tablo 4.6 ve Şekil 4.8 de gösterilmiştir.

Tablo 4.6: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarının değişimi

Deney Serileri	Total Protein Miktarı ( $\mu\text{g}/\text{kotiledon}$ )
Vertikal Kontrol	185,2199 $\pm$ 3,6044
$10^{-9}$ M eBL Vertikal	159,3007 $\pm$ 3,0083
$10^{-11}$ M eBL Vertikal	175,8677 $\pm$ 6,0107
$10^{-9}$ M eBL +TIBA Vertikal	190,3030 $\pm$ 2,5135
$10^{-11}$ M eBL +TIBA Vertikal	188,4545 $\pm$ 8,9143



Şekil 4.8: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması (V: Vertikal, H:Horizontal)

Şekil 4.8 de görüldüğü gibi,  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının kontrol kotiledonlarına göre %14 oranında azaldığı,  $10^{-11}$  M eBL

uygulanan fidelerin protein miktarında ise kontrol kotiledonlarına göre belirgin bir fark olmadığı tespit edilmiştir (%5). Total protein miktarının azalmasında  $10^{-9}$  M eBL nin daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, eBL+TIBA uygulamasının kontrole göre bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

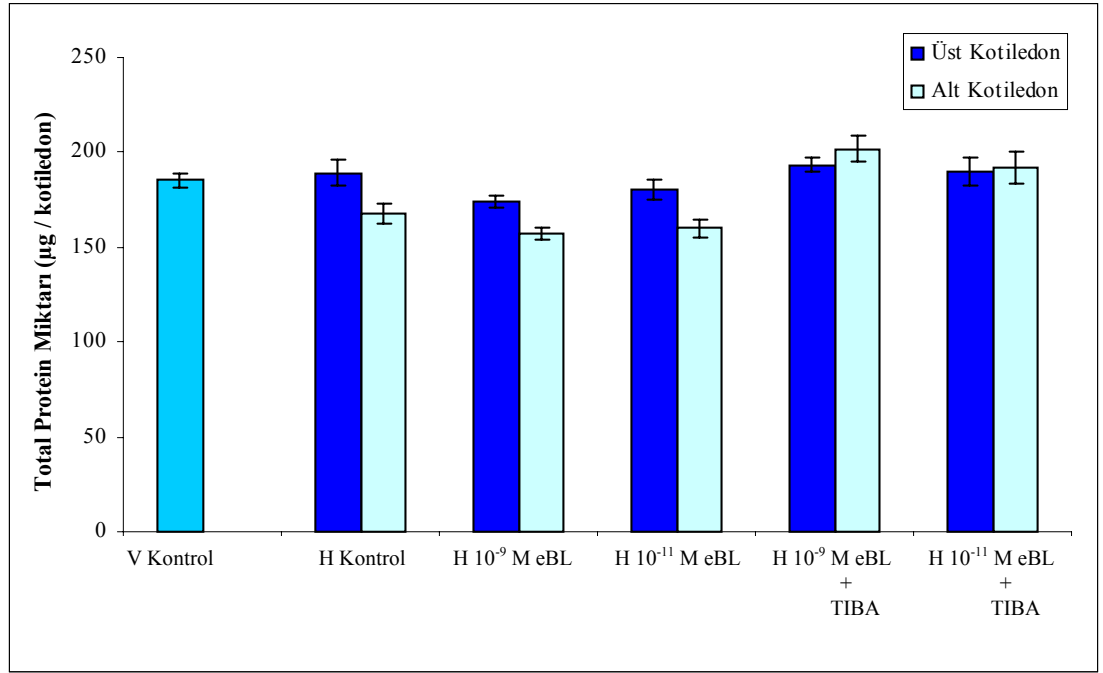
Vertikal konumda yetişen fidelerin kotiledonlarının senesensi %50 ye ulaştığı gün hasat edilen horizontal konumdaki fidelerin tüm kotiledonlarının total protein miktarları saptanmıştır. Vertikal ve horizontal konumdaki fidelerin kotiledonlarındaki total protein miktarları aşağıdaki Tablo 4.7 ve Şekil 4.9 da gösterilmiştir.

Tablo 4.7: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarının değişimi

Deney Serileri		Total Protein Miktarı ( $\mu\text{g}/\text{kotiledon}$ )
Vertikal Kontrol		185,2199 $\pm$ 3,6044
Horizontal Kontrol	üst	189,0883 $\pm$ 6,9682
	alt	167,3798 $\pm$ 5,3974
$10^{-9}$ M eBL Horizontal	üst	174,0527 $\pm$ 3,0456
	alt	157,4545 $\pm$ 3,2563
$10^{-11}$ M eBL Horizontal	üst	180,3827 $\pm$ 5,3662
	alt	159,8419 $\pm$ 4,7281
$10^{-9}$ M eBL +TIBA Horizontal	üst	193,3333 $\pm$ 3,6489
	alt	201,8182 $\pm$ 6,9822
$10^{-11}$ M eBL +TIBA Horizontal	üst	189,9091 $\pm$ 7,8685
	alt	191,9480 $\pm$ 7,9536

Aşağıda Şekil 4.9 dan anlaşılacağı gibi, vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarının protein içerikleri ile yan yatırılan fidelerin alt ve üst kotiledonlarındaki protein içerikleri kıyaslandığında, vertikal kotiledonları ile üst kotiledonlar arasında bir fark oluşmadığı halde alt kotiledonun protein miktarının %10 oranında azaldığı görülmüştür.  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin alt kotiledonlarındaki protein miktarının yan yatırılan kontrol fidelerin alt kotiledonlarındakine kıyasla %6 oranında azaldığı, her iki grubun üst kotiledonları arasındaki farkın ise %8 oranında olduğu saptanmıştır.  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin alt ve üst kotiledonları ile horizontal kontrol kotiledonları arasındaki farkın da açık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kotiledonları  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL uygulanan fidelerin kotiledonları ile

kıyaslandığında alt kotiledonların daha az protein içerdikleri tespit edilmiştir. eBL+TIBA uygulanan fidelerin üst kotiledonlarındaki protein miktarları ile, horizontal kontrol fidelerinin üst kotiledonlarının protein miktarları arasında bir fark olmadığı görülmüştür. Fakat,  $10^{-9}$  M eBL+TIBA uygulanan fidelerin alt kotiledonlarındaki protein miktarının yan yatırılan kontrol alt kotiledonlarından %21 fazla olması oldukça dikkat çekicidir. Sonuç olarak, TIBA uygulamasının alt kotiledonlarda meydana gelen erken senesensi geciktirdiği tespit edilmiştir.



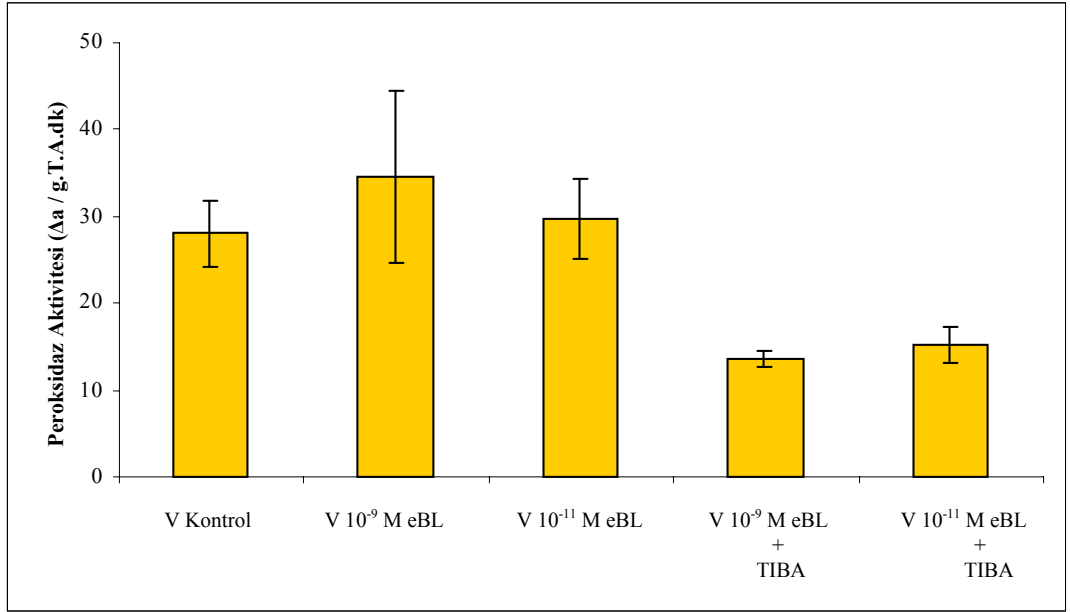
Şekil 4.9: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması (V: Vertikal, H: Horizontal)

#### 4.6. PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Vertikal konumda yetiştirilen fidelerin kontrol grubu %50 senesens anında iken kotiledonlar hasat edilerek peroksidaz aktiviteleri saptanmış, sonuçlar Tablo 4.8 ve Şekil 4.10 da gösterilmiştir.

Tablo 4.8: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi

Deney Serileri	Peroksidaz (POD) Aktivitesi ( $\Delta A / g.T.A.dk$ )
Vertikal Kontrol	28,0231 $\pm$ 3,8775
$10^{-9}$ M eBL Vertikal	34,4964 $\pm$ 9,9215
$10^{-11}$ M eBL Vertikal	29,6987 $\pm$ 4,6964
$10^{-9}$ M eBL +TIBA Vertikal	13,5448 $\pm$ 0,9074
$10^{-11}$ M eBL +TIBA Vertikal	15,1007 $\pm$ 2,0711



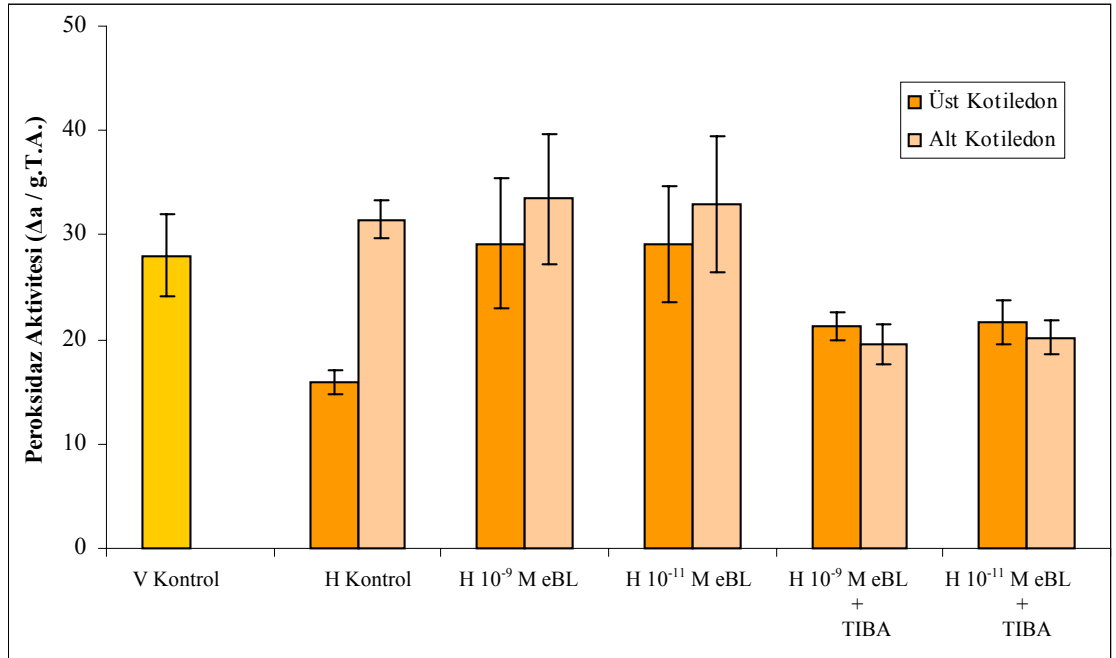
Şekil 4.10: Vertikal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitelerinin değişimi (V: Vertikal)

$10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin kotiledonlarındaki POD aktivitesi, kontrol kotiledonlarına göre en yüksek aktiviteye sahiptir (%23 daha fazla). eBL+TIBA uygulamasının POD aktivitesini, kontrole göre açık bir farkla (ortalama olarak %49 oranında) düşürdüğü tespit edilmiştir.

Vertikal konumda yetişen fidelerin kotiledonlarının senesensi %50 olduğu gün hasat edilen horizontal konumdaki fidelerin kotiledonlarının peroksidaz aktiviteleri tayin edilerek, elde edilen sonuçlar aşağıdaki Tablo 4.9 ve Şekil 4.11 de gösterilmiştir.

Tablo 4.9: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi

Deney Serileri		Peroksidaz (POD) Aktivitesi ( $\Delta\text{A/g.T.A.dk}$ )
Vertikal Kontrol		28,0231 $\pm$ 3,8775
Horizontal Kontrol	üst	15,8268 $\pm$ 1,1335
	alt	31,5026 $\pm$ 1,7593
$10^{-9}$ M eBL Horizontal	üst	29,1849 $\pm$ 6,2368
	alt	33,4565 $\pm$ 6,2838
$10^{-11}$ M eBL Horizontal	üst	29,1392 $\pm$ 5,5024
	alt	32,9655 $\pm$ 6,5355
$10^{-9}$ M eBL+TIBA Horizontal	üst	21,2555 $\pm$ 1,2578
	alt	19,5424 $\pm$ 1,8839
$10^{-11}$ M eBL+TIBA Horizontal	üst	21,6237 $\pm$ 2,1663
	alt	20,2053 $\pm$ 1,6734



Şekil 4.11: Horizontal konumda,  $10^{-9}$  M,  $10^{-11}$  M eBL ve  $10^{-9}$  M eBL+TIBA,  $10^{-11}$  M eBL+TIBA uygulanan *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitelerinin değişimi (V: Vertikal, H: Horizontal)

Vertikal konumdaki fidelerin kotiledonlarının POD aktiviteleri ile yan yatırılan fidelerin alt ve üst kotiledonlarındaki aktiviteleri karşılaştırıldığında, üst kotiledonların aktivitesinin %43 oranında azaldığı, buna karşılık alt kotiledonlarda %12 oranında arttığı gözlenmiştir.  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin alt kotiledonlarındaki POD aktivitesindeki artış, yan yatırılan kontrol fidelerin alt kotiledonlarındakine oranla %6 olarak tespit edilmiştir. POD aktivitesindeki artış deney üst kotiledonlarında daha belirginleşmiştir (%84 oranında).  $10^{-11}$  M eBL uygulanan horizontal konumdaki fidelerin alt ve üst kotiledonlarındaki POD aktiviteleri  $10^{-9}$  M eBL uygulanan fidelerin kotiledonlarındaki sonuçlar ile paralellik göstermiştir. Her iki konsantrasyonda da eBL+TIBA uygulanan fidelerin alt kotiledonlarının ya da üst kotiledonlarının kendi aralarında, sadece eBL uygulanan fidelerin kotiledonlarına kıyasla yaklaşık olarak eşit oranlarda azaldığının görülmesi dikkat çekmiştir. Buna bağlı olarak, TIBA uygulamasının alt kotiledonlardaki POD aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir.

Vertikal fidelere ait olan tüm bulgular plastokron indeks ile karşılaştırılmış olup, doğruluğu teyit edilmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmanın ilk kısmında  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL, ayrıca eBL ile birlikte TIBA uygulanan vertikal konumdaki *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin düzeni zamana bağlı olarak incelenmiştir. Sonuç olarak eBL uygulanan vertikal konumdaki deney bitkilerinin kotiledonlarında, kontrol bitkilerinin kotiledonlarına göre senesensin daha erken başlayıp erken sona erdiği saptanmıştır. eBL ile birlikte TIBA uygulanan vertikal deney bitkilerinin kotiledonlarında ise senesensin geciktiği dikkat çekmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, senesens sinyalinin IAA yapısında veya IAA gibi davranan bir madde olabileceği üzerinde durulmuştu (Sağlam, 1989; Sağlam ve Okatan, 1990; Çağ, 1997; Çağ ve diğ., 2004; Gören, 2004). Steroid yapıdaki eBL nin IAA ile birlikte çalıştığı bilinmekle birlikte (Cohen ve Meudt, 1983; Katsumi, 1985; Eun ve diğ., 1989; Fujioka ve diğ., 1998; Sasse, 1999; Müssig ve Altmann, 2003; Minorsky, 2004) BR lerin soya fasulyesi hipokotillerinde uzama ve gen anlatımını oksinden bağımsız olarak etkileyebildiğini ortaya koyan araştırmacılar da mevcuttur (Clouse ve diğ., 2002; Tanaka ve diğ., 2003). Bu araştırma, bu bilgiler ışığında verilerin incelenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır.

eBL uygulanan vertikal deney fidelerinin kotiledonlarında senesens meydana gelirken, taze ağırlıklarında vertikal kontrol bitkilerinin kotiledonlarına göre oldukça azalma görülmüştür. Taze ağırlık miktarında görülen azalmaları, zar permeabilitesinin bozulması ile açıklamak mümkündür (Ferguson ve Simon, 1973; Gören, 2004). eBL ile beraber TIBA uygulaması ise taze ağırlıklarda büyük bir artışa neden olmuş ve bu durum bitkiye eBL uygulansa da oksinden yoksun olan hücrelerde zar permeabilitesinin bozulmadığı şeklinde yorumlanmıştır.  $10^{-9}$  M ve  $10^{-11}$  M eBL püskürtülen vertikal deney bitkilerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarı ve protein miktarları senesensin hızlanması ile azalmış, POD aktivitesi ise artış göstermiştir. Total klorofil ve

protein miktarlarındaki azalma, Sağlam-Çağ (2004) ın kesik buğday yaprak segmentlerine  $10^{-9}$  M eBL uyguladığı deney sonuçları ile uyum göstermiştir. Senesens geçiren organlarda hızlanan katabolik reaksiyonların artışına paralel olarak POD aktivitesinde saptanan artışlar bu konu ile çalışan bazı araştırmacıların bulguları ile uyum gösterirken (He ve diğ., 1996; Kanazawa ve diğ., 2000; Sağlam-Çağ, 2004) bazı araştırmacıların bulguları ile çelişmektedir (Palavan-Ünsal ve diğ., 2004). Oksin taşınması inhibe edilen ve eBL uygulanan vertikal deney serilerinde ise senesensin gecikmesine paralel olarak total klorofil ve protein miktarları artarken, POD aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, vertikal fidelerde oksin taşınması durdurulduğunda, eBL nin etkisini gösteremediğini ortaya koymuştur.

Bu araştırmanın diğer kısmında ise  $10^{-9}$  M eBL ile  $10^{-11}$  M eBL ayrı ayrı ve TIBA ile birlikte uygulanarak horizontal konumdaki *Helianthus annuus* fidelerinin kotiledonlarında meydana gelen senesensin düzeni incelenmiştir. Sonuç olarak, özellikle  $10^{-9}$  M eBL uygulanan horizontal konumdaki deney bitkilerinin alt ve üst kotiledonlarında, vertikal ve horizontal kontrol bitkilerinin kotiledonlarına göre senesensin daha erken başlayıp erken sona erdiği saptanmıştır. eBL konsantrasyonları TIBA ile birlikte uygulandığında, eBL nin alt kotiledonlarda senesensi teşvik etmediği aksine geciktirdiği tespit edilmiştir.

Tek yönlü yerçekimi kuvvetinin etkisinde kalan fidelerde oksinler alt kısma taşındıkları için gövde negatif gravitropik cevap vermektedir (Van Overbeek ve diğ., 1945; Filner ve Hertel, 1970; Parker ve Briggs, 1990; Park, 1998; Leyser ve Day, 2003). Sentetik ve doğal oksinlerin senesensi geciktirdiği bilinmekle beraber (Stewart, 1949; Baker, 1983; Srivastava, 2002), bazı araştırmacılar tarafından senesensi hızlandırdığı ifade edilmektedir (Mishra ve Gaur, 1980; Sağlam ve Okatan, 1990; Singh ve diğ., 1992; Çağ ve diğ., 2004; Gören, 2004). Ayrıca, BL nin gravitropik eğilmeyi teşvik ettiği, bunu IAA öncülüğünde gerçekleştirdiği ve birbirleri ile karşılıklı etkileşim içinde oldukları bildirilmiştir (Kim ve diğ., 2000). Bu çalışmada, aşağı taşınan oksinlerin  $10^{-9}$  M eBL ile birlikte alt kotiledonlarda senesensi hızlandırması, eBL nin TIBA ile birlikte uygulanması durumunda ise alt kotiledonlarda senesensi geciktirmesi, oksin yetersizliğinde eBL nin senesensi teşvik etmediğini ortaya koymuştur. Bu sonuç, eBL nin tek başına senesensi teşvik etmediğini bu aktivasyon için oksine gereksinim

duyduğunu göstermektedir. Elde edilen bilgiler, oksin ile eBL nin birlikte çalıştığını söyleyen bazı literatür bilgileriyle uyum sağlarken (Cohen ve Meudt, 1983; Katsumi, 1985; Eun ve diğ., 1989; Fujioka ve diğ., 1998; Sasse, 1999; Müssig ve Altmann, 2003; Minorsky, 2004) bazıları ile ters düşmektedir (Clouse ve diğ., 2002; Tanaka ve diğ., 2003).

Bu veriler göz önüne alınırsa, eBL uygulanan horizontal konumdaki fidelerin alt kotiledonlarının üst kotiledonlara ve kontrol fidelerinin kotiledonlarına kıyasla daha önce senesense uğraması, eBL nin o kotiledonda biriken oksin ile etkileşimi şeklinde açıklanabilir. Hatta, yan yatırmadan bir gün önce eBL nin fidelere uygulanması, özellikle  $10^{-9}$  M eBL uygulanan deney fidelerinin üst kotiledonlarının horizontal kontrol üst kotiledonlarına göre daha erken senesense uğraması, üst kotiledona da uğrayan eBL nin oksin ile beraber etkileşim ihtimalini güçlendirmektedir. Yan yatırılan fidelere elde edilen tüm veriler, üst kotiledondan ya da üst kısımlardan alt kotiledona ya da alt kısımlara bir maddenin taşınabileceğini, hatta eBL nin de bu madde ile birlikte alt kotiledona taşındığını ve bunun ancak oksin varlığında gerçekleşebildiğini ortaya koymuş, bu maddenin oksin olabileceğine dikkat çekmiştir.

Vertikal ve horizontal konumdaki deney bitkilerinde, eBL nin kotiledonlarda görülen senesensi teşvik etmesine paralel olarak taze ağırlık kaybı da artmıştır. Senesens sırasında meydana gelen taze ağırlık kaybı, araştırmacılar tarafından hücre zarlarının permeabilitesinin bozulması şeklinde açıklanmıştır (Ferguson ve Simon, 1973; Gören, 2004). eBL uygulanan vertikal ve horizontal deney bitkilerinin kotiledonlarında meydana gelen senesens esnasında klorofil kaybının arttığı saptanmıştır. Bu durumu, oksin varlığında eBL nin klorofil yıkımını arttırması ile açıklamak mümkündür. Yapılan araştırmalar, eBL nin klorofil yıkımını teşvik ettiğini göstermiştir (Li ve diğ.,1996; Vardhini ve Rao, 2002).

Bu araştırmada, önemli senesens parametrelerinden biri olan protein miktarındaki değişimler incelenmiştir. Tablo 4.6, Şekil 4.8, ve Tablo 4.7, Şekil 4.9 da görüldüğü gibi total protein miktarları senesens süreci esnasında azalma göstermiştir. eBL ile birlikte TIBA uygulaması, senesensi geciktirirken protein miktarını arttırmıştır. Sadece eBL uygulanan deney bitkilerinin erken senesense uğramış olan alt kotiledonlarında protein

miktarı, vertikal kontrol bitkilerin kotiledonları ve horizontal kontrol bitkilerin üst kotiledonlarına göre daha azdır. Gravitropizmanın protein içeriği üzerine etkisi bazı araştırmacılar tarafından incelenmiştir (Oputa ve Mazelis, 1977; Bara, 1977). Bara (1977), total protein miktarında artış meydana gelmediğini kaydetmiştir. Senesens sırasında proteinlerin bir kısmı sürekli olarak sentez edilirken bir kısmı da yıkılmaktadır. Bu iki süreç arasındaki denge bitkinin senesens gibi gelişimsel evresine, iç ve stres gibi dış faktörlere göre değişmektedir. Dokularda yaşa bağlı olarak proteinlerin azaldığı da bilinen bir gerçektir (Anderson ve Rowan, 1965). Bitki, senesens evresine geçmeden önce proteolitik enzimlerin sentezinin başladığı tespit edilmiştir (Martin ve Thimann, 1972; Drivdahl ve Thimann, 1977). Ancak, senesens sinyalinin oluşumu için protein sentezine gereksinim vardır (Thayer ve diğ., 1987).

Bu çalışmada POD aktiviteleri de senesens süreci içerisinde artış göstermiştir. Yapraklarına ve hipokotiline eBL uygulanan horizontal deney bitkilerinin erken senesense uğrayan alt kotiledonlarındaki POD aktiviteleri, vertikal kontrol kotiledonları ve horizontal kontrol üst kotiledonlarına göre daha yüksek çıkmıştır. eBL nin TIBA ile birlikte uygulanması ise eBL nin etkisini ortadan kaldırmış ve POD aktivitesini düşürmüştür. POD aktivitesi, total protein ve klorofil içeriği ile negatif korelasyon göstermektedir. Bu sonuçlar, senesens sırasında peroksidaz aktivitesinin arttığını ifade eden literatürler ile uyum göstermektedir (He ve diğ., 1996; Kanazawa ve diğ., 2000; Sağlam-Çağ, 2004).

Senesens ile ilgili çalışmalar yapan araştırmacılar, yaprak senesensini teşvik eden özel bir sinyal ya da sinyallerin varlığını araştırmışlardır. Bazı araştırmacılar, fotosentezin ilk ürünleri olduğu için şekerlerin düzeyinin sinyalleşme sistemin bir parçası olabileceğini savunmaktadır (Quirino ve diğ., 2000). Yaprak senesensi sürecinde kloroplastlar, muhtemelen hayvanlarda görülen programlı hücre ölümünde mitokondrinin üstlendiği role benzer düzenleyici bir rol almaktadır. Kloroplastlardaki fotosentetik verimin ya da membran bütünlüğünün azalmasına neden olan yaşlanma ya da stres koşulları, senesens programını başlatan sinyaller zincirine dahil olabilir.

Bitkilerin yerçekimi uyartısına cevap verdikleri bilinmektedir. Bitkilerde, yerçekimi kuvvetini algılayabilen ve fizyolojik değişimlere dönüştürebilen bir sistem mevcuttur

(Ünal, 1987). Bitkilerin gravitropizma ile ilgili hormonal düzenini inceleyen çalışmalar gözden geçirildiğinde bu konunun açıklanabilmesi için çeşitli fikirler ileri sürülmüştür. Juniper (1977) ve Audus (1979), yatay konuma getirilmiş olan bir bitki organının alt ve üst yarıları arasında asimetrik hormon dağılımını incelemişlerdir. Oksinin horizontal (yatay) durumdaki fidelerin gövdelerinin alt kısmında arttığı; üst kısımda ise azaldığı ve gövdenin yukarıya doğru yöneldiği bilinmektedir (Leysler ve Day, 2003). Sağlam ve Okatan (1990) da benzer şekilde ayçiçeği fidelerini yan yatırmış, alt kotiledonda meydana gelen senesensin üst kotiledonlardakinden daha önce ve daha hızlı bir şekilde gerçekleştiğini saptamıştır. Bu farkı, yerçekiminden kaynaklanan asimetrik oksin dağılımı ile açıklamıştır. Daha sonra oksinin horizontal (yatay) durumdaki fidelerin alt kısmında arttığı; üst kısmında ise azaldığı ve gövdenin yukarıya doğru yöneldiği Park (1998) tarafından da ortaya konmuştur. Oksinin teşvik ettiği bazı yanıtların BR ile sinerjistik olarak artırıldığı, bu iki hormonun da bitki gelişim sürecinde birbirlerini etkiledikleri bilinmektedir (Katsumi, 1985; Eun ve diğ., 1989; Kim ve diğ., 1990; Fujioka ve diğ., 1998; Sasse, 1999; Müssig ve Altmann, 2003; Minorsky, 2004). Nitekim, Meudt (1987) BR uygulamasının fasulye hipokotillerinin gravitropik yanıtını arttırdığını ortaya koymuştur. Domates hipokotillerinde BR nin gravitropik yanıtı artırması (Park, 1998), BR lerin gövde gravitropizmasının düzenlenmesine katılabilecekleri fikrini güçlendirmiştir. Ayrıca, BL nin teşvik ettiği gravitropik eğilmenin IAA öncülüğünde gerçekleştiği ve BL nin gravitropik yanıt sırasında oksin ile karşılıklı etkileşim içinde olduğu bildirilmiştir (Kim ve diğ., 2000). Gravitropik yanıtın aktivasyonu, bir polar oksin taşınma inhibitörü olan 2,3,5-triiodobenzoik asitin uygulanması ile inhibe edilmiştir.

Bu araştırmada, yan yatırılan ve eBL uygulanan deney fidelerinin alt kotiledonlarında üst kotiledonlara kıyasla daha erken senesens meydana gelmesi; TIBA ile birlikte uygulanan eBL nin aksine alt kotiledonlarda üst kotiledonlara kıyasla senesensi oldukça geciktirmesi ve üst kotiledonların daha önce senesense uğraması, BR lerin gravitropik yanıt için oksin-aracılı bir sürece katıldığına işaret etmektedir. Nitekim, IAA nın neden olduğu gravitropik yanıt esnasında BR düzeyinin arttığı bulunmuştur (Park, 1998). Yan yatırılan fidelere TIBA uygulaması ile alt kotiledonlarda oksin yokluğunda senesens gecikmiş, bu sonuçlar oksinin senesensi geciktirdiğini ifade eden literatürler ile çelişki göstermiştir (Stewart, 1949; Baker, 1983; Srivastava, 2002). Aynı zamanda bu

bitkilerde eBL nin asimetrik dağılımı gözönüne alındığında alt kotiledonlarda senesensin oldukça gecikmesi, eBL nin oksin yokluğunda tek başına senesensi teşvik etmediğini aksine senesensi geciktirdiğini ortaya koymuştur. Elde edilen veriler, eBL nin senesensi geciktirdiği yönündeki araştırmalar ile uyum göstermektedir (Srivastava, 2002).

Yaprak senesensini düzenleyen sürecin aydınlatılması, senesens olgusunun temelini oluşturan biyolojiyi ve bitkinin yaşam döngüsünü anlamamız açısından büyük önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

- ALTMANN, T., 1999, Molecular Physiology of Brassinosteroids Revealed by the Analysis of Mutants, *Planta*, 208, 1-11.
- ANDERSON, J.W. ve ROWAN, K.S., 1965, Activity of Peptidase in Tobacco Leaf Tissue in Relation to Senescence, *Biochem. J.*, 97, 741-746.
- ANSARI, M.I., LEE, R-H. ve CHEN, S-C.G., 2005, A Novel Senescence-Associated Gene Encoding  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA):Pyruvate Transaminase Is Upregulated during Rice Leaf Senescence, *Physiologia Plantarum*, 123, 1-8.
- ARNON, D.I., 1949, Copper Enzymes in Isolated Chloroplast Poyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol.*, 24, 1-15.
- ARTECA, J.M. ve ARTECA, R.N., 2001, Brassinosteroid-induced Exaggerated Growth in Hydroponically Grown *Arabidopsis* Plants, *Physiologia Plantarum*, 112, 104-112.
- ARTECA, R.N., 1996, *Plant Growth Substances: Principles and Applications*, Chapman and Hall, New York. pp. 10-185.
- AUDUS, L.J., 1979, Plant Geosensor, *J. Exp. Bot.*, 30, 1050-1073.
- BAJGUZ, A., 2000, Blockade of Heavy Metals Accumulation in *Chlorella vulgaris* Cells by 24-epibrassinolide, *Plant Physiology and Biochemistry*, 38, 797-801.
- BAJGUZ, A. ve TRETYN, A., 2003, The Chemical Characteristic and Distribution of Brassinosteroids in Plants, *Phytochemistry*, 62, 1027-1046.
- BAKER, J.E., 1983, *Preservation of Cut Flowers*, In: Plant Growth Regulating Chemicals, Nickell, L.G., Ed., 2, 177-191. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- BARA, M., 1977, The Effect of Horizontal Clinostat on Growth, Water and Protein Contents in *Helianthus annuus* Hypocotyls, *Acides Nucleiques et Synthèse des Proteines Chez Les Vegetaux*, Colloques Internationaux C.N.R.S., 261, 623-633.
- BATE, N.J., ROTHSTEIN, S.J. ve THOMPSON, J.E., 1990, Expression of nuclear and chloroplast photosynthesis-specific genes during leaf senescence, *J. Exp. Bot.*, 239, 801-811.
- BEEVERS, L. ve GUERNSEY, F.S., 1967, Interaction of Growth Regulators in the Senescence of Nasturdium Leaf Disks, *Nature*, 214, 941-942.

- BELKNAP, W.R. ve GARBARINO, J.E., 1996, The role of ubiquitin in plant senescence and stress responses, *Trends Plant Sci.*, 1, 331-335.
- BIRECKA, H., BRIBER, K.A. ve CATALFAMO, J.L., 1973, Comparative Studies on Tobacco Pith and Sweet Potato Root Isoperoxidases in Relation to Injury, Indoleacetic Acid and Ethylene Effects, *Plant Physiol.*, 52, 43-49.
- BISHOP, G.J. ve KONCZ, C., 2002, Brassinosteroids and Plant Steroid Hormone Signalling, *The Plant Cell*, 14, 97-110.
- BISHOP, G.J., NOMURA, T., YOKOTA, T., HARRISON, K., NOGUCHI, T., FUJIOKA, S., TAKATSUTO, S., JONES J.D.G. ve KAMIYA, Y., 1999, The Tomato DWARF Enzyme Catalyses C-6 Oxidation in Brassinosteroid Biosynthesis, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(4), 1761-1766.
- BISHOP, G.J. ve YOKOTA, T., 2001, Plants Steroid Hormones, Brassinosteroids: Current Highlights of Molecular Aspects on Their Synthesis/Metabolism, Transport, Perception and Response, *Plant and Cell Physiology*, 42(2), 114-120.
- BISWAL, B. ve BISWAL, U.C., 1999, Leaf Senescence: Physiology and Molecular Biology, *Curr. Sci.*, 77, 775-782.
- BLEECKER, A.B. ve PATTERSON, S.E., 1997, Last Exit: Senescence, Abscission and Meristem Arrest in *Arabidopsis*. *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.
- BORRELL, A.K., HAMMER, G.L. ve DOUGLAS, A.C.L., 2000, Does Maintaining Green Leaf Area in Sorghum Improve Yield under Drought? I. Leaf Growth and Senescence, *Crop. Sci.*, 40, 1026-1037.
- BRADFORD, R., 1976, A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye-Binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- BROWN, A.H., CHAPMAN, D.K., LEWIS, R.F. ve VENDITTI, A.L., 1990, Circumnutations of Sunflower Hypocotyls in Satellite Orbit, *Plant Physiol.*, 94, 233-238.
- BUCHANAN-WOLLASTON V., 1997, The Molecular Biology of Leaf Senescence, *Journal of Experimental Botany*, 48, 181-199.
- BUCHANAN-WOLLASTON, V. ve AINSWORTH, C., 1997, Leaf Senescence in *Brassica napus*: Cloning of Senescence Related Genes by Subtractive Hybridization, *Plant Mol. Biol.*, 33, 821-834.

- BUCHANAN-WOLLASTON, V., EARL, S., HARRISON, E., MATHAS, E., NAVABPOUR, S., PAGE T. ve PINK, D., 2003, The Molecular Analysis of Leaf Senescence: A Genomics Approach, *Plant Biotechnology Journal*, 1, 3-22.
- CEVAHİR, G., 1992, The Relationship between Salt Stress and Senescence in *Helianthus annuus* Seedlings, *İstanbul Üniv. Fen Fak. Biyoloji Der.*, 56, 35-36.
- CHEN, R., ROSEN, E., MASSON, P.H., 1999, Gravitropism in Higher Plants, *Plant Physiol.*, 120:343-350.
- CHOI, Y.H., FUJIOKA, S., NOMURA, T., HARADA, A., YOKOTA, T., TAKATSUTO, S., SAKURAI, A., 1997, An Alternative Brassinolid Biosynthetic Pathway via Late C6-Oxidation, *Phytochemistry*, 44, 609-613.
- CIESIELSKI, T., 1872, Untersuchungen Über Die Abwärtskrümmung Der Wurzel, *Beitr Biol. Pflanz*, 1, 1-30.
- CLOUSE, S.D., 2001, Integration of Light and Brassinosteroid Signal in Etiolated Seedling Growth, *Trends in Plant Science*, 6, (10), 443-445.
- CLOUSE, S.D., 2002, Brassinosteroids, *American Society of Plant Biologists*, 1-23.
- CLOUSE, S.D., HALL, A.F., LANGFORD, M., MCMORRIS, T.C. ve BAKER, M.E.J., 1993, Physiological and Molecular Effects of Brassinosteroids on *Arabidopsis thaliana*, *J. Plant Growth Regul.*, 12: 61-66.
- CLOUSE, S.D. ve SASSE, J.M., 1998, Brassinosteroids: Essential regulators of Plant Growth and Development, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*, 49, 427-451.
- CLOUSE, S.D. ve ZUREK, D., 1991, Molecular Analysis of Brassinolide Action in Plant Growth and Development. In HG Cutler, T Yokota, G Adam, eds, *Brassinosteroids; Chemistry, Bioactivity and Applications*, ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC, pp 122-140.
- CLOUSE, S.D., ZUREK, D.M., MCMORRIS, T.C. ve BAKER, M.E., 1992, Effect of Brassinolide on Gene Expression in Elongating Soybean Epicotyls, *Plant Physiology* (Bethesda), 100, 1377-1383.
- COHEN, J.D. ve MEUDT, W.T., 1983, Investigation on the Mechanism of the Brassinosteroid Response: I. Indole-3-Acetic Acid Metabolism and Transport, *Plant Physiol.*, 72, 691-694.
- CRAFTS-BRANDNER, S.J., SALVUCCI, M.E., EGLI, D.B., 1990, Changes in Ribulose Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase and Ribulose 5-phosphate Kinase Abundance and Photosynthetic Capacity during Leaf Senescence. *Photosynthesis Research*, 23, 223-230.

- ÇAĞ, S., CEVAHİR, G., ÜNAL, M., KAPLAN, E., ÇİNGİL, Ç. ve KÖSESAKAL, T., 2004, The Effect of Zn, Cu and Mn on Senescence in Excised Cotyledons of *Eruca sativa* L., *FEB*, 13(8), 733-739.
- DANGL, J.L., DIETRICH, R.A., THOMAS, H., 2000, Senescence and Programmed Cell Death, in *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Edited by Buchanan B., Grussem W., Jones R. Rockville: *American Society of Plant Physiologists*, 1044-1100.
- DARWIN, C., 1880, *The Power of Movement in Plants*, John Murray, London.
- DEBELLIS, L., PICCIARELLI, P., PISTELI, L. ve ALPI, A., 1990, Localization of Glyoxylate-Cycle Marker Enzymes in Peroxisomes of Senescent Leaves and Green Cotyledons, *Planta*, 180,435-439.
- DELORME, V.G.R., McCabe, P.F., KIM, D-J., LEAVER, C.J., 2000, A Matrix Metalloproteinase Gene Is Expressed At The Boundary of Senescence and Programmed Cell Death in Cucumber, *Plant Physiol.*, 123, 917-927.
- DEL RIO, L.A., SANDALIO, L.M., ALTOMARE, D.A. ve ZILINSKAS, B.A., 2003, Mitochondrial and Peroxisomal Manganese Superoxide Dismutase: Differential Expression during Leaf Senescence, *J. Exp. Bot.*, 54, 923-933.
- DERMAN, B.D., RUPP, D.C. ve NOODEN, L.D., 1978, Mineral Distribution in Relation to Fruit Development and Monocarpic Senescence in Anoka Soybeans, *Amer. J. Bot.*, 65(2), 205-213.
- DONG, J., W., LOU, S.S., HAN, B.W., HE, Z.P. ve LI, P.M., 1989, in *Brassinosteroids Chemistry, Bioactivity, and Applications* (eds Cutler, H.G., Yokota, T., and Adam, G.), Am. Chem. Soc., Washington DC, 306-311.
- DRIVDAHL, R.H. ve THIMANN, K.V., 1977, The Proteases of Senescing Oat Leaves, I. Purification and General Properties, *Plant Physiol.*, 59, 1059-1063.
- ENGVILD, K. C., 1989, The Death Hormone Hypothesis, *Physiol. Plant.*, 77, 282-285.
- EUN, J-S., KURAISHI, S., SAKURAI, N., 1989, Changes in Levels of Auxin and Abscisic Acid and the Evolution of Ethylene in Squash Hypocotyls after Treatment with Brassinolid, *Plant Cell Physiol.*, 30, 807-810.
- EVANS, R.M., 1988, The Steroid and Thyroid Hormone Receptor Superfamily, *Science*, 240, 889-895.
- FERGUSON, H.R. ve SIMON, E.W., 1973, Membrane Lipids in Senescing green Tissues, *Jour. Exp. Bot.*, 24, 307-316.
- FILNER, B. ve HERTEL, R., 1970, Some Aspects of Geotropism in Coleoptiles, *Planta*, 94, 333-354.

- FRIEDRICHSEN, D. ve CHORY, J., 2001, Steroid Signalling in Plants: from the Cell Surface to the Nucleus, *BioEssays*, 23, 1028-1036.
- FUJIKI, Y., YOSHIKAWA, Y., SATO, T., INADA, N., ITO, M., NISHIDA, I. ve WATANABE, A., 2001, Dark-inducible Genes from *Arabidopsis thaliana* are Associated with Leaf Senescence and Repressed by Sugars, *Physiologia Plantarum*, 111, 345-352.
- FUJIOKA, S., 1999, Natural Occurrence of Brassinosteroids in the Plant Kingdom, In A. Sakurai, T. Yokota, S.D. Clouse eds. *Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones*, Springer-Verlag, Tokyo.
- FUJIOKA, S. ve SAKURAI, A., 1997, Brassinosteroids, *Natural Product Reports*, 14(1), 1-10.
- FUJIOKA, S., NOGUCHI, T., TAKATSUTO, S. ve YOSHIDA, S., 1998, Activity of Brassinosteroids in the Dwarf Rice Lamina Inclination Bioassay, *Phytochemistry*, 49, 1841-1848.
- GALSTON, A. W. ve DAVIES, P. J., 1970, *Control Mechanisms in Plant Development*, Prentice-Hall, Inc., New Jersey. pp. 40 -55, 164-172.
- GAN, S. ve AMASINO, R.M., 1995, Inhibition of Leaf Senescence by Autoregulated Production of Cytokinin, *Science*, 270, 1986-1988.
- GAN, S. ve AMASINO, R.M., 1996, Cytokinins in Plant Senescence: from Sprey and Pray to Clone and Play, *BioEssays*, 18, 557-565.
- GAN, S. ve AMASINO, R.M., 1997, Making Sense of Senescence: Molecular Genetic Regulation and Manipulation of Leaf Senescence, *Plant Physiology*, 113, 313-319.
- GEUNS, J.M.C., 1978, Steroid Hormones and Plant Growth and Development, *Phytochemistry*, 17, 1-14.
- GÖREN, N., 2004, *Helianthus annuus L. Fidelerinde Sırasal Yaprak Senesensine Oksin ve Sitokininlerin Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- GRAHAM, I.A., LEAVER, C.J. ve SMITH, S.M., 1992, Induction of Malate Synthase Gene Expression in Senescent and Detached Organs of Cucumber, *Plant Cell*, 4, 349-357.
- GRBIĆ, V. ve BLEECKER, A.B., 1995, Ethylene Regulates the Timing of Leaf Senescence in *Arabidopsis*, *Plant J.*, 8, 595-602.
- GREENBERG, J.T., 1996, Programmed Cell Death: A New Way of Life for Plants, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 12094-12097.

- GROVE, M.D., SPENCER G.F., ROHWEDDER W.K., MANDAVA N., WORLEY J.F., WARTHEN JR. J.D., STEFFENS G.L., FLIPPEN-ANDERSON J.L. ve COOK JR. J.C., 1979, Brassinolide, A Plant Growth Promoting Steroid Isolated from *Brassica napus* Pollen, *Nature*, 281, 216-217.
- GROVER, A., 1993, How do Senescing Leaves Lose Photosynthetic Activity? *Current Science*, 64, 226-234.
- GROVER, A. ve MOHANTY, P., 1992, *Leaf Senescence-Induced Alterations in Structure and Function of Higher Plant Chloroplasts*, In: Abrol YP, Mohanty P, Govindjee, eds. *Photosynthesis: photo-reactions to plant productivity*, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- GUARENTE, L., RUVKUN, G. ve AMASINO, R., 1998, Aging, Life Span, and Senescence, *PNAS*, 95, 11034-11036.
- HALSTEAD, T.W. ve DUTCHER, F.R., 1987, Plants in Space, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 38, 317-345.
- HART, J.W., 1989, *Plant Tropism and Other Growth Movements*, Chapman&Hall, 2-6 Boundary Row, London.
- HAYAT, S. ve AHMAD, A., 2003, 28-Homobrassinolide Induced Changes Favoured Germinability of Wheat Grains, *Bulg. Journal of Plant Physiology*, 29, 55-62.
- HAYATI, R., EGLI, D.B., CRAFTS-BRANDNER, S.J., 1995, Carbon and Nitrogen Supply during Seed Filling and Leaf Senescence in Soybean, *Crop Sci.*, 35, 1063-1069.
- HE, P., OSAKI, M., TAKEBE, M., SHINANO, T. ve WASAKI, J., 2005, Endogenous Hormones and Expression of Senescence-Related Genes in Different Senescent Types of Maize, *Journal of Experimental Botany*, 56, 1117-1128.
- HE, Y.J. ve GAN, S., 2002, A Gene Encoding an Acyl Hydrolase Is Involved in Leaf Senescence in Arabidopsis, *Plant Cell*, 14, 805-815.
- HE, Y., XU, R. ve ZHAO, Y., 1996, Enhancement of Senescence by Epibrassinolide in Leaves of Mung Bean Seedling, *Acta Phytophysiologica Sinica*, 22, 58-62.
- HE, Y., TANG, W., SWAIN, J., GREEN, A., JACK, T. ve GAN, S., 2001, Networking Senescence-regulating Pathways by Using *Arabidopsis* Enhancer Trap Lines, *Plant Physiology*, 126, 707-716.
- HENSEL, L.L., GRBIĆ, V., BAUMGARTEN, D.A. ve BLEECKER, A.B., 1993, Developmental and Age-Related Processes that Influence the Longevity and Senescence of Photosynthetic Tissues in Arabidopsis, *Plant Cell*, 5, 553-564.
- HIMELBLAU, E. ve AMASINO, M., 2001, Nutrients Mobilized from Leaves of *Arabidopsis thaliana* during Leaf Senescence, *J. Plant Physiol.*, 158, 1317-1323.

- HOSON, T., SOGA, K., MORI, R., SAIKI, M., WAKABAYASHI, K., KAMISAKA, S., KAMIGAICHI, S., AIZAWA, S., YOSHIZAKI, I., MUKAI, C., SHIMAZU, T., FUKUI, K. ve YAMASHITA, M., 1999, Morphosis of Rice and *Arabidopsis* Seedlings in Space, *J. Plant Res.*, 112, 477-486.
- HORTENSTEINER, S. ve FELLER, U., 2002, Nitrogen Metabolism and Remobilization during Senescence, *J. Exp. Bot.*, 53, 927-937.
- IWAHARI, S., TOMINAGA, S. ve HIGUCHI, S., 1990, Retardation of Abscission of Citrus Leaf and Fruitlet Explants by Brassinolide, *Plant Growth Regulators*, 9, 119-126.
- JANG, J.-C., LEON, P., ZHOU, L., SHEEN, J., 1997, Hexokinase as A Sugar Sensor in Higher Plants, *Plant Cell*, 9, 5-19.
- JIANG, C.Z., RODERMEL, S.R. ve SHIBLES, R.M., 1993, Photosynthesis, Rubisco Activity and Amount, and Their Regulation by Transcription in Senescing Soybean Leaves, *Plant Physiol.*, 101, 105-112.
- JONES, A.M. ve DANGL, J.F., 1996, Logjam At The Styx: Programmed Cell Death in Plants, *Trends Plant Sci.*, 1, 114-119.
- JONES, J.L. ve RODDICK, J.G., 1988, Steroidal Oestrogens and Androgens in Relation to Reproductive Development in Higher Plants, *J. Plant Physiol.*, 133, 510-518.
- JUNIPER, B.E., 1977, *Testing the Mechanism of Gravity Sensing in Plants*, Life-Sciences Research in Space (Burke, W.R. and Guyenne, T.D., ed.), Noordwijk, The Netherlands, E.S.A. Scientific and Technical Publication Branch, 203-212.
- KAMACHI, K., YAMAYA, T., HAYAKAWA, T., MAE, T. ve OJIMA, K., 1992, Changes in Cytosolic Glutamine Synthetase Polypeptide and its mRNA in Leaf Blade of Rice Plants during Natural Senescence, *Plant Physiol.*, 98, 1323-1329.
- KAMURO, Y. ve TAKATSUTO, S., 1999, in *Brassinosteroids-Chemistry, Bioactivity and Application*, ACS Symp. Ser. (eds cutler, H.G., Yokota, T., and Adam, G.), Am. Chem. Soc., Washington DC, 292-297.
- KANAZAWA, S., SANO, S., KOSHIBA, T. ve USHIMARU, T., 2000, Changes in Antioxidative Enzymes in Cucumber Cotyledons during Natural Senescence: Comparison with Those during Dark-induced Senescence, *Physiologia Plantarum*, 109, 211-216.
- KAPPERS, I.F., JORDI, W., MAAS, F.M., STOOPEN, G.M. ve VAN DER PLAS, L.H.W., 1998, Gibberellin and Phytochrome Control Senescence in *Alstroemeria* Leaves Independently, *Physiol. Plant.*, 103, 91-98.
- KAUP, M.T., FROESE, C.D, THOMPSON, J.E., 2002, A Role of Diacylglycerol Acyltransferase during Leaf Senescence, *Plant Physiol.*, 129, 1616-1626.

- KATSUMI, M., 1985, Interaction of A Brassinosteroid with IAA and GA<sub>3</sub> in The Elongation of Cucumber Hypotyl Sections, *Plant and Cell Physiology*, 26, 615-625.
- KATSUMI, M., 1991, Physiological Modes of Brassinolide Action in Cucumber Hypocotyl Growth, In *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity, & Applications*, Cutler HG, Yokota T, Adam G eds (Washington, D.C.: American Chemical Society), pp. 246-254.
- KAWAKAMI, N. ve WATANABE, A., 1988, Senescence-specific Increase in Cytosolic Glutamine Synthetase and Its mRNA in Radish Cotyledons, *Plant Physiol.*, 88, 1430-1434.
- KHANNA-CHOPRA, R., SRIVALLI, B. ve AHLAWAT, Y.S., 1999, Drought Induces Many Forms of Cysteine Proteases Not Observed During Natural Senescence, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 255, 324-327.
- KHRIPACH, V.A., ZHABINSKII, V.N. ve DE GROOT, A.E., 2000, Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for XXI Century, *Annals of Botany*, 86, 441-447.
- KIM, S-K., ABE, H., LITTLE, C.H.A, PHARIS, R.P., 1990, Identification of Two Brassinosteroids from Cambial Region of Scots pine (*Pinus silverstris*) by Gas chromatography-mass Spectrometry, after Detection Using a Dwarf Rice Lamina Inclination Bioassay, *Plant Physiol.*, 94, 1709-1713.
- KIM, S-K., CHANG, S.C., EUN, J.L., CHUNG, W-S., KIM, Y-S., HWANG, S. ve LEE, J.S., 2000, Involvement of Brassinosteroids in the Gravitropic Response of Primary Root of Maize, *Plant Physiol.*, 123, 997-1004.
- KISS, J.Z., KATAMBE, W.J. ve EDELMANN, R.E., 1998, Gravitropism and Development of Wild-type and Starch-deficient Mutant of *Arabidopsis* during Spaceflight, *Physiol., Plant.*, 102, 493-502.
- KULAEVA, O.N., BURKHANOVA, E.A., FEDINA, A.B., KHOKHLOVA, V.A., BOKEBAYEVA, G.A., VORBRODT, H.M. ve ADAM, G., 1991, Effect of Brassinosteroids on Protein Synthesis and Plant-cell Ultrastructure under Stress Conditions, In *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity, & Applications*, Cutler HG, Yokota T, Adam G eds (Washington, D.C.: American Chemical Society), pp. 141-155.
- LEOPOLD, A.C., 1961, Senescence in Plant Development, *Science*, 134, 1727-1732.
- LEUBNER-METZGER, G., 2001, Brassinosteroids and Gibberellins Promote Tobacco Seed Germination by Distinct Pathways, *Planta*, 213, 758-763.
- LEYSER, O. ve DAY, S., 2003, *Mechanisms in Plant Development*, Blackwell Science Ltd., 0-86542-742-9.

- LI, J. ve CHORY, J., 1999, Brassinostreoid Actions in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 50, 275-282.
- LI, J.M., NAGPAL, P., VITART, V., MCMORRIS, T.C., CHORY, J., 1996, A Role for Brassinosteroids in Light Dependent Development of Arabidopsis, *Science*, 272, 398-401.
- LIM, P.O., WOO, H.R., NAM, H.G., 2003, Molecular Genetics of Leaf Senescence in *Arabidopsis*, *Trends in Plant Science*, 8(6), 272-278.
- LINDOO, S.S. ve NOODÉN, L.D., 1976, The Interrelation of Fruit Development and Leaf Senescence in Anoka Soybeans, *Bot. Gaz.*, 137, 218-223.
- LINDOO, S.S. ve NOODÉN, L.D., 1977, Studies on the Behavior of the Senescence Signal in Anoka Soybeans, *Plant Physiol.*, 59, 1136-1140.
- LOHMAN, K.N., GAN, S., JOHN, M.C., AMASINO, R.M., 1994, Molecular Analysis of Natural Leaf Senescence in *Arabidopsis thaliana*, *Physiol. Plant*, 92, 322-328.
- MANDAVA, N.B., 1988. Plant Growth-Promoting Brassinosteroids, *Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, 39, 23-52.
- MARTIN, C., ve THIMANN, K.V., 1972, The Role of Protein Synthesis in the Senescence of Leaves, I. The Formation of Protease, *Plant Physiol.*, 49, 64-71.
- MASCLAUX, C., VALADIER, M-H., BRUGIERE, N., MOROT-GAUDRY, J-F. ve HIREL, B., 2000, Characterization of the Sink/Source Transition in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Shoot in Relation to Nitrogen Management and Leaf Senescence, *Planta*, 211, 510-518.
- MATILE, P., HORTENSTEINER, S. ve THOMAS, H., 1999, Chlorophyll Degredation, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 67-95.
- MEUDT, W.T., 1987, Investigations on Mechanism of the Brassinosteroid Response: VI. Effect of Brassinolide on Gravitropism of Bean Hypocotyls, *Plant Physiol.*, 83:195-198.
- MICHELINI, F.M., RAMIREZ, J.A., BERRA, A., GALAGOVSKY, L.R., ALCHÉ, L.E., 2004, In Vivo and In Vivo Antiherpetic Activity of Three New Synthetic Brassinosteroid Analogues, *Steroids*, 69, 713-720.
- MINORSKY, P.V., 2004, On the Inside, Interactions between Auxin and Brassinosteroids, *Plant Physiol.*, 134, 1293-1294.
- MISHRA, S.D. ve GAUR, B.K., 1980, Growth Regulator Control of Senescence in Disc of Betel (*Piper betle* L.) Leaf, *Indian J.Exp. Biol.*, 18, 297-298.

- MITCHELL, J.W., MANDAVA, N.B., WORLEY, J.F., PLIMMER J.R. ve SMITH, M.V., 1970, Brassins-A New Family of Plant Hormones from Rape Pollen, *Nature*, 225, 1065-1066.
- MIYAMOTO, K., OKA, M., UEDA, J., HOSON, T. ve KAMISAKA, S., 1995, The Senescence of Oat Leaf Segments Is Promoted under Simulated Microgravity Condition on a Three-dimensional Clinostat, *Biol. Sci. Space*, 9, 327-330.
- MORRIS, K.A.-H., MACKERNESS, S., PAGE, T., JOHN, C.F., MURPHY, A.M., CARR, J.P. ve BUCHANAN-WOLLASTON, V., 2000, Salicylic Acid has a Role in Regulating Gene Expression during Leaf Senescence, *Plant J.*, 23, 677-685.
- MUSGRAVE, M.E., KUANG, A. ve MATTHEWS, S.W., 1997, Plant Reproduction during Spaceflight: Importance of the Gaseous Environment, *Planta*, 203, S177-S184.
- MUSGRAVE, M.E., KUANG, A., XIAO, Y., STOUT, S.C., BINGHAM, G.E., BRIARTY, L.G., LEVINSKIKH, M.A., SYCHEV, V.N. ve PODOLSKI, I.G., 2000, Gravity Independence of Seed-to-Seed Cycling in *Brassica rap.*, *Planta*, 210, 400-406.
- MUSSIG, C., 2005, Brassinosteroid-Promoted Growth, *Plant Biol.*, 7 (2), 110-117.
- MUSSIG, C. ve ALTMANN, T., 1999, Physiology and Molecular Mode of Action of Brassinosteroids, *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(5), 363-372.
- MUSSIG, C. ve ALTMANN, T., 2001, Brassinosteroid Signalling in Plants, *Trends in Endocrinology&Metabolism*, 12, (9), 398-402.
- MUSSIG, C. ve ALTMANN, T., 2003, Genomic Brassinosteroid Effects, *J. Plant Growth Regulation*, 22, 313-324.
- NAM, H.G., 1997, The molecular genetic analysis of leaf senescence, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 200-207.
- NEMHAUSER, J.L. ve CHORY, J., 2004, BRing It on: New Insights into the Mechanism of Brassinosteroid Action, *Journal of Experimental Botany*, 55(395), 265-270.
- NISHIKAWA, N., TOYAMA, S., SHIDA, A. ve FUTATSUYA, F., 1994, The Uptake and Transport of <sup>14</sup>C-labelled Epibrassinolide in Intact Seedlings of Cucumber and Wheat, *Journal of Plant Research*, 107, 125-130.
- NOH, Y.-S. ve AMASINO, R. M. 1999, Identification of a Promoter Region Responsible for the Senescence-specific Expression of SAG12, *Plant Mol. Biol.*, 41, 181-194.

- NOGUCHI, T., FUJIOKA, S., CHOE, S., TAKATSUTO, S., TAX, F.E., YOSHIDA S. ve FELDMANN, K.A., 2000, Biosynthetic Pathways of Brassinolide in *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 124(1), 201-209.
- NOMURA, T., KITASAKA, Y., TAKATSUTO, S., REID, J.B., FUKAMI, M., YOKOTA, T., 1999, Brassinosteroid/sterol Synthesis and Plant Growth as Affected by *Ika* and *Ikb* Mutations of Pea, *Plant Physiol.*, 119, 1517-1526.
- NOMURA, T., SATO, T., BISHOP, G.J., KAMIYA, Y., TAKATSUTO, S. ve YOKOTA, T., 2001, Accumulation of 6-deoxocathasterone and 6-deoxocastasterone in *Arabidopsis*, Pea and Tomato is Suggestive of Common Rate-limiting Steps in Brassinosteroid Biosynthesis, *Phytochemistry*, 57(2), 171-178.
- NOODÉN, L.D. ve GUIAMET, J.J., 1996, *Genetic Control of Senescence and Aging in Plants*, In *Handbook of the Biology of Aging*, 4th ed, E.L. Schneider and J.W. Rowe, eds (San Diego, CA: Academic Press).
- NOODÉN, L.D., GUIAMET, J.J. ve JOHN, I., 1997, Senescence mechanisms, *Physiol. Plant.*, 101, 746-753.
- NOODÉN, L.D. ve LEOPOLD, A.C., 1978, *Phytohormones and Related Compounds*, Elsevier, Amsterdam, 0-444-80054-9.
- NOODÉN, L.D., ve LEOPOLD, A.C., 1988, *Senescence and Aging in Plants*, Academic Press, San Diego, 0-12-520920-7.
- NOODÉN, L.D. ve LETHAM, D.S., 1993, Cytokinin Metabolism and Signalling in the Soybean Plant, *Aust. J. Plant Physiol.*, 20, 639-653.
- NOODÉN, L.D. ve MURRAY, B.J., 1982, Transmission of the Monocarpic Senescence Signal Via the Xylem, *Plant Physiol.*, 69(4), 754-756.
- NOODÉN, L.D. ve PENNEY, J.K., 2001, Correlative controls of senescence and plant death in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae), *Journal of Experimental Botany*, Vol.52, No.364, 2151-2159.
- OKATAN, Y., KAHANAK, G.M. ve NOODÉN, 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 Sirasal Yaprak Senesensi Üzerine TIBA Etkisi, *XII. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildirisi*, 17-20 Eylül, İstanbul, Cilt 1: 22-31.
- OPUTA, C.O. ve MAZELIS, M., 1977, Simulated Hypogravity and Proline Incorporation into Salt-Extractable Macromolecules from Cell Walls, *Phytochemistry*, 16, 673-675.

- PALAVAN-ÜNSAL, N., ÇAĞ, S. ve ÇETİN, E., 2004, The Role of Meta-topolin Senescence of Wheat Leaf Segments, *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3, 23-31.
- PARK, J-H., OH, S.A., KIM, Y.H., WOO, H.R. ve NAM, H.G., 1998, Differential Expression of Senescence-associated mRNAs during Leaf Senescence Induced by Different Senescence Inducing Factors in *Arabidopsis*, *Plant Mol Biol.*, 37, 445-454.
- PARK, W.J., 1998, Effect of Epibrassinolide on Hypocotyl Growth of the Tomato Mutant *diageotropica*. *Planta*, 207, 120-124.
- PARKER, K.E. ve BRIGGS, N.R., 1990, Transport of Indole-3-Acetic Acid during Gravitropism in Intact Maize Coleoptiles, *Plant Physiol.*, 94, 1763-1769.
- PARTHIER, B., 1990, Jasmonates: Hormonal Regulators or Stress Factors in Leaf Senescence, *J. Plant Growth Regul.*, 9, 445-454.
- PASTORI, G.M. ve del Rio, L.A., 1994, An Activated Oxygen-Mediated Role for Peroxisomes in The Mechanism of Senescence of Pea Leaves, *Planta*, 193, 385-391.
- PASTORI, G.M. ve del Rio, L.A., 1997, Natural Senescence of Pea Leaves, An Activated Oxygen-Mediated Function for Peroxisomes, *Plant Physiol.*, 113, 411-418.
- PENNEL, R.I. ve LAMB, C., 1997, Programmed Cell Death in Plants, *Plant Cell*, 9, 1157-1168.
- PICTON, S., BARTON, S.L., BOUZAYEN, M., HAMILTON, A.J. ve GRIERSON, D., 1993, Altered Fruit Ripening and Leaf Senescence in Tomatoes Expressing An Antisense Ethylene-forming Enzyme Transgene, *Plant J.*, 3, 469-481.
- PIPATTANAWONG, N., FUJISHIGE, N., YAMANE, K. ve OGATA, R., 1996, Effects of Brassinosteroid on Vegetative and Reproductive Growth in Two Day-Neutral Strawberries, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 65, 651-654.
- PRIESTLEY, D.A., 1986, *Seed Aging* - Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY, 0-8014-1865-8.
- QUIRINO, B.F., NOH, Y.S., HIMELBLAU, E. ve AMASINO, R.M., 2000, Molecular Aspects of Leaf Senescence, *Trends in Plant Science*, 5, 278-282.
- QUIRINO, B.F., REITER, W-D. ve AMASINO, R.D., 2001, One of Two Tandem *Arabidopsis* Gene Homologous to Monosaccharide Transporters is Senescence-Associated, *Plant Mol Biol.*, 2001, 46, 447-457.

- RAO, S.S.R., VARDHINI, B.V., SUJATHA, E. ve ANURADHA, S., 2002, Brassinosteroids-A New Class of Phytohormones, *Current Science*, 82(10), 1239-1245.
- REYES-ARRIBAS, T., BARRETT, J.E., HUBER, D.J., NELL, T.A. ve CLARK, D.G., 2001, Leaf Senescence in A Non-Yellowing Cultivar of Chrysanthemum (*Dendranthame grandiflora*), *Physiol. Plant*, 111, 540-544.
- ROBERTS, 1988, *Seed Aging: The Genome and Its Expression*, -In Senescence and Aging in Plants (L.D. Noodén and A.C. Leopold, eds), pp. 465-498, Academic Press, San Diego, CA, 0-12-520920-7.
- ROLLAND, F., MOORE, B., SHEEN, J., 2002, Sugar Sensing and Signalling in Plants, *Plant Cell*, 14, 185-205.
- RONSCH, H., ADAM, G., MATSCHE, J. ve SCHLACHLER, G., 1993, Influence of (22S,23S)-homobrassinolide on Rooting Capacity and Survival of Adult Norway Spruce Cuttings, *Tree Physiology*, 12, 71-80.
- SADRAS, V.O., ECHARTE, L. ve ANDRADE F.H., 2000, Profiles of Leaf Senescence During Reproductive Growth of Sunflower and Maize, *Annals of Botany*, 85, 187-195.
- SAĞLAM, S., 1989, *Helianthus annuus L. Fidelerinde Sekuensiyel Senesensin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- SAĞLAM-ÇAĞ, S., 1997, *Helianthus annuus L.'da Sırasal Yaprak Senesensinin Düzeni Üzerine Mineral Besinlerin ve Büyüme Regülatörlerinin Etkisi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- SAĞLAM-ÇAĞ, S., 2004, The Effect of Epibrassinolide on Senescence in Wheat Leaves, *Acta Physiologiae Plantarum, The 14<sup>th</sup> FESPB Congress Book of Abstracts*, August 23-27, 2004, Cracow, Poland, PG-007, 18-19.
- SAĞLAM, S. ve OKATAN, Y., 1990, Bazı Epigeik Fidelerde Sırasal Yaprak Senesensi Üzerine İncelemeler, *Botanik Bildirileri, X. Ulusal Biyoloji Kongresi*, Cilt 1, 249-257.
- SASSE, J.M., 1985, The Place of Brassinolide in the Sequential Response to Plant Growth Regulators in Elongating Tissue, *Physiologia Plantarum*, 63, 303-308.
- SASSE, J.M., 1991, The Case for Brassinosteroids as Endogenous Plant Hormones: In *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity, & Applications*, Cutler HG, Yokota T, Adam G eds (Washington, D.C.: American Chemical Society).
- SASSE, J.M., 1997, Recent Progress in Brassinosteroid research, *Physiol. Plant*, 100, 697-701.

- SASSE, J.M., 1999, *Physiological Actions of Brassinosteroids*, In: Sakurai, A., Yokota, T., Clouse, S.D. (Eds.), *Brassinosteroids-Steroidal Plant Hormones*, Springer-Verlag, Tokyo.
- SASSE, J.M., GRIFFITHS, P.G., GAFF, D.F., YOKOTA, T. ve CAMERON, D.W., 1998, Brassinosteroids of A Resurrection Grass, *Abstracts of the 16th International Conference on Plant Growth Substances*, Chiba, Japan, 131
- SASSE J.M. ve SASSE, J.M., 1994, Brassinosteroids and Roots, *Proceedings of the 21st Annual Meeting of the Plant Growth Regulator Society of America (Portland, OR)*, 228-232.
- SASSE, J.M., SMITH, R. ve HUDSON, I., 1995, Effect of 24-epibrassinolide on Germination of Seeds of *Eucalyptus camaldulensis* in Saline Conditions, *Proceedings of the Plant Growth Regulators Society of America*, 22, 136-141.
- SCHILLING, G., SCHILLER, C. ve OTTO, S., 1991, Influence of Brassinosteroids on Organ Relations and Enzyme Activities of Sugar-beet Plants In *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity, & Applications*, Cutler HG, Yokota T, Adam G eds (Washington, D.C.: American Chemical Society), 208-219.
- SCHLAGNHAUFER, C.D. ve ARTECA, R.N., 1991, The Uptake and Metabolism of Brassinosteroid by Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Plants, *Journal of Plant Physiology*, 138(2), 191-194.
- SCHMIDT, J., PORZEL, A. ve ADAM, G., 1998, Brassinosteroids and A Pregnane Glucoside from *Daucus carota*, *Phytochemical Analysis*, 9, 14-20.
- SHIM, J.H., KIM, I.S., LEE, K.B., SUH, Y.T. ve MORGAN, E.D., 1998, Determination of Brassinolide in Rice (*Oryza sativa* L.) by HPLC Equipped with a fluorescence Detector, *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 39, 84-88.
- SIMEONOVA, E., SIKORA, A., CHARZYNSKA, M., MOSTOWSKA, A., 2000, Aspects of Programmed Cell Death during Leaf Senescence of Mono- and Dicotyledonous Plants, *Protoplasma*, 214, 93-101.
- SINGH, S., LETHAM, D.S. ve PALNI, M.S., 1992, Cytokinin Biochemistry in Relation to Leaf Senescence. VII. Endogenous Cytokinin Levels and Exogenous Applications of Cytokinin in Relation to Sequential Leaf Senescence of Tobacco, *Physiol. Plant.*, 86, 388-397.
- SMART, C.M., 1994, Gene Expression during Leaf Senescence, *New Phytol.*, 126, 419-448.
- SRIVALLI, B. ve KHANNA-CHOPRA, R., 1998, Flag Leaf Senescence in Relation to Reduced Reproductive Sink Strength in Wheat, *Ind. J. Exp. Biol.*, 36, 1013-1019.

- SRIVALLI, B. ve KHANNA-CHOPRA, R., 2001, Induction of New Isoforms of Superoxide Dismutase and Catalase Enzymes in the Flag Leaf of Wheat during Monocarpic Senescence, *Bioche. and Biophys. Research Commu.*, 288, 1037-1042.
- SRIVASTAVA, L.M., 2002, *Plant Growth and Development, Hormones and Environment*, Academic Press, California, 0-12-660570-X.
- STESSMAN, D., MILLER, A., SPALDING, M. ve RODERMEL, S., 2002, Regulation of Photosynthesis during *Arabidopsis* Leaf Development in Continuous Light, *Photosyn. Res.*, 72, 27-37.
- SUZUKI, H., INOUE, T., FUJIOKA, S., SAITO, T., TAKATSUTO, S., YOKOTA, T., MUROFUSHI, N., YANAGISAWA, T. ve SAKURAI, A., 1995, Conversion of 24-methylcholesterol to 6-oxo-24-methylcholesterol, A Putative Intermediate of the Biosynthesis of Brassinosteroids in Cultured Cells of *Catharanthus roseus*, *Phytochemistry*, 40, 1391-1397.
- TAKAMIYA, K.I., TSUCHIYA, T. ve OHTA, H., 2000, Degradation Pathway(s) of Chlorophyll: What Has Gene Cloning Revealed? *Trends Plant Sci.*, 10, 426-431.
- TAKENO, K. ve PHARIS, R.P., 1982, Brassinosteroid-induced bending of the Leaf Lamina of Dwarf Rice Seedlings: An Auxin-Mediated Phenomenon, *Plant Cell Physiol.*, 23: 1275-1281.
- TANAKA, K., NAKAMURA, Y., ASAMI, T., YOSHIDA, S., MATSUO, T., OKAMOTO, S., 2003, Physiological Roles of Brassinosteroids in Early Growth of *Arabidopsis*: Brassinosteroids Have a Synergistic Relationship with Gibberellin as well as Auxin in Light-Grown Hypocotyl Elongation, *J. Plant Growth Regul.*, 22, 259-271.
- TAYLOR, C.B., BARIOLA, P.A., delCardayré, S.B., RAINES, R.T. ve GREEN, P.J., 1993, RNS2: A Senescence-Associated RNase of *Arabidopsis* that Diverged from the S-RNases before Speciation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 5118-5122.
- THAYER, S.S., CHOE, H.T., TANG, A. ve HUFFAKER, R.C., 1987, *Protein Turnover during Senescence*, *Plant Senescence: Its Biochemistry and Physiology*, Thomson, W.W., Nothnagel Eugene A., and Huffaker, R.C., eds., 71-80.
- THOMAS, H., OUGHAM, H.J., WAGSTAFF, C., STEAD, A.D., 2003, Defining Senescence and Death, *Journal of Experimental Botany*, 54, 1127-1132.
- THOMAS, H. ve STODDART, J.L., 1980, Leaf Senescence, *Annu Rev Plant Physiol.*, 31, 83-111.
- THOMPSON, J.E., FROESE, C.D., MADEY, E., SMITH, M.D., HONG, Y., 1998, Lipid Metabolism during Plant Senescence, *Prog. Lipid Res.*, 37, 119-141.
- THOMPSON, J.E., LEDGE, R.L. ve BARBER, R.F., 1987, The Role of Free Radicals in Senescence and Wounding, *New Phytol.*, 105, 317-344.1987

- UEDA, J., MIYAMOTO, K., YUDA, T., HOSHINO, T., FUJII, S., MUKAI, C., KAMIGAICHI, S., AIZAWA, S., YOSHIZAKI, I., SHIMAZU T. ve FUKUI, K., 1999, Growth and Development, and Auxin Polar Transport in Higher Plants under Microgravity Conditions in Space: BRIC-AUX on STS-95 Space Experiment, *J. Plant Res.*, 112, 487-492.
- ÜNAL, M., 1987, *Yerçekimi Dengelenmesinin Helianthus annuus L. Fidelerinde Hücre Çeperi Ekstensibilitesine, Şeker ve Nişasta İçeriğine Etkisi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ÜNAL, M. ve OKATAN, Y., 1996, Yerçekimi Dengelenmesinin Helianthus annuus L. Fidelerinde Sırasal Yaprak Senesensine Etkisi, *XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 32-41. 17-20 Eylül, İstanbul.
- WANG, B. ve ZENG, G., 1993, Effect of Epi-brassinolide on the Resistance of Rice Seedlings to Chilling Injury, *Zhiwu Shengli Xuebao*, 19, 53-60.
- WILLIAMS, R.F., 1955, Redistribution of Mineral Elements during Development, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 116, 329-335.
- WINGLER, A., van Schawen, A., LEEGOOD, R.C., LEA, P.J. ve QUICK, W.P., 1998, Regulation of Leaf Senescence by Cytokinin, Sugars, and light, *Plant Physiol.*, 116, 329-335.
- WOOLHOUSE, H.W., 1983, *Hormonal Control of Senescence Allied to Reproduction in Plants*, In *Beltsville Symposia in Agricultural Research-Strategies of Plant Reproduction*, W.J. Meudt, ed (Totowa, NJ: Allanheld, Osmun, and Co.).
- WOOLHOUSE, H.W., 1984, The Biochemistry and Regulation of Senescence in Chloroplasts, *Canadian Journal of Botany*, 62, 2934-2942.
- VAN DOORN, G.W., 2004, Is Petal Senescence Due to Sugar Starvation? *Plant Physiol.*, 134, 35-42.
- VAN OVERBEEK, J., OLIVIO, G.D. ve DE VASQUES, E.M.C., 1945, A Rapid Extraction Method for Free Auxin and Its Application on Geotropic Reactions of Bean Seedlings and Sugar-Cane Nodes, *Bot. Gaz.*, 106, 440-451.
- VARDHINI, B.V. ve RAO, S.S.R., 1999, Effect of Brassinosteroids on Nodulation and Nitrogenase Activity in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.), *Plant Growth Regulation*, 23, 165-167.
- VARDHINI, B.V. ve RAO, S.S.R., 2002, Acceleration of Ripening of Tomato Pericarp Discs by Brassinosteroids, *Phytochemistry*, 16, 843-847.
- VICENTINI, F. ve MATILE, P., 1993, Gerontosomes, A Multifunctional Type of Peroxisome in Senescent Leaves, *J. Plant Physiol.*, 142, 50-56.

- VOLKMANN, D., BEHRENS, H.M. ve SIEVERS, A., 1986, Development and Gravity Sensing of Cress Roots under Mikrogravity, *Naturwissenschaften*, 73, 438-441.
- XIE, D.X., FEYS, B.F., JAMES, S., NIETO-ROSTRO, M. ve TURNER, J.G., 1998, COI1: an Arabidopsis Gene Required for Jasmonate-Regulated Defense and Fertility, *Science*, 280, 1091-1094.
- YAMADA, K., MATSUSHIMA, R., NISHIMURA, M. ve HARA-NISHIMURA, I., 2001, Aslow Maturation of A Cysteine Protease with A Granulin Domain in the Vacuoles of Senescing *Arabidopsis* Leaves, *Plant Physiol.*, 127, 1626-1634.
- YOKOTA, T., 1997, The Structure, Biosynthesis and Function of Brassinosteroids, *Trends in Plant Science*, 2, 137-143.
- YOKOTA, T., ARIMA, M. ve TAKAHASHI, N., 1982, Castasterone A New Phytosterol with Plant-hormone Potency from Chestnut Insect Gall, *Tetrahedron Letters*, 23, 1275-1278.
- YOKOTA, T., HIGUCHI, K., KOSAKA, Y. ve TAKAHASHI, N., 1992, Transport and Metabolism of Brassinosteroids in Rice, in C. M. Karssen, L. C. Van Loon and D. Vreugdenhil, eds., *Progress in Plant Growth Regulation*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 298-305.
- YOKOTA, T. ve TAKAHASHI, N., 1986, in *Plant Growth Substances* (ed. Bopp, M.), Springer-Verlag, Berlin, 129-138.
- YOPP, J.H., MANDAVA, N.B. ve SASSE, J.M., 1981, Brassinolide, A Growth-promoting Steroidal Lactone I. Activity in Selected Auxin Bioassays, *Physiologia Plantarum*, 53, 445-452.
- YOSHIDA, S., 2003, Molecular regulation of leaf senescence, *Current Opinion in Plant Biology*, 6(1), 79-84.
- ZENTGRAF, U., JOBST, J., KOLB, D., RENTSCH, D., 2004, Senescence-Related Gene Expression Profiles of Rosette Leaves of *Arabidopsis thaliana*: Leaf Age Versus Plant Age, *Plant Biol.*, 6, 178-183.
- ZHAO, Y.-J., XU, R.-J., CUO, W.H., 1990, Inhibitory Effects of Absisic Acid on Epibrassinolid-Induced Senescence of Detached Cotyledons in Cucumber Seedlings, *Chin. Sci. Bull.*, 35, 928-931.
- ZUREK, D.M., RAYLE, D.L., MCMORRIS, T.C., CLOUSE, S.D., 1994, Investigation of Gene Expression, Growth Kinetics, and Wall Extensibility during Brassinosteroid-Regulated Stem Elongation, *Plant Physiol.*, 104: 505-513.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1978 yılında İstanbul da doğdum. 1995 yılında Yeşilköy 50.Yıl Lisesi' nden mezun oldum. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldum. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Botanik programında yüksek lisans eğitimime başladım. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi Botanik Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak atandım, halen görevime devam etmekteyim.