

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

133029

GİBBERELLİN A₄₇₉ KARIŞIMI UYGULAMASI VE İÇSEL BİTKİ HORMONLARI
SEVİYESİNİN KIZILÇAM (*Pinus brutia* TEN.) TOHUM BAHÇESİNDE
ÇİÇEKLENME ÜZERİNE ETKİLERİ

Sezgi ŞEREF

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

133029

MAYIS 2003

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

**GİBBERELLİN A₄/7/9 KARIŞIMI UYGULAMASI VE İÇSEL BİTKİ HORMONLARI
SEVİYESİNİN KIZILÇAM (*Pinus brutia* TEN.) TOHUM BAHÇESİNDE
ÇİÇEKLENME ÜZERİNE ETKİLERİ**

Sezgi ŞEREF

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
(Proje No: 21.01.0121.11) ve TÜBİTAK [Proje No:TBAG-AY/278 (102T135)]
tarafından desteklenmiştir.**

MAYIS 2003

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GİBBERELLİN A₄/7/9 KARIŞIMI UYGULAMASI VE İÇSEL BİTKİ HORMONLARI
SEVİYESİNİN KIZILÇAM (*Pinus brutia* TEN.) TOHUM BAHÇESİNDE ÇİÇEKLENME
ÜZERİNE ETKİLERİ

Sezgi ŞEREF

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 18./6/2003 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (...?) not takdir edilerek
oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU (Danışman).....

Prof. Dr. Kâni IŞIK.....

Prof. Dr. Şadiye GÖZLEKÇİ.....

ÖZET

GİBBERELLİN A_{4/7/9} KARIŞIMI UYGULAMASI VE İÇSEL BİTKİ HORMONLARI SEVİYESİNİN KIZILÇAM (*Pinus brutia* TEN.) TOHUM BAHÇESİNDE ÇİÇEKLENME ÜZERİNE ETKİLERİ

Sezgi ŞEREF

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU
Mayıs 2003, 68 sayfa

Bu çalışmanın amacı, gibberellin A_{4/7/9} (GA_{4/7/9}) karışımı dışsal hormon uygulamasının kızılçam (*Pinus brutia* TEN.) tohum bahçesinde çiçek sayısı üzerine etkilerinin belirlenmesidir. Ayrıca bitkide gözlenen içsel-gibberellin A₃ (GA₃) ve içsel-absisik asit (ABA) bitki hormonları seviyesinin çiçek sayısı üzerine etkileri olup olmadığının araştırılması da amaçlanmıştır.

Çalışmada, Antalya-Çığlık köyü yakınında kurulu Gündoğmuş- Eskibağ orijinli 11 yaşındaki kızılçam tohum bahçesinde bulunan 9273 klon numaralı ağaçlar kullanılmıştır. Ağaçlara etanol ve GA_{4/7/9} olmak üzere iki tip uygulama yapılmıştır. Uygulama yapılmamış kontrol grubu ağaçlar ile uygulama yapılmış ağaçların vejetatif sürgün uçlarından alınan doku örneklerinde içsel serbest-, bağlı-, toplam-GA₃ ve içsel serbest-, bağlı-, toplam-ABA miktarları saptanmıştır.

Kızılçam vejetatif sürgün uçlarından alınan doku örnekleri, içsel-GA₃ ve içsel-ABA analizi için ekstraksiyon ve saflaştırma işlemlerine tabi tutulmuştur. İçsel-GA₃ ve içsel-ABA miktarlarının belirlenmesinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) aleti kullanılmıştır.

Çalışmanın sonucunda, söz konusu doku örneklerinde içsel-GA₃ ve içsel-ABA'nın hem serbest ve hem de bağlı formlarda bulunduğu gözlenmiştir; ve bu hormonların kızılçamda dişi ve erkek çiçek sayısını arttırıcı bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bununla beraber GA_{4/7/9} uygulamasının kızılçamda dişi ve erkek çiçek sayısını istatistiksel önemde arttırdığı; ve bu arttırıcı etkinin erkek çiçek sayısı üzerinde daha çok olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: *Pinus brutia* TEN., Gibberellin A_{4/7/9}, Gibberellin A₃, Absisik Asit, Çiçek Sayısı, Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi.

JÜRİ: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU (Danışman)
Prof. Dr. Kâni IŞIK
Prof. Dr. Şadiye GÖZLEKÇİ

ABSTRACT

EFFECTS OF GIBBERELLIN A_{4/7/9} APPLICATION AND THE LEVELS OF ENDOGENOUS PLANT HORMONES ON FLOWERING IN THE RED PINE (*Pinus brutia* TEN.) SEED ORCHARD

Sezgi ŞEREF

M.Sc. in Biology

Adviser: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU

May 2003, 68 pages

The aim of this study is to determine the effects of exogenously applied gibberellin A_{4/7/9} (GA_{4/7/9}) mix and the level of endogenous plant hormones, gibberellin A₃ (GA₃) and abscisic acid (ABA), on the numbers of flowers produced on the ramets of a clone in Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) seed orchard.

The trees used in this study have a clone number 9273, are located in 11 years old Turkish red pine seed orchard in Çıg lık district, Antalya and are originated from Gündoğmuş-Eskibağ. Two types of treatments have been applied on the trees: ethanol and GA_{4/7/9}. Endogenous free-, bound-, total-GA₃ and endogenous free-, bound-, total-ABA quantities have been determined in the tissue sampled taken from the vegetative shoot apex of treated and untreated (control) trees.

Tissue samples are exposed to processes of extraction and purification to analyze endogenous GA₃ and ABA. The high performance liquid chromatography (HPLC) instrument has been used to determine the quantities of GA₃ and ABA.

At the end of the study, it was found that both free- and bound- endogenous GA₃ and endogenous ABA were present in the tissues; and there were no correlation between the level of these hormones and the numbers of female and male flower production. However, it was found that GA_{4/7/9} application statistically promotes female and male flower production; and it was more effective on male flowering than female flowering.

KEY WORDS: *Pinus brutia* Ten., Gibberellin, Gibberellin A_{4/7/9}, Abscisic Acid, Flowering, Flower Production, High Performance Liquid Chromatography

COMMITTEE: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU (Adviser)

Prof. Dr. K ni IŞIK

Prof. Dr. Şadiye GÖZLEKÇİ

ÖNSÖZ

Tohum bahçeleri, potansiyel olarak genetik kazançları yüksek tohum kaynaklarıdır. Ayrıca erken tohum verimi, sık, bol ve kolay tohum toplayabilme imkanları bakımından da yarar sağlar (Şimşek 1993, Kaya 2001).

Tohum bahçelerinde genetik yönden kaliteli tohum üretimine engel olan en ciddi sorunlardan birisi, tohum bahçeleri dışından gelen yabancı polenlerin tohum bahçelerindeki dişi çiçekleri döllemesidir (polen kirliliği). Tohum verimini arttırmaya yönelik işlemlerden birisi de hormon uygulamasıdır. Tohum bahçelerinde çiçeklenmenin ve tohum verimi artışının sağlanmasının iki önemli sonucu bulunmaktadır. Bunlardan birincisi tohum üretiminde sağlanacak artışla yeni tesis edilmesi gereken tohum bahçesi sayısının azalması, ikincisi ise bahçede çiçeklenmenin artmasıyla olası polen kirliliği oranının düşmesidir.

Bitki büyüme hormonlarının çiçeklenme ve tohum verimi üzerine etkilerinin bilinmesi, tohum bahçelerinin işletilmesi açısından önem taşımaktadır. Dolayısıyla tohum bahçelerindeki klonlarda, çiçeklenme aşamasından olgun kozalağa kadar geçen süreçte, hormonal seviyenin etkilerinin bilinmesi, gerekli temel verilerin başında gelmektedir. Bitki büyüme hormonlarının orman ağaçlarının büyümesi ve gelişmesi üzerinde, organ farklılaşmasında, ağaç formunda, gençlikten olgun döneme geçişte, çiçeklenme üzerinde ve tomurcuktan gelişecek çiçeğin eşeyinin belirlenmesinde önemli role sahip oldukları bildirilmektedir (Ross ve Pharis 1976). Yine, orman ağaçlarına hormon uygulamasının, onları fizyolojik stres altında tutmanın veya her ikisinin birlikte, çiçek oluşumunu uyaran metodlar olarak kullanıldığı da rapor edilmektedir (Beaulieu vd 1998).

Literatür bilgilerine göre, gerek angiosperm gerekse gymnosperm yüksek organizasyonlu bitkilerde bitki büyüme hormonlarının dişi ve erkek çiçeklenme üzerinde etkileriyle ilgili kanıtlar bulunmaktadır. Ancak gymnosperm bir bitki türü olan kızılçamda gerek içsel- GA_3 ve içsel-ABA'nın, gerekse $GA_{4/7/9}$ uygulamasının dişi ve erkek çiçeklenme üzerine etkileri konusunda yayınlanmış bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Yapılan bu çalışma ile içsel- GA_3 ve içsel-ABA miktarlarının ve

GA_{4/7/9} uygulamasının kızılçamda dişi ve erkek çiçeklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, GA_{4/7/9} uygulamasının kızılçamda özellikle erkek çiçek sayısını arttırdığı belirlenmiştir. Bu bağlamda tohum bahçesi ağaçlarında polen üretiminin artması sağlanarak kurulu tohum bahçelerinde karşılaşılan ve genetik yönden kaliteli tohum üretimine engel olan en ciddi sorunlardan polen kirliliğinin azalmasına, başka bir deyişle kaliteli tohum verimi artışının sağlanmasına katkı getirecektir.

Bu çalışmanın başından sonuna kadar planlanmasında, yürütülmesinde ve gerçekleştirilmesinde yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Akademik Danışmanım Sayın Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU'na (Ak. Ün. Fen-Ed. Fak.,Biyoloji Bölümü), çalışmanın başlangıcından bugüne kadar biyoloji bölüm olanaklarını sunan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN'a (Ak. Ün. Fen-Ed. Fak.,Biyoloji Bölümü) ve Sayın Prof. Dr. Atila YANIKOĞLU'na (Ak. Ün. Fen-Ed. Fak.,Biyoloji Bölümü), değerli katkılarından dolayı saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Kâni IŞIK'a (Ak. Ün. Fen-Ed. Fak.,Biyoloji Bölümü), çalışmanın yapılandırılmasında ve istatistik analizlerinde emeği olan Sayın Dr. Hikmet ÖZTÜRK'e (Orm. Ağ. ve Toh. Isl. Araş. Müd., Ankara), arazi çalışmalarını gerçekleştirmemde kurumunun olanaklarını esirgemeyen Sayın Yusuf CENGİZ'e (Batı Akd. Orman Araş. Müd.) , arazi çalışmalarının organizasyonunda emeği olan Orm. Yük. Müh. Sayın Semra KESKİN'e (Orm. Ağ. ve Toh. Isl. Araş. Müd., Ankara) ve Orm. Yük. Müh. Sayın Melahat ŞAHİN'e (Batı Akd. Orman Araş. Müd., Antalya), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi aletinin kuulanımını öğrenmemde yardımlarını gördüğüm Sayın Arş. Gör. Asuman KARADENİZ'e (Ak. Ün. Fen-Ede. Fak., Biyoloji Bölümü), deney sonuçlarının istatistik olarak değerlendirilmesinde yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Osman SAKA'ya (Ak. Ün. Tıp Fak., Biyoistatistik Anabilim Dalı) ve Sayın Arş. Gör. Özgür TOSUN'a (Ak. Ün. Tıp Fak., Biyoistatistik Anabilim Dalı), değerli yardımlarından ötürü Kimya Bilimi Uzmanı Sayın Muharrem GÜN'e, bu çalışmayı parasal olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje no: 21.01.0121.11) ve TÜBİTAK'a [Proje No: TBAG-AY/278 (102T135)], ayrıca hiçbir fedakarlıktan maddi ve manevi desteği ile her zamna yanımda olan aileme ve burada değinemediğim fakat bu çalışmada emeği geçen herkese teşekkürü bir borç bilir, şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tohum Bahçesi Nedir?	1
1.2. Gibberellin'lerden Gibberellik Asit (GA_3)	5
1.2.1. GA_3 biyosentezi ve inaktivasyonu	7
1.2.2. GA_3 'ün fizyolojik etkileri	9
1.2.2.1. Tohum ve tomurcuk dormansisi (dinlenme) üzerine etkisi	10
1.2.2.2. Çiçeklenme üzerine etkisi	10
1.2.2.3. Gövde ve yaprak uzaması üzerine etkisi	10
1.2.2.4. Partenokarpik meyve oluşumu üzerine etkisi	10
1.2.2.5. Tuber oluşumu üzerine etkisi	10
1.2.2.6. Absisyon (kopma) üzerine etkisi	10
1.2.2.7. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi	11
1.2.2.8. Kambiyal aktivite üzerine etkisi	11
1.2.2.9. Nükleik asit, protein ve enzimlerin sentezi ve aktiviteleri üzerine etkisi	11
1.3. Absisik Asit (ABA)	11
1.3.1. ABA'nın biyosentezi ve inaktivasyonu	13
1.3.2. ABA'nın fizyolojik özellikleri	14
1.3.2.1. Senesens (yaşlanma) üzerine etkileri	15
1.3.2.2. Absisyon (kopma) üzerine etkisi	15
1.3.2.3. Dormansi (dinlenme) üzerine etkisi	15
1.3.2.4. Büyüme üzerine etkisi	15
1.3.2.5. Embriyo gelişi ve tohum çimlenmesi üzerine etkisi	15
1.3.2.6. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi	16

3.1.2.2. Etanol uygulaması yapılmış kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.)	
ağaçlarından alınan sürgün uçlarında	47
3.1.2.3. GA _{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.)	
ağaçlarından alınan sürgün uçlarında	47
3.2. Kontrol, etanol ve GA _{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.)	
ağaçlarında dişi ve erkek çiçek miktarları	50
4. TARTIŞMA.....	53
5. SONUÇ	59
6. KAYNAKLAR.....	61
7. EKLER	65
EK-1: TANIMLAR.....	65
EK-2: TOHUM BAHÇESİNİN KROKİSİ.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	68



1.3.2.7. Çiçeklenme üzerine etkisi.....	16
1.3.2.8. Strese adaptasyon mekanizması üzerine etkisi.....	16
1.3.2.9. Osmoregülasyonda rolü.....	16
1.3.2.10. Nükleik asit, protein, enzimlerin sentezi ve aktiviteleri üzerine etkisi	16
2. MATERYAL ve METOT	22
2.1. Denemeye Konu Olan Tohum Bahçesinin Özellikleri	22
2.2. Tohum Bahçesinde Örnekleme Yapılması	23
2.3. Bitki Büyüme Hormonlarından Gibberellin A _{4/7/9} Karışımının Dışsal Uygulanması	23
2.4. İçsel Gibberellin (GA ₃) ve Absisik Asit (ABA)'in Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Analiz İşlemleri	25
2.5. Ekstraksiyon İşlemleri	27
2.6. Evaporasyon İşlemleri.....	29
2.7. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri	29
2.8. GA ₃ ve ABA Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi	30
2.9. GA ₃ ve ABA Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri	30
2.10. GA ₃ ve ABA Miktarlarının HPLC Tekniği ile Belirlenmesi.....	31
2.11. Dişi ve Erkek Çiçek Sayımları.....	37
2.12. Verilerin İstatistiksel Analizleri	42
3. BULGULAR	43
3.1. Kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.) Sürgün Uçlarında GA ₃ ve ABA Miktarları	43
3.1.1. GA ₃ miktarı.....	43
3.1.1.1. Kontrol kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında	43
3.1.1.2. Etanol uygulaması yapılmış kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında	45
3.1.1.3. GA _{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında	45
3.1.2. ABA miktarı.....	47
3.1.2.1. Kontrol kızılçam (<i>Pinus brutia</i> Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	santigrat derece
cm	santimetre
dm ³	desimetreküp
g	gram
kg	kilogram
m	metre
m ³	metreküp
µg	mikrogram
λ	dalga boyu
µl	mikrolitre
mg	miligram
ml	mililitre
M	molarite
N	normalite
ng	nanogram
nm	nanometre
pH	asitlik derecesi
ppm	parts per million
Rf	oransal akışkanlık

Kısaltmalar

ABA	absisik asit
BHT	bütillenmiş hidroksi toluen
GA ₃	gibberellin A ₃
GA ₄	gibberellin A ₄
GA _{4/7/9}	gibberellin A _{4/7/9}
GA ₅	gibberellin A ₅
GA ₇	gibberellin A ₇
GA ₉	gibberellin A ₉

GA ₈₄	gibberellin A ₈₄
H ₂ SO ₄	sülfürik asit
HCl	hidroklorik asit
HPLC	high performance liquid chromatography (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi)
IAA	indol-3-asetik asit
NaCl	sodyum klorür
NaOH	sodyum hidroksit
P	possibility (Olasılık)
RNA	ribonükleik asit
TLC	thin layer chromatography (ince tabaka kromatografisi)
UV	ultraviyole



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Gibberellik asit (GA_3)	6
Şekil 1.2. Standart sentetik GA_3 spektrumu	7
Şekil 1.3. Bazı gibberellinlerin mevalonik asitten biyosentezi (Palavan ve Ünsal 1993)	8
Şekil 1.5. Standart sentetik ABA	12
Şekil 1.6. ABA biyosentez yolu (Topcuoğlu 1987)	13
Şekil 1.7. ABA metabolizması yolu (Topcuoğlu 1987)	14
Şekil 1.8. GA_3 , GA_4 , GA_5 , GA_7 ve GA_9 'ün molekül yapısı	19
Şekil 2.1. Tohum bahçesinin ve geldiği orjinin yeri	22
Şekil 2.2. a) Ağacın gövdesinde matkap ile oyuk açılması	24
b) Ağaca enjeksiyon şeklinde hormon uygulaması	24
Şekil 2.3. Bitkisel büyüme hormonlarından GA_3 ve ABA için ekstraksiyon şeması (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995 ve Karadeniz 2000'den değiştirilerek)	26
Şekil 2.4. İçsel GA_3 'ün miktar tayininde esas alınan standart sentetik GA_3 doğrusal regrasyon grafiği ($r=0,99936$)	22
Şekil 2.5. İçsel ABA'nın miktar tayininde esas alınan standart sentetik ABA doğrusal regrasyon grafiği ($r=0,99983$)	324
Şekil 2.6. Standart sentetik- GA_3 ' e ait HPLC kromatogramı	33
Şekil 2.7. Kızılçam sürgün uçlarından ekstrakte edilen bağlı- GA_3 numunesine ait HPLC kromatogramı	34
Şekil 2.8. Standart sentetik-ABA'ya ait HPLC kromatogramı	35
Şekil 2.9. Kızılçam sürgün uçlarından ekstrakte edilen bağlı-ABA numunesine ait HPLC kromatogramı	376
Şekil 2. 10. a) İkili bir dişi çiçek kümesi	37
b) Üzerinde bir çift tohum taslağı taşıyan karpel (Keskin 1999)	37
Şekil 2.11. Kızılçamda bir dişi çiçek ve gelişim aşamaları (Keskin 1999)	38
a) Tomurcuk pullarının gevşemesi	38
b) Braktelerin görünmesi	38
c) Braktelerin çiçek eksenine dik olarak açılması	38
d) Braktelerin kapanmaya başlaması	38
e) Braktelerin tümüyle kapanması	38
Şekil 2. 12. a) Dal üzerinde erkek çiçek kümesi	39

b) Erkek kozalakçıkların taşıdığı stamenlerden bir çift (Keskin 1999).....	39
Şekil 2.13. Kızılçamda bir erkek çiçek ve gelişim aşamaları (Keskin 1999).....	40
a) Tomurcukların belirmesi	40
b) Tomurcuk pullarının açılmaya başlaması	40
c) Tomurcuk pullarının açılmaya başlaması	40
d) Polen dağılımının başlaması	40
e) Maksimum polen dağılma dönemi.....	40
Şekil 3.1. Kontrol grubunda zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ miktarı değişimleri	43
Şekil 3.2. Etanol uygulaması yapılmış grupta zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ miktarı değişimleri	46
Şekil 3.3. GA _{4/7/9} uygulaması yapılmış grupta zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ miktarı değişimleri	46
Şekil 3.4. Uygulama grupları arasında zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ miktarı değişimlerinin karşılaştırılması.....	46
Şekil 3.5. Kontrol grubunda zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarı değişimleri.....	48
Şekil 3.6. Etanol uygulaması yapılmış grubunda zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarı değişimleri.....	48
Şekil 3.7. GA _{4/7/9} uygulaması yapılmış grupta zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- ABA miktarı değişimleri.....	48
Şekil 3.8. Uygulama grupları arasında zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarı değişimlerinin karşılaştırılması	49
Şekil 3.9. Kontrol, etanol ve GA _{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (Pinus brutia Ten.) ağaçlarında dişi çiçek miktarları.....	51
Şekil 3.10. Kontrol, etanol ve GA _{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (Pinus brutia Ten.) ağaçlarında erkek çiçek miktarları	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Kontrol, Etanol ve GA4/7/9 Karışımı Hormon Uygulanmış Kızılçam (Pinus brutia Ten.) . Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarında Serbest-, Bağlı- ve Toplam –GA3 ve –ABA Eşdeğer Miktarları (değerler 3.Tekrarın Ortalaması $\pm$ Standart Hata Olarak Verilmiştir.).....	44
Çizelge.3.2. Kontrol, etanol ve GA4/7/9 uygulaması yapılmış kızılçam (Pinus brutia Ten.) ağaçlarında dişi ve erkek çiçek miktarları.....	50

1. GİRİŞ

1.1. Tohum Bahçesi Nedir?

Zobel ve Talbert'e göre tohum bahçesi şöyle tanımlanır: Seçilmiş klonlar ve kuşakların (generasyonların) oluşturduğu, kolay ve bol orman ağacı tohumu üretmek için işletilen, bahçe dışından gelen polen akışının (kontaminasyonun) azaltıldığı veya yok edildiği, izole edilmiş olan bahçelerdir (Kaya 2001). Uluslararası düzeyde benimsenmiş tanımı ise: Genetik olarak üstün ağaçlardan oluşan ve genetik açıdan istenmeyen polen kaynaklarından izole edilmiş, sık, bol ve kolay tohum elde edilen, özel bakım ve işletmeye tabi tutulan plantasyonlardır (Kaya 2001).

İlk tohum bahçeleri kurma düşüncesi Berlin Akademisi Müdürü olan Friedrich August Ludwing von Burgsdorf'un 1787 yılında yazdığı "Yerli ve Yabancı Meşe Türleri" adlı eserinde rastlanmıştır. Yazar bu eserinde her yıl belirli belirsiz yerlerden tohum toplanması yerine, bu iş için ayrılmış ve özel bakıma tabi tutulmuş meşe ormanlarından tohum toplanması gerektiğini önermiştir. Daha sonraları çeşitli yazarlar klonal tohum bahçeleri kurma düşüncesi üzerinde yazılar yazmışlardır. Aşılı fidanlar ile tohum bahçesi kurulması ise, ilk defa 1934 yılında Danimarka'da Syrach Larsen tarafından gerçekleştirilmiştir (Şimşek 1993, Kaya 2001).

Zobel ve McElwee' e göre; tohum bahçeleri, plus ağaçlardan açık tozlaşma ürünü olan tohumlardan kurulabildiği gibi, klonal düzeyde de kurulabilir (Keskin 1998). En yaygın tohum bahçesi tipi, belirli bir coğrafik iklim rejyonundan yada bir meşcereler grubundan ve aynı türden seçilmiş plus ağaçların vejatatif yolla (çelik yada aşı kalemi kullanılarak) üretilmeleri ile elde edilen fidanlardan oluşturulan tohum bahçeleridir. Bu tip bahçelerde, her bir ağaç bir klonu temsil ettiğinden 'Klonal Tohum Bahçesi' olarak adlandırılırlar (Keskin 1998).

Kaya (2001), tohum bahçelerinin: a-) Belirli genetik özellikleri taşıyan ağaçları verecek tohumları elde etmek, b-) Genetik özellikleri sayesinde belirli bölgelere adapte olabilen ağaçları elde etmek ve c-) a ve b maddelerinde belirtilen ağaçları verecek olan

genetik bakımdan üstün nitelikli tohumları daha çok miktarda ve daha ekonomik olarak elde etmek için kurulduklarını bildirmektedir.

Tohum bahçeleri potansiyel olarak genetik kazançları yüksek tohum kaynakları olmaları yanı sıra, erken tohum verimi, sık, bol ve kolay tohum toplayabilme imkanlarını sağlaması bakımından da önemli olarak nitelendirilmektedir (Şimşek 1993, Kaya 2001). Tohum bahçelerinde tohum oluşumunun doğal ormanlara göre daha erken başladığı ve sık periyotlar ile devam ettiği de bildirilmektedir (Şimşek 1993, Kaya 2001). Tohum bahçelerinden bol tohum elde edilmesinin tohum bahçesinin kurulduğu yer ile de ilgili olduğunu ve genellikle tohum bahçelerinin türün yayılışının en güney sınırı yakınında veya yayılışının daha alt zonlarında tesis edildiğini, böylece sıcaklığın artması sonucu tohum veriminin de arttığı bildirilmektedir. Ayrıca tohum bahçelerinden elde edilen tohumların çimlenme kabiliyetinin de yüksek olduğunu bildirmiştir (Kaya 2001).

Tohum bahçelerinin kurulması zaman, para, beceri ve konu ile ilgili birimlerin işbirliğini gerektirir. Ayrıca tohum bahçesinin kurulması sırasında, bahçenin kurulacağı yerin seçimi, dizaynı, fidanların dikim aralığı ve dikim şekli, bitkilerin korunması ve tohumun hasat edilmesi gibi bir çok faktörün de dikkate alınması zorunludur. Kısacası bir tohum bahçesinin kurulması, bakımı ve işletilmesi zaman, para ve yetmişmiş iş gücü gerektirir. Üstelik bu tohum bahçelerinden elde edilen tohumların, genetik bakımdan güvenilir olması oldukça önemlidir (Kaya 2001).

Orman popülasyonlarının genetik yapısını istenilen yönde değiştirmek ve doğadaki popülasyonları amacımıza göre evcilleştirmek konusunda, tohum bahçeleri ağaç ıslahçısının elinde çok önemli bir araçtır (Keskin 1998). Bu bağlamda, istediğimiz genleri taşıyan bireyler tohum bahçesinde bir araya getirilir; ve bunlar arasına arzu edilmeyen genlerin karışması da engellenerek özel bir gen havuzu oluşturulur. Bunlardan üretilen tohumlarla da istediğimiz özellikleri taşıyan yeni generasyonlar yetiştirilebilir (Kaya 2001).

Ormancılık ve ağaçlandırma çalışmalarında kullanılmak üzere gerek duyulan üstün özellikli tür ve ırkları elde edebilmek için, genetik bakımdan üstün olan bireyler seçilip bir araya getirilerek tohum bahçeleri kurulur. Gerek tarımda, gerekse ormancılık literatüründe, tohum bahçelerine ve vejetatif üretme çalışmalarına sıkça rastlanmaktadır (Kaya 2001).

Orman Bakanlığı tarafından ülkemizin değişik bölgelerinde, değişik orman ağaçları için 2003 yılına kadar 163 adet tohum bahçesi kurulmuştur. Bu 163 adet tohum bahçesinden 62 adeti kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) türüne aittir (Anonim 2003).

Devlet Planlama Teşkilatı tarafından açıklanan Kızılçamın 1994-2003 yıllarını içeren 'Türkiye Milli Ağaç Islahı ve Tohum Üretimi Programı'nda; gerek ülkemizdeki potansiyel ağaçlandırma alanlarının varlığı, gerekse hızlı büyüme özelliği nedeniyle, ağaç ıslah çalışmalarında ele alınması gereken en önemli türlerden biri olduğu vurgulanmış, yoğun ıslah çalışmalarına konu edilen beş orman ağacı türü arasında ilk sırada yer almıştır (Keskin 1998). Halen ülkemiz ormanları içersinde üç milyon hektarı aşan yayılışa sahip olan bu türün, taşıdığı odun serveti toplam 161 milyon m³'ün üzerindedir (Keskin 1998).

Türkiye Orman Envanterine göre; Türkiye ibreli orman alanlarının yaklaşık %36'sı (3.096.064 Ha) kızılçam ile kaplıdır. Kızılçamın verimli ve geniş ormanlar oluşturduğu bölgelerimizden biri de Antalya havzasıdır (Kaya 2001). Kızılçamın diğer orman ağacı türlerine göre daha hızlı büyümesi ve odununun kullanım alanının da daha fazla olması nedenleriyle, halen Güney ve Batı Anadolu bölgelerimizde geniş alanların ağaçlandırılması amacıyla kızılçam tohumu ve/veya fidanları kullanılmaktadır. Bu tohumların ve onlardan elde edilen fidanların "genetik yönden" üstün nitelikleri olması arzu edilir. Nitekim bu amaçla genotipik bakımdan üstün olduğu varsayılan ağaçlar anaç olarak kullanılarak tohum bahçeleri kurulmuştur (Kaya 2001). Tohum bahçelerinde seçilmiş üstün nitelikli bireyler arasında gerçekleşen eşleşme nedeniyle elde edilecek genetik kazanç tohum meşçerelerinden daha yüksektir.

Kurulan tohum bahçelerinde karşılaşılan ve genetik yönden kaliteli tohum üretimine engel olan en ciddi sorunlardan birisi polen kirliliğidir. Tohum verimini arttırmaya yönelik işlemlerden birisi de hormon uygulamasıdır.

Tohum bahçelerinde çiçeklenmenin ve tohum verimi artışının sağlanmasının iki önemli sonucu bulunmaktadır. Bunlardan birincisi tohum üretiminde sağlanacak artışla tesis edilmesi gereken tohum bahçesi sayısının azalması, ikincisi ise bahçede çiçeklenmenin artmasıyla olası polen kirliliği oranının dūřmesidir.

Antalya yöresinde, kızılçam türüne ait, kuruluşları 1978 yılında başlatılmış, farklı orijinlerden gelen, oniki adet klonal tohum bahçesi bulunmaktadır. Araştırma konusunun alanı olan, Antalya Orman Bölge Müdürlüğü Düzlerçamı şefliği'ne bağlı, çığlık köyü civarındaki Gndoėmυř-Eskibağ orijinli tohum bahçesi de bunlardan birisidir.

Picea abies türüne ait farklı yerlerde kurulmυř tohum bahçelerinde, Skrppa ve Tutturen tarafından yapılan bir araştırmada; bahçelerin bulunduğu yreler arasında, her bahçede farklı yıllarda ve aynı bahçedeki klonlar arasında geniş varyasyonların bulunduğu açıklanmıştır. Ayrıca iek verimi üzerinde, çevresel faktörlerin ve klonların transfer edildiği alanların enlem ve boylamlarının etkisi olduğu da belirtilmiştir (Keskin 1998).

Nabraska'da, *Pinus sylvestris* türüne ait klonal tohum bahçesinde, Boes vd tarafından yapılan bir araştırmada, çiçeklenme fenolojisi ve tohum verimi üç yıl boyunca incelenmiştir. Coėrafik orijinleri farklı olan altı bölgeye ait klonların, bölgeler arası ve blgelerii varyasyonunun belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde, bölgeler arasındaki farklılıklar nedeniyle, tohum ağırlıkları; klonlar arasındaki farklılıklar nedeniyle, aėaç başına dūřen kozalak sayısı ve kozalak başına dūřen dolu tohum sayısı arasında büyük varyasyonlar olduğu grlmştir. Bu araştırma sonucuna göre, dūřk tohum veriminin, tahmin edildiği gibi büyük oranda iek fenolojisindeki uyumsuzluktan kaynaklanmadığı belirtilmektedir. Tohum bahçesindeki toplam tohum üretimine klonların katkısı, polen dağılma dönemi boyunca büyük oranda rastlantısaldır.

Yapılan fenolojik gözlemlerde, klonların büyük bir kısmında, polen dağılma döneminin başlangıcından 2 gün sonra dişi çiçeklerin alıcı döneme geçtikleri gözlenmiştir. Bahçede, 11 gün boyunca, tüm klonların polen dağılma dönemi aynı dönem içinde çakışmış, diğer günlerde polen hareket aşamaları klonlar arasında farklı olmuştur. Yukarıda sözü edilen araştırmalardan da anlaşıldığı gibi, tohum bahçelerinde kozalak verimi, çiçek verimi ve klonlar arasındaki ilişkiler; ağaç türüne, kısmen de ağaçların ve tohum bahçesinin taşıdığı diğer özelliklere göre farklılık göstermektedir (Keskin 1998).

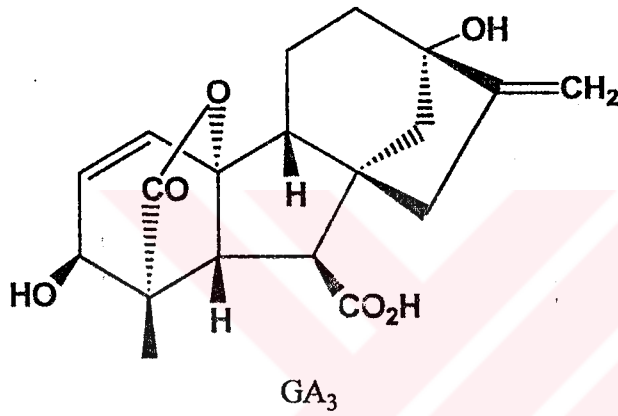
Bitki büyüme ve gelişmesinde rol oynayan en önemli içsel faktörlerden birisi bitki büyüme maddeleridir. Bitki büyüme maddelerinin keşfi ile bitki büyümesini ve büyüme ile ilgili birçok faaliyeti kontrol altına almak mümkün olmuştur. Bitki büyüme maddelerinin bitkiler üzerindeki etkilerinin çok çeşitli olması onların tarım alanlarında yaygın biçimde kullanılmasına neden olmakta ve bu durum tarımsal çalışmalar için büyük önem taşımaktadır. Özellikleri ve etki tarzları dikkate alındığında bitki büyüme maddeleri üç grup altında toplanır (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995).

- a) Organ yapıcılar: Örneğin florigen ve rizokalin.
- b) Yara hormonları: Örneğin travmatin.
- c) Büyüme hormonları:
 - i) Stimülatörler: Örneğin oksinler, gibberellinler, sitokininler.
 - ii) İnhibitörler: Örneğin absisik asit.

1.2. Gibberellin'lerden Gibberellik Asit (GA₃)

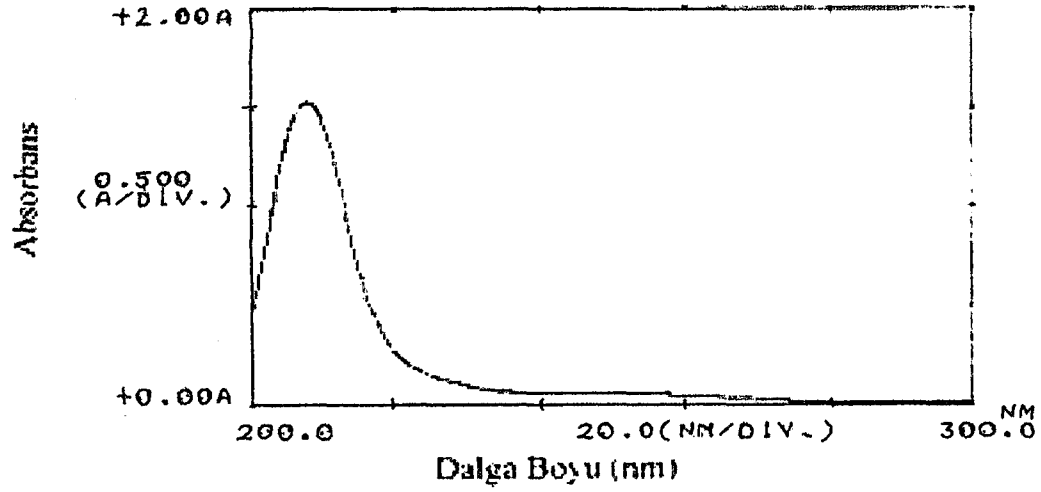
Gibberellinler 1920'lerden beri bir bitki büyüme hormonu olarak bilinmektedir. Gibberellinlerin ilk kez, Japon pirinçlerinde Bakanea hastalığı ile ilgili çalışmalar yapan Kurosawa tarafından keşfedildiği bilinmektedir. Bu fungal hastalıktan *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) sorumludur. 1954 yılında İngiliz kimyacılar *Gibberella fujikuroi* kültüründen izole ettikleri saf bir bileşiğin özelliklerini tayin etmişler ve bu yeni maddeye gibberellik asit (GA₃) adını vermişlerdir. Sponsel ve Graebe, 1990 yılına kadar çeşitli funguslar ve bitkilerde 84 adet gibberellin keşfedildiğini belirtmişlerdir (Ergün 1997). Bunlar GA₁, GA₈₄ şeklinde ifade edilir. Bunlardan 73 tanesi yüksek bitkilerde, 11 tanesi *Gibberella* fungusunda bulunmuştur.

Bunların hepsinin moleküler yapıları esasen gibberellik asit (GA_3) ile aynıdır, fakat, halka sistemindeki bağların pozisyonları, sayıları ve tipleri, A halkasındaki doyma derecesi ve özellikle hidroksil gruplarının bulunduğu yerler nedeniyle birinden diğerine farklılıklar göstermektedir (Salisbury ve Ross 1992). Bütün gibberellinler ent-gibberellan iskeletinden türevlenmektedir. Gibberellinler kimyasal olarak diterpenlerdir. Diterpenler bitkilerde doğal olarak meydana gelen terpenoidlerden türevlenirler. Gibberellinlerin yüksek bitkilerde en çok bulunan çeşidi olan gibberellik asit (GA_3)'in kapalı formülü $C_{19}H_{22}O_6$ olup molekül ağırlığı 346.4'tür (Şekil 1.1).



Şekil 1. 1. Gibberellik asit (GA_3)

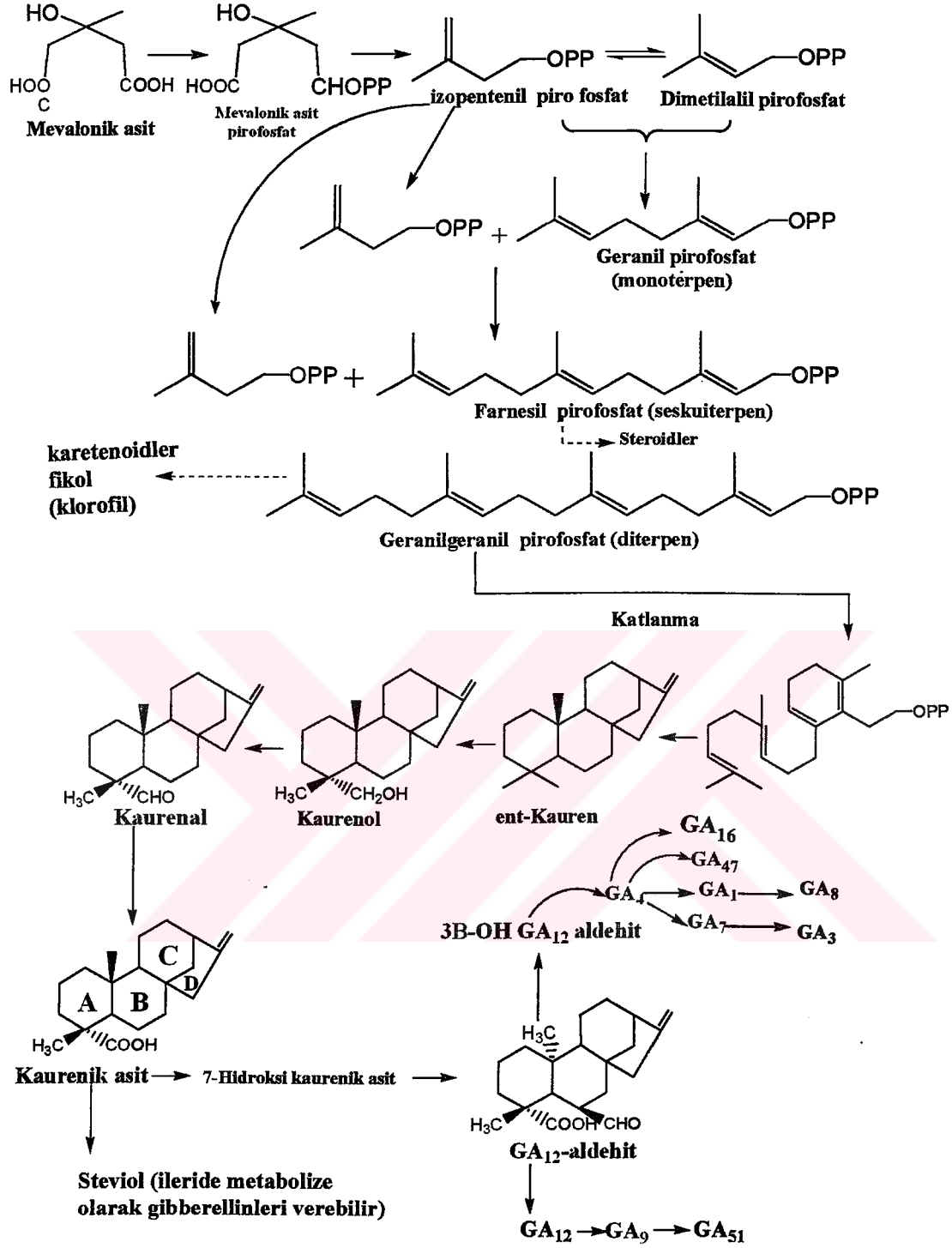
Gibberellin metabolizması yüksek bitkilerden çok *Gibberella fujikuroi* fungusunda incelenmiş olup, bu fungusun gibberellinleri bir sekonder metabolit olarak meydana getirdiği bildirilmiştir (Cihangir ve Aksöz 1993). İçsel GA_3 'ün maksimum absorpsiyon dalga boyu 254 nm olduğu rapor edilmektedir (Cihangir ve Aksöz 1993, Topcuoğlu ve Ünyayar 1995, Ergün 1997). Çalışmamızda GA_3 'ün maksimum absorpsiyon dalga boyu 208 nm olarak saptanmıştır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Standart sentetik GA₃ spektrumu

1.2.1. GA₃ biyosentezi ve inaktivasyonu

Genellikle yüksek organizasyonlu bitkilerde gibberellin biyosentezi çeşitli organlarda olmaktadır. Örneğin; embriyo, genç yapraklar, gelişmekte olan meyve ve tohum, uzamakta olan gövde apikal bölgesi ve köklerdir. Yüksek organizasyonlu bitkilerde ve funguslarda gibberellinin mevalonik asit'ten sentezlendiği ve biyosentezinde tek bir yolun olmadığı bildirilmektedir. Farklı gibberellinler farklı biyosentez yollarıyla sentezlenir (Şekil 1.3). Ancak, günümüzde sentez yolları henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Palavan ve Ünsal 1993).



Şekil 1.3. Bazı gibberellinlerin mevalonik asitten biyosentezi (Palavan ve Ünsal 1993)

Günümüzde yüksek organizasyonlu bitkilerin (Palavan ve Ünsal 1993), fungusların (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995, Ünyayar vd 1996, Özcan 1997), liken ve yosunların (Ergün 1997) ve bakterilerin (Karadeniz 2000) gibberellin içerdikleri saptanmıştır.

Gibberellinlerin inaktivasyonu konusu da henüz tam aydınlığa kavuşturulamamıştır. Literatür bilgilerine göre gibberellin inaktivasyonu, gibberellinlerin ya karbon iskeletinin modifikasyonu ile ya da hücre bileşiklerine (örneğin şeker ve protein) bağlanması ile olur (Palavan ve Ünsal 1993). Yüksek bitkilerde önemli gibberellin inaktivasyon olayı molekülün 2 β -hidroksilasyonudur, yani A halkası üzerinde 2 numaralı karbona β pozisyonunda OH grubu eklenmesidir. Bu 2 β -hidroksilasyon bitkilerde yaygındır ve geri dönüşken değildir. Sonuçta, gibberellinlerin biyolojik aktiviteleri ya tamamıyla ya da en azından önemli miktarda azalmaktadır. Gibberellik asit, özellikle yüksek sıcaklıkta asit hidrolizi ile bozunmakta ve bunun sonucunda gibberellenik asit, allogibberik asit ve gibberik asit meydana gelmektedir. Gibberik asit, hormonal aktivite göstermediği halde diğerleri göstermektedir (Ünyayar 1995). Gibberellinler glukoza ya hidroksil grubu ile bağlanarak glukoz eter veya karboksil grubu ile bağlanarak glukozil ester bağlı formlarını meydana getirirler (Ünyayar 1995).

1.2.2. GA₃ 'ün fizyolojik etkileri

Gibberellinler çok yönlü fizyolojik etkilere sahiptir. Bu etkiler özellikle genetik cücelik ve çiçeklenme gibi fizyolojik ve biyolojik olaylarda çok daha açık olarak görülmektedir (Palavan ve Ünsal 1993). GA₃ 'ün fizyolojik etkileri konsantrasyonlarına, çevresel faktörlere, bitki türlerine ve bitkinin yaşına bağlı olarak değişebilmektedir.

1.2.2.1. Tohum ve tomurcuk dormansisi (dinlenme) üzerine etkisi

Gibberellinler, bazı türlerde düşük sıcaklık, uzun gün ve kırmızı ışığın yerine geçerek tohum ve tomurcuk dormansisini ortadan kaldırmaktadır (Salisbury ve Ross 1992).

1.2.2.2. Çiçeklenme üzerine etkisi

Gibberellinlerin rozet tipi bitkilere uygulanması, bu bitkilerde çiçeklenmenin uyarılmasına neden olmaktadır (Ünyayar 1995). Ayrıca, erkek çiçek oluşumunu teşvik etmektedir (Ünyayar 1995).

1.2.2.3. Gövde ve yaprak uzaması üzerine etkisi

Gibberellinler genetik olarak cüce bitkilerde gövde ve yaprak uzamasını teşvik etmektedir (Ünyayar 1995, Cihangir ve Aksöz 1993).

1.2.2.4. Partenokarpik meyve oluşumu üzerine etkisi

Gibberellinler döllenme olmaksızın çekirdeksiz meyve oluşumuna neden olmaktadır (Salisbury ve Ross 1992).

1.2.2.5. Tuber oluşumu üzerine etkisi

Tuberizasyonun kontrolünde en önemli hormon gibberellinlerdir. Dışarıdan gibberellin uygulanması tuberizasyonu engellemektedir (Ünyayar 1995).

1.2.2.6. Absisyon (kopma) üzerine etkisi

GA₃'ün yaprak absisyonunu teşvik ettiği belirtilmektedir (Palavan-Ünsal 1993).

1.2.2.7. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi

Gibberellinler, içsel IAA'nın seviyesini yükselterek apikal dominansının artmasına neden olmaktadır (Palavan ve Ünsal 1993).

1.2.2.8. Kambiyal aktivite üzerine etkisi

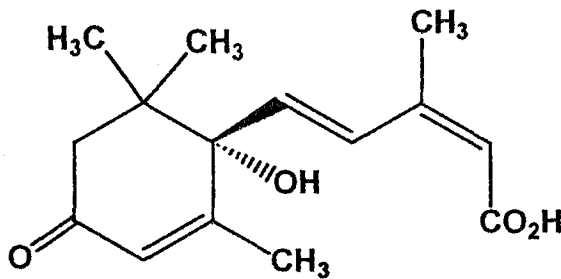
Gibberellinlerin kambiyal aktiviteyi arttırdığı belirtilmektedir (Salisbury ve Ross 1992).

1.2.2.9. Nükleik asit, protein ve enzimlerin sentezi ve aktiviteleri üzerine etkisi

GA₃, RNA ve protein sentezini hızlandırmaktadır. Özellikle, α -amilaz ve mRNA düzeyini arttırmaktadır (Ünyayar 1995).

1.3. Absisik Asit (ABA)

ABA'nın bitki büyüme ve gelişmesinin regülasyonunda büyük önemi olan ve doğal olarak oluşan bir bitki büyüme inhibitörü olduğu Topcuoğlu (1987) tarafından ifade edilmektedir. ABA'nın doğal olarak oluşan formu (S)-(+)-absisik asit'tir (Şekil 1.4). Sentetik rasemik absisik asit ise (RS)-($\pm$)-absisik asit'tir.

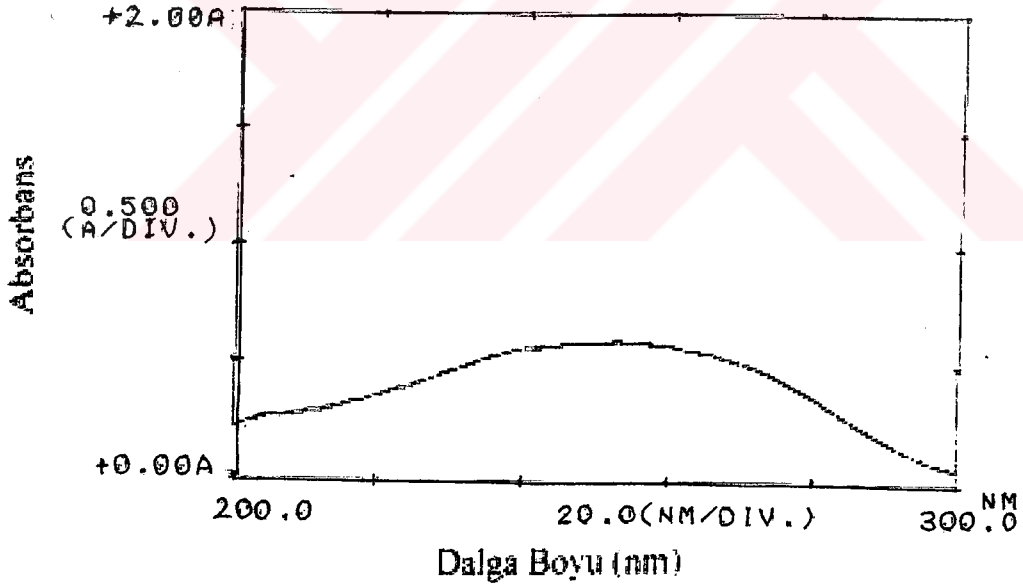


Şekil 1.4. Absisik asit (ABA)

Wareing ve Phillips ile Topcuoğlu, ABA'nın bir sesquiterpenoid olduğunu ve hem optik hem de geometrik izomerizm gösterdiğini belirtmektedir (Ergün 1997). Yine

aynı araştırmacılar ABA molekülünün asimetrik bir karbon atomu içerdiğinden ya D (+) ya da L (-) formunda olmak üzere optik olarak izomerizm gösterdiğini ve doğal olarak oluşan ABA'nın daima (+) formda olduğunu bildirmektedirler (Ergün 1997). Milborrow, Phillips ve Topcuoğlu'nun bildirdiklerine göre ise ABA'nın cis ve trans olmak üzere iki geometrik izomeri vardır. Pek çok bitkide ABA'nın doğal olarak oluşan izomeri cis-ABA olup, literatürde sadece ABA olarak belirtilmektedir (Ergün 1997). ABA'nın kapalı formülü $C_{15}H_{20}O_4$ olup molekül ağırlığı 264'tür.

ABA'nın maximum absorpsiyon dalga boyu ortamın pH'sına göre değişmektedir. Asidik koşullarda maksimum absorpsiyon dalga boyu 252 nm ile 262 nm arasında, bazik koşullarda ise maksimum absorpsiyon 245 nm'de görülmektedir (Ünyayar 1995). Çalışmamızda ABA'nın maksimum absorpsiyon dalga boyu 253 nm olarak saptanmıştır (Şekil 1.5).

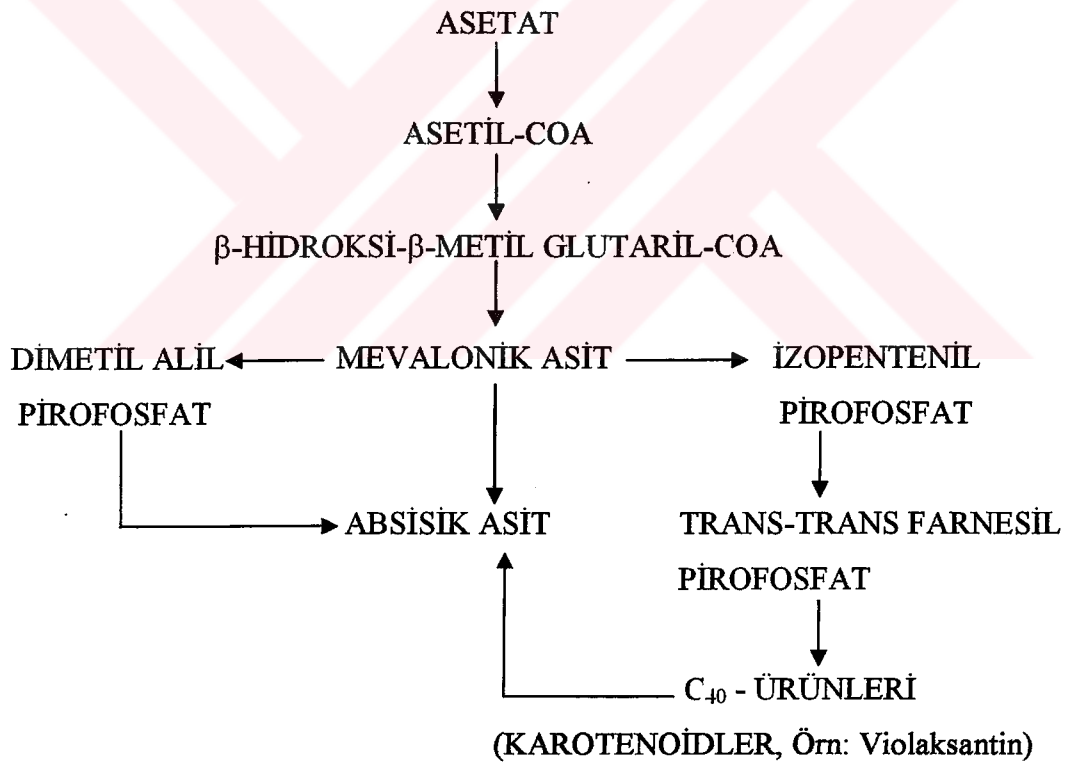


Şekil 1.5. Standart sentetik ABA

1.3.1. ABA'nın Biyosentezi ve İnaktivasyonu

Ergün (1997)'ün bildirdiğine göre Loveys, ABA'nın, kök , meyve, tohum embriyosu ve yapraklarda özellikle kloroplastlarda sentezlendiğini ifade etmektedir. Ayrıca ABA'nın diğer plastidlerde de sentezlendiği rapor edilmektedir (Salisbury ve Ross 1992). Topcuoğlu (1987)'na göre, ABA biyosentezine ilişkin olarak iki yol tartışılmaktadır (Şekil 1.6.).

1. ABA doğrudan doğruya mevalonik asitten sentezlenmektedir.
2. ABA, karotenoid biyosentez yoluyla veya karotenoid ürünlerin oluşumuyla ya da başka bir deyişle violaksantin dahil ilgili ksantofillerin enzimatik oksidasyonu veya fotooksidasyonunun bir yıkım ürünü olarak meydana gelmektedir.

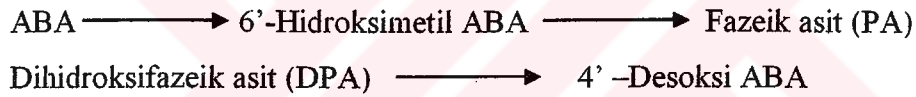


Şekil 1.6. ABA biyosentez yolu (Topcuoğlu 1987)

Günümüzde ABA'nın mevalonik asitten sentezlendiği fikri halen kabul edilmiş durumdadır. Bununla beraber ABA biyosentezinde çoğu kademe hala açığa kavuşturulamamıştır.

Günümüzde yüksek organizasyonlu bitkilerin (Salisbury ve Ross 1992, Palavan-Ünsal 1993), fungusların (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995, Ünyayar vd 1996, Özcan 1997), liken ve yosunların (Ergün 1997) ve bakterilerin (Tuomi ve Rosenqwest 1995) ABA içerdikleri saptanmıştır.

ABA'nın iki yoldan inaktive olduğu, başka bir deyişle ABA metabolizması ürünlerinin, ABA'nın ya okside olmuş (fazeik asit, dihidrofazeik asit) ya da bağlı (şeker ve protein gibi bileşiklere) formları olduğu Topcuoğlu (1987) tarafından bildirilmektedir. ABA'nın metabolik yollarından birisi Şekil 1.7'de gösterilmiştir.



Şekil 1.7. ABA metabolizması yolu (Topcuoğlu 1987)

ABA'nın ilk kararlı metaboliti PA, ikinci metaboliti ise DPA'dır. ABA'nın metabolik yıkım yollarından diğeri ABA'nın protein ve şeker gibi moleküllere bağlanarak alkalın hidroliz edilebilir bağlı ABA oluşumudur (Ünyayar 1995). Örneğin Absisil-β-D-glukopiranosid, β-hidroksil-β-metil glutarilhidroksil ABA, absisik asit glukoz esteri (ABA-GE) bağlı ABA formlarıdır.

1.3.2. ABA'nın Fizyolojik Özellikleri

Literatür bilgilerimize göre ABA'nın bitki büyüme ve gelişmesindeki fizyolojik etkileri konsantrasyonlarına, çevresel faktörlere, bitki türlerine ve bitkinin yaşına bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

1.3.2.1. Senesens (Yaşlanma) Üzerine Etkileri

Yaşlanma ile birlikte görülen ve bir organ veya organizmanın ölümüne yol açan bozulma ve parçalanma olaylarının tümüne senesens denir. ABA'nın klorofil kaybını ve yıkımını hızlandırarak senesense neden olduğu rapor edilmesine rağmen, ABA'nın yaprak senesensindeki rolü tam olarak açıklığa kavuşmadığı da bildirilmektedir (Ünyayar 1995, Topcuoğlu 1987).

1.3.2.2. Absisyon (Kopma) Üzerine Etkisi

ABA absisyonun düzenlenmesinde hormonal bir faktör olarak rol oynamaktadır (Topcuoğlu 1987). ABA, yaprak çiçek ve meyvelerde absisyon tabakasının oluşmasını uyarmaktadır (Ünyayar 1995).

1.3.2.3. Dormansi (Dinlenme) Üzerine Etkisi

ABA'nın tomurcuk ve tohumlarda dormansinin ortaya çıkmasında önemli bir rolü vardır (Salisbury ve Ross, 1992).

1.3.2.4. Büyüme Üzerine Etkisi

ABA, büyüme ve gelişmeyi durduran, geriletken bir etken olarak bilinmektedir. Bununla birlikte, ABA, uygulanan konsantrasyona, bitkide varolan miktarlarına ve diğer hormonlarla etkileşimine bağlı olarak bitkide büyüme ve gelişmeyi engelleme yada uyarma tepkileri meydana getirmektedir (Ünyayar 1995).

1.3.2.5. Embriyo Gelişi Ve Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi

Dışarıdan uygulanan ABA, embriyo büyümesini ve gelişmesini engellemektedir. Ayrıca, tohumda normal olgunlaşma ve çimlenmeyi de inhibe etmektedir (Salisbury ve Ross 1992).

1.3.2.6. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi

ABA'nın besin birikimi üzerinde negatif bir etkiye neden olarak tepe hakimiyetinde rol oynadığı bildirilmiştir (Ünyayar 1995).

1.3.2.7. Çiçeklenme üzerine etkisi

Tomurcuk dormansisinden sorumlu bir büyüme inhibitörü olan ABA, aynı zamanda da çiçeklenme inhibitörüdür. Bazı uzun gün bitkilerinde çiçeklenmeyi inhibe etmektedir. Kısa gün bitkilerinin ABA'ya tepkileri tamamen değişiktir. ABA uzun gün şartlarında bırakılan kısa gün bitkilerinde çiçeklenmeye neden olmaktadır. Ayrıca, ABA dışı çiçek oluşumunu uyarmaktadır (Ünyayar 1995).

1.3.2.8. Strese adaptasyon mekanizması üzerine etkisi

Strese uğramış bitkilerde içsel ABA seviyesinin arttığı ve stres koşullarının olumlu değişmesi ile ABA seviyesinin azaldığı bildirilmektedir (Ünyayar 1995).

1.3.2.9. Osmoregülasyonda rolü

ABA bazı bitkilerde strese karşı adaptasyonda osmoregülatif rolü olan prolin ve betain birikimine ve artışına neden olmaktadır (Ünyayar 1995)

1.3.2.10. Nükleik asit, protein, enzimlerin sentezi ve aktiviteleri üzerine etkisi

ABA'nın, RNA sentezini, çeşitli enzim sistemlerinin aktivitesini ve oluşumunu engellediği bildirilmektedir. Örneğin; ABA a-amilaz, proteaz ve RNA polimeraz enzimlerinin sentezini ve aktivitesini engellemektedir. Bununla beraber, ABA'nın bazı enzimlerin (Ribonükleik asit ve fosfotaz) aktivitesini arttırdığı rapor edilmektedir. Ayrıca, ABA'nın ribozomal RNA sentezini sitümüle ettiği de bildirilmektedir (Ünyayar 1995).

Büyüme hormonlarının taşınması konusundaki en önemli bulgu bitki içinde ksilem ve floem dokuları ile taşınmalarıdır. Ayrıca iletim demetleri dışında parankima hücrelerinde de taşındıkları belirlenmiştir (Palavan-Ünsal 1993). Bu da bize bitki

hormonlarının sentez bölgesinden bitkinin diğer kısımlarına taşınmasının enerji gerektiren aktif metabolizma ve pasif difüzyon olayı ile organların dikey eksen ve yatay eksen boyunca olduğunu ifade etmektedir.

Günümüzde bitki hormonları bitki dokularından, funguslardan, likenlerden, yosunlardan ve bakterilerden dietileter, metanol veya etil asetat gibi organik çözücülerle ekstre edilerek elde edilmektedir. Ayrıca ultraviyole (UV) ve infrared spektroskopisi, gaz kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi, ince tabaka kromatografisi (TLC) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) vb. hassas fiziko-kimyasal teknikler kullanılmaktadır (Ünyayar vd 1996, Ergün 1997).

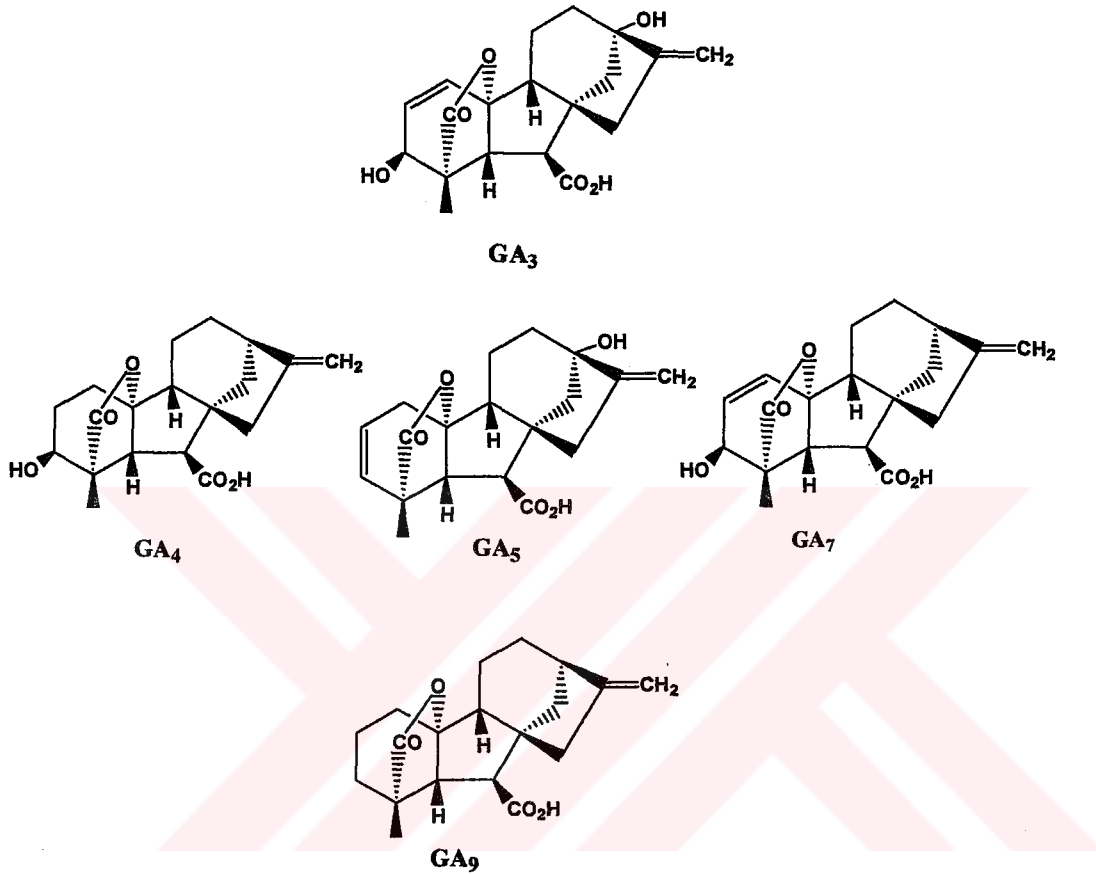
Bitki büyüme hormonlarının orman ağaçlarının büyümesi ve gelişmesi üzerinde, organ farklılaşmasında, ağaç formunda, gençlikten olgun döneme geçişinde, çiçeklenme üzerinde ve eşeyin belirlenmesinde önemli role sahip oldukları bildirilmektedir (Ross ve Pharis 1976). Yine, orman ağaçlarında hormon uygulaması ve fizyolojik strese neden olma veya her ikisinin birlikte çiçek oluşumunu uyaran metotlar olarak kullanıldığı da rapor edilmektedir (Beaulieu vd 1998) Örneğin; *Pinus sylvestris* L. 'nin gelişen sürgünlerine gibberellinlerin etanolik sprey uygulamasının hem erkek hem de dişi çiçeklenmeyi arttırdığı bildirilmektedir (Luukkanen ve Johansson 1980). Ayrıca etkinin özellikle erkek çiçeklenmede belirgin olduğu ve farklı klonların uygulamaya karşı farklı tepkiler gösterdiği de rapor edilmektedir (Luukkanen ve Johansson 1980).

Erkek çiçeklerin varlığı veya yokluğunun, dişi çiçeklere göre sayısı veya nisbi oranının hormon konsantrasyonuna veya uygulama zamanına veya dengesine (Örneğin; gibberellin), çevresel faktörlere (Örneğin; gün uzunluğu), aşılacak bitkinin anaç bitkiden alındığı yere, besinsel ve yaş faktörlerine bağlı olabileceği bildirilmektedir (Wheeler vd 1980, Ho ve Schnekenburger 1992). Örneğin; *Picea mariana*'da GA_{4/7} uygulamasında erkek kozalak üretiminin uyarılması için optimum hormon konsantrasyonu 3,3 ng iken, dişi kozalak üretiminin uyarılması için optimum hormon konsantrasyonunun 11 ng olduğu rapor edilmektedir (Smith 1998). Yine hormon uygulama zamanının çiçeklenme tipi üzerine etkisiyle ilgili yapılan çalışmalarda, erken dönemde (Mayıs) GA_{4/7} uygulamasının erkek çiçeklenmeyi, daha geç dönemdeki

uygulamaların ise dişi çiçeklenmeyi arttırdığı gösterilmiştir (Wheeler ve arkadaşları 1980, Schnekenburger 1992). Yine hormon uygulama yerinin dişi kozalak sayısı üzerine etkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada, gövdeye enjeksiyon şeklindeki hormon uygulamasının tomurcuklara dışsal hormon uygulamasına göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (Siregar ve Sweet 1997). Belirli gibberellinlerin özellikle gibberellin $A_{4/7}$ ($GA_{4/7}$) karışımının dışsal uygulamasının Pinaceae türlerinin çoğunda (*Pinus radiata* D. Don, *Pinus taeda* L., *Pinus elliotii* Engelm., *Pinus palustris* Mill., *Pinus banksiana* Lamb.) çiçeklenmeyi erken teşvik ettiği ve arttırdığı bildirilmektedir (Ross ve Greenwood 1979, Ross vd 1983, Sweet 1979, Ross vd 1984). Ross ve Greenwood (1979) dişi çiçeklenme üzerine gibberellinlerin etkisi ile ilgili olarak *Pinus taeda* L. ile yaptıkları çalışmada, herbir dala 100 ve 500'er μg $GA_{4/7}$ uygulamalarının dişi çiçek üretimini önemli miktarda arttırdığını, 500 μg GA_3 uygulamasının da aynı konsantrasyondaki $GA_{4/7}$ 'nin etkisine benzer etki gösterdiğini, 100 μg GA_3 ve her iki konsantrasyonda GA_5 uygulamalarının ise etkisiz olduğunu belirlemişlerdir.

Farklı tipteki gibberellinlerin çiçeklenme üzerindeki etkilerinin daha az polar veya daha fazla polar oluşlarıyla ilgili olduğu da rapor edilmektedir (Ross ve Greenwood 1979). Gibberellinlerin daha az polar veya daha fazla polar oluşları gibbane halka yapısındaki hidroksil grubu sayısı ile ilgili olup, hidroksil grubunun hiç bulunmayışı veya bir hidroksil grubunun bulunuşu daha az polar gibberellinleri, iki veya daha fazla hidroksil grubunun varlığı ise daha polar gibberellinleri ifade etmektedir. Örneğin; GA_9 hiç hidroksil grubuna sahip değilken GA_4 , GA_5 ve GA_7 bir hidroksil grubuna, GA_3 ise iki hidroksil grubuna sahiptir (Şekil 1.8). Bu konuda, daha az polar gibberellin (Örneğin; $GA_{4/7}$ 'nin belli oranlardaki karışımları) uygulamalarının, Cupressaceae ve Taxodiaceae familyası üyelerinde olduğu gibi, Pinaceae familyası üyelerinde de çiçeklenmeyi artırıcı etkilerinin olduğu rapor edilmektedir (Ross ve Pharis 1976, Pharis ve Kuo 1977, Tompsett 1977, Tompsett ve Fletcher 1979). $GA_{4/7}$ 'nin çiçeklenme üzerindeki bu etkisinde klonal varyasyonun da etkili olduğunun gözardı edilmemesinin gerektiği de ifade edilmektedir. Klonlardan ancak yarısından azının bu hormon uygulamasına başarılı bir şekilde cevap verdiğine ilişkin bazı çalışmalar da bulunmaktadır (Tompsett 1977). Çiçeklenme ile ilgili olarak, çiçeklenme üzerinde $GA_{4/7}$ uygulamasının genetik olarak çiçeklenmeye eğilimli klonlarda etkili

olduğu bildirilirken [Örneğin; *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Ross ve Pharis 1976)], az çiçeklenen ağaçlarda bu uygulamanın etkisiz olduğu ile ilgili literatür bilgisi de bulunmaktadır [*Picea abies* (L.) Karst (Dunberg, 1973)]. Yine *Pinus sylvestris* L. üzerinde yapılan çalışmalar ile, GA_{4/7}'nin erkek çiçeklenme oranını arttırdığı, dişi



Şekil 1.8. GA₃, GA₄, GA₅, GA₇ ve GA₉'ün molekül yapısı

çiçeklenme üzerine etkisinin ise daha az olduğu gösterilmiştir (Luukkanen ve Johansson 1980). Bununla beraber, GA_{4/7} karışımının dışsal uygulamasının *Pinus concorta* Dougl.'da dişi çiçeklenmeyi önemli bir şekilde arttırdığı da rapor edilmektedir (Wheeler vd 1980). GA₃ ve GA₉'un da *Pinus sylvestris* L.'de dişi çiçeklenmeyi arttırdığı ancak bu etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmektedir (Luukkanen ve Johansson 1980). Tüm bu literatür bilgilerine karşın GA_{4/7} uygulamasının *Pinus sylvestris* L.'de (Chalupka 1978) ve *Picea sitchensis* (Bong.) Carr.'da (Tompsett ve Fletcher 1979) dişi çiçeklenme üzerinde, *Picea abies* L. (Dunberg 1980) ve *Larix decidua* Mill., *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.'de (Philipson

1996) ise erkek çiçeklenme üzerinde bir etkisinin olmadığına ilişkin literatür bilgileri de bulunmaktadır.

GA_{4/7} karışımının dışsal uygulamasının çiçeklenme üzerindeki etkisinin gibberellin A₃ (GA₃)'e göre daha fazla olduğu da bildirilmektedir (Ross ve Greenwood 1979, Luukkanen ve Johansson 1980'den). Diğer taraftan GA_{4/7}+A₃ karışımının dışsal uygulamasının *Picea stichensis* (Bong.) Carr.'da erkek ve dişi çiçeklenmeyi önemli bir şekilde arttırdığını gösteren çalışmalar da vardır (Tompsett ve Fletcher 1979). Yine GA_{4/7} karışımının dışsal uygulanmasının *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco tohum bahçelerinde çiçeklenmenin erken teşvik edilmesinde ve artırılmasında uygulanabilir bir metot olarak görüldüğü ve etkili olduğu da rapor edilmektedir (Ross ve Pharis 1976). Gibberellin uygulamalarının Cupressaceae ve Taxodiaceae'de olduğu gibi koniferlerin çiçeklenmesini arttırdığı da bildirilmektedir (Tompsett ve Fletcher 1979). Gibberellinlerin konifer türlerinin tohum bahçelerinde çiçeklenmeyi artırıcı en etkili ajan olduğunun görüldüğü de bildirilmektedir (Luukkanen ve Johansson 1980'den). Konifer türlerinin tohum bahçelerinde çiçeklenmenin artmasında gibberellinlerden başka, absisik asit (ABA)'ın da *Pinus massoniana*'da erkek çiçek oluşumunu belirgin bir şekilde arttırdığı bildirilmektedir (Huang ve ark. 1999).

Gibberellinlerin çeşitli çam türlerinin pekçok farklı dokularında bulunduğu rapor edilmektedir (Kamienska vd 1976). Yine gibberellin benzeri maddelerin *Larix decidua* L., *Larix leptoleptis* L., *Cupressus arizonica* Greene, *Cryptomeria japonica*, *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*, *Juniperus chinensis* 'in vejetatif sürgünlerinde, *Pinus jeffreyi* Grev ve Balf., *Pinus ponderosa* Law. ve *Pinus lambertiana* Dougl.'nın gelişmekte olan embriyolarında, *Pinus sylvestris* L. 'nin polen ve vejetatif sürgünlerinde, *Pinus attenuata* Lemm. 'in polenlerinde saptandığı da bildirilmektedir (Crozier vd 1970, Kamienska vd 1976). Yine *Picea abies* fidanlarının sürgünlerinde GA₁, GA₃, GA₄, GA₇, GA₉, GA₁₂, GA₁₅, GA₂₀, GA₂₉, GA₃₄, GA₅₁'in varlığı gösterilmiştir (Moritz 1995). Ayrıca *Pinus radiata* D. tomurcuklarında gibberellin benzeri maddelerin varlığı da belirlenmiştir (Taylor vd 1984). Örneğin; *Cupressus arizonica* Greene'nin GA₃'e eşdeğer olmak üzere yaklaşık olarak 40-70 mg/kg liyofilize doku gibberellin benzeri madde bulunmuştur (Ruddat vd 1968). Yine *Picea glauca* tohumlarında, zigotik

embriyolarında ve megagametofitlerinde ABA ve gibberellinlerin varlığı saptanmıştır (Kong vd. 1997). Bazı konifer bitki türlerinin çeşitli dokularında saptanan gibberellin miktarları farklı miktarlarda örneğin, *Pseudotsuga menziesii* 'nin vejetatif sürgününde 1,65 µg - 9,8 µg GA₃, *Cupressus arizonica* 'nın vejetatif sürgününde 40 µg - 70 µg GA₃, GA₉, GA₄, GA₇, *Pinus attenuata* poleninde 250 µg / kg GA₃ bulunmuştur.

Bitki büyüme hormonlarının çiçeklenme ve tohum verimi üzerine etkisinin neler olduğunun bilinmesi tohum bahçelerinin işletilmesi açısından önem taşımaktadır. Dolayısıyla tohum bahçelerindeki klonlarda hormonal seviyenin çiçeklenmeden olgun kozalağa kadar süreçte etkilerinin bilinmesi gerekli temel verilerin başında gelmektedir.

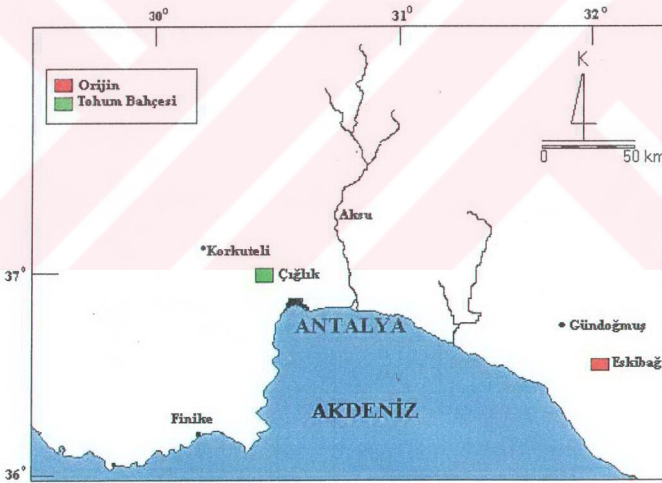
Öte yandan gibberellinlerin dışsal uygulamasının Pinaceae familyasında çiçek verimi üzerine olumlu etkisi bilinmekle beraber klonların bu işleme verecekleri cevabın da bilinmesi gerekmektedir.

İşte bu nedenlerle de, kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) tohum bahçesinde gibberellin uygulamasının ve içsel bitki hormonları seviyesinin çiçeklenme üzerine etkilerinin ortaya konulmasıyla üretilecek bilgiler ile kurulu tohum bahçelerinin etkin yönetimi üzerinde uygulamaya yön vermek amacıyla, “Gibberellin A_{4/7/9} Karışımı Uygulaması ve İçsel Bitki Hormonları Seviyesinin Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Tohum Bahçesinde Çiçeklenme Üzerine Etkileri” Yüksek Lisans Tez çalışması konusu olarak seçilmiştir.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Denemeye Konu Olan Tohum Bahçesinin Özellikleri

Denemeye konu olan, Antalya Orman Bölge Müdürlüğü Düzlerçamı Şefliği'ne bağlı, Çığlık köyü civarlarında yeralan, Gündoğmuş - Eskibağ orijinli tohum bahçesi; Antalya yöresinde bulunan, kızılçam türüne ait 12 (oniki) tohum bahçesinden birisidir (Şekil 2.1). Gündoğmuş-Eskibağ orijinli tohum bahçesinin kuruluş yeri Antalya Orman İşletme Müdürlüğü-Düzlerçamı Şefliği olup, $36^{\circ} 44' 40''$ kuzey enlemi ile $32^{\circ} 00' 00''$ doğu boylamı arasında yer almaktadır. Denizden yüksekliği 250 m dir. Orijinden alınan aşı kalemleri Şubat 1992 tarihinde daha önce $8m \times 8m$ 'lik aralıklarla dikilmiş olan altlıklara aşılanmışlardır. Bugün yaklaşık olarak 11 (onbir) yaşında olan aşılı fidanların dikildiği bu alan 17,8 ha'lık bir alan olup, 30 (otuz) farklı klondan toplam 2785 aşılı fidanı bulundurmaktadır.



Şekil 2.1. Tohum bahçesinin ve geldiği orjinin yeri

Pinus türlerinde yapılan birçok araştırma, üç yaşındaki tohum bahçelerinde az sayıda dişi çiçeğin, dört yaşında daha az erkek çiçeğin görülebildiğini; kaliteli ve

ekonomik tohum üretiminin ise, altı yaşından itibaren gerçekleştiğini belirtmektedir (Keskin 1999). Çam türlerine ait tohum bahçelerinde 10 ile 20 yaş tohum veriminin maksimuma tırmandığı bir periyot olarak kabul edilmektedir. Bu nedenlerle de denemeye konu olan tohum bahçesinin çalışmamız için uygun bir tohum bahçesi olduğu düşünülmektedir.

2.2. Tohum Bahçesinde Örneklemenin Yapılması

İlk olarak, tohum bahçesinde yaşayan ağaçlar saptanmış ve plan üzerinde işaretlendikten sonra çalışma alanının planı hazırlanmıştır. Çalışmada, çevresel farklılıklardan kaynaklanabilecek değişimleri en aza indirebilmek için, rastlantı blokları deneme deseni kullanılmıştır. Blok sayısı 3 (üç) olup, her bir blokta 3 (üç) parsel, her bir parselde de aynı klona ait 1 (bir) ağaç bulunmaktadır. Seçilen örnek ağaçların yerleri EK II'deki tohum bahçesine ait kroki üzerinde gösterilmiştir.

2.3. Bitki Büyüme Hormonlarından Gibberellin A_{4/7/9} Karışımının Dışsal Uygulanması

Hormon uygulamaları materyal ve yöntemle göre genelde enjeksiyon, püskürtme, fırça ile sürme ve pipetle bırakma şeklinde yapılmaktadır.

Tohum bahçesinde GA_{4/7/9} karışımının (sırasıyla %60 GA₄, %30 GA₇, %10 GA₉) dışsal uygulanması, kızılçamın vejetatif büyüme ve gelişme evresinde 11.07.2001 ve 24.07.2001 tarihlerinde yapılmıştır. Hormon uygulaması kızılçam gövdesinde 0,6 cm çapında ve 2,5 cm derinlikte matkap ile açılan oyuklara enjeksiyon şeklinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.2). Her bir oyuga hormon uygulaması, %95'lik etanol içinde 2,5 mg GA_{4/7/9} çözülerek elde edilen solüsyondan bir enjektör ile 0,5 ml enjekte edilerek yapılmıştır. Tohum bahçesinde hormon uygulaması 10 (on) gün ara ile her bir parseldeki aynı klona ait bir ağaç olmak üzere 3 (üç) blokta toplam 9 (dokuz) ağaç üzerinde iki defa yapılmıştır. Uygulama grupları olarak; 1) Etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmamış ağaçlar, 2) %95'lik etanol uygulaması yapılmış ağaçlar, 3) GA_{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış ağaçlar kullanılmıştır.



a



b

Şekil 2.2. a) Ağacın gövdesinde matkap ile oyuk açılması
b) Ağaca enjeksiyon şeklinde hormon uygulaması

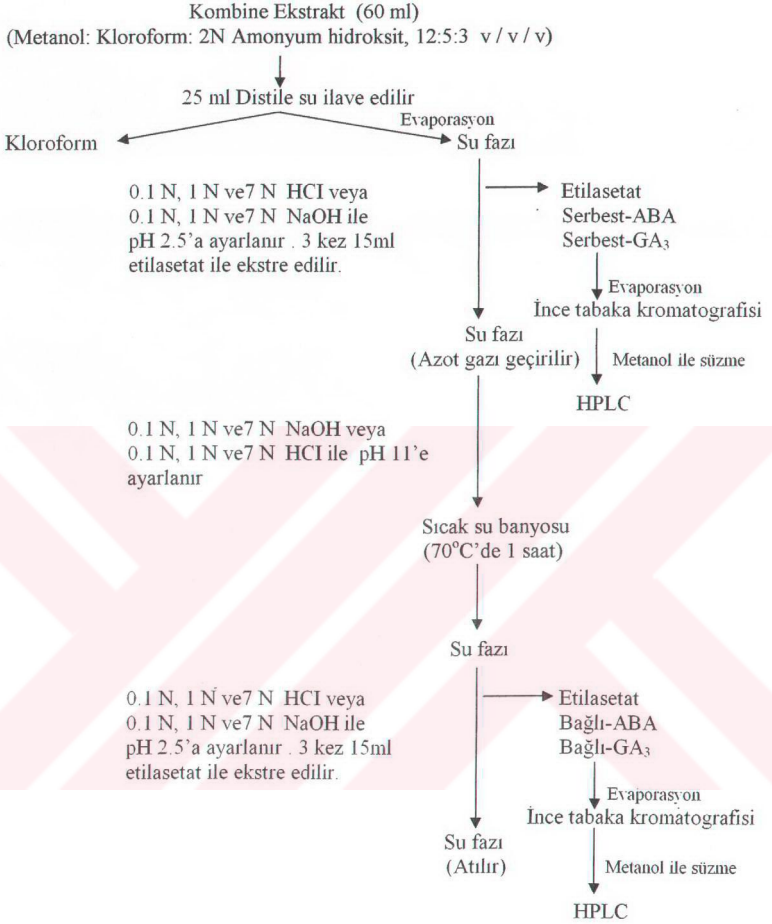
2.4. İçsel Gibberellin (GA₃) ve Absisik Asit (ABA)'in Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Analiz İşlemleri

İçsel gibberellik asit (GA₃) ve absisik asit (ABA)'in ekstraksiyon, saflaştırma ve analizi için hormon uygulamasından önce (11.07.2001), 1. hormon uygulamasından (11.07.2001) 10 (on) gün sonra (21.07.2001) ve 2. hormon uygulamasından (21.07.2001) 10 (on) gün sonra (31.07.2001) olmak üzere üç farklı zamanda sürgün uçlarından doku örnekleri alınmıştır. Hormon ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analiz işlemleri üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

İçsel -GA₃ ve -ABA ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analiz işlemleri bazı değişiklikler ile Topcuoğlu ve Ünyayar (1995), Ünyayar vd (1996) ve Karadeniz (2000)'e göre yapılmıştır (Şekil 2.3). İçsel -GA₃ ve -ABA miktarlarının tayininde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılmıştır.

GA₃ ve ABA ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında kullanılan yöntem sırasıyla aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

I) Kızılçam sürgün ucu dokusundan 1'er g taze ağırlıkta ince kıyılmış örnekler alınmıştır. Her bir örnek, içlerinde 20 ml ekstraksiyon solventi (Metanol: Kloroform: 2N Amonyum hidroksit, 12:5:3 v / v / v) bulunan 150 ml'lik, kapaklı, kahverengi şişelere konulmuş ve etiketlenmiştir. Her bir örnek şişesinin içine antioksidant madde olarak 1mg/100 ml bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) konulmuştur. Büyüme hormonlarının ışıktan ve pH değişimlerinden etkilenmemesi için şişelerin dış tarafı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. İçinde örnek ve ekstraksiyon solventi bulunan bu şişeler, buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır. 1 hafta sonra şişeler buzdolabından çıkarılarak içlerindeki orijinal ekstrakt (solvent), ayrı 100 ml'lik, kapaklı, kahverengi şişelere filtre kağıdı ile süzülerek alınmış ve uygun şekilde etiketlenmiştir. Daha sonra içinde numune bulunan şişelere tekrar aynı solventten 40 ml konulmuştur. Tüm şişeler tekrar buzdolabında +4 °C'de 1 hafta süreyle saklanmıştır. Bu sürenin sonunda şişeler buzdolabından çıkarılmış ve içinde örnek olan şişelerdeki solventler (40 ml),



Şekil 2.3. Bitkisel büyüme hormonlarından GA₃ ve ABA için ekstraksiyon şeması
(Topcuoğlu ve Ünyayar 1995 ve Karadeniz 2000'den değiştirilerek)

etiketlerine uygun olarak, içlerinde örnek olmayan ve orijinal ekstrakt (20 ml) bulunan şişelere filtre kağıdı ile süzülerek boşaltılmıştır. Böylece, saflaştırma işlemine hazır kombine ekstraktlar (60 ml) elde edilmiştir. Daha sonra bu şişeler buzdolabında +4°C’de ekstraksiyon işlemine kadar saklanmıştır.

2.5. Ekstraksiyon İşlemleri

I) Her bir kombine ekstrakt 250 ml’lik ayırma hunilerine alınmış ve üzerine 25 ml distile su konulmuştur. Ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak kloroform ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle büyüme hormonları hariç sulu metanol fazındaki organik maddelerin kloroform fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında kloroform ve sulu metanol fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunilerindeki musluklar yardımıyla, altta kalan kloroform fazı atılmıştır.

II) Kloroform fazının tamamıyla atılabilmesi için ayırma hunilerinde kalan sulu metanol fazı ekstraksiyon balonlarına alınarak su fazı kalana kadar rotary evaporatör (Büchi marka) aleti ile + 40 °C’de su banyosu içinde evapore edilmiştir.

III) Ekstraksiyon balonlarında kalan su fazlarının pH’sı 0,1N, 1N ve 7N HCl veya 0,1N, 1N ve 7N NaOH kullanılarak 2,5’e ayarlanmıştır.

IV) 100 ml’lik cam ekstraksiyon balonları hazırlanmıştır. Bunun için, ekstraksiyon balonları etil asetat ile çalkalanarak temizlenmiş ve ağızları açık kalacak şekilde dış tarafı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Ekstraksiyon balonunun dik durabilmesi için de uygun plastik kaplara yerleştirilmiştir. pH’sı 2,5’e ayarlanan ve 250 ml’lik ayırma hunilerine alınan her bir örnek üzerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki GA₃ ve ABA’nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise daha önceden hazırlanan etiketli ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

V) Behere alınan su fazı tekrar ayırma hunisine alınmış ve üzerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi tekrar kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karışması ve böylelikle su fazındaki GA_3 ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

VI) V tekrarlanmıştır. Böylece 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki GA_3 ve ABA, serbest- GA_3 , ve serbest-ABA'dır. Daha sonra, bu ekstraksiyon balonlarının ağızları parafilmle ve alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra $+4^{\circ}C$ 'de evaporasyon işlemine kadar saklanmıştır.

VII) Beherlerdeki su fazında bulunabilen etil asetatın uzaklaştırılabilmesi için, su fazının içinden azot gazı geçirilmiştir.

VIII) Azot gazından geçirilerek etil asetatdan arındırılan su fazının pH'sı 0,1N, 1N ve 7N NaOH ve 0,1N, 1N ve 7N HCl kullanılarak 11'e ayarlanmıştır.

IX) Beherlerin ağızları fazla sıkı olmamak üzere alüminyum folyo ile kapatılarak bir saat $70^{\circ}C$ 'de su banyosunda bırakılmış ancak beherler bu süre içerisinde her 10 dakikada bir çalkalanmıştır.

X) Bir saat sonra beherler sıcak su banyosundan çıkartılmış ve soğumaya bırakılmıştır.

XI) Bağlı- GA_3 ve -ABA ekstraksiyonu için, beherde kalan su fazının pH'sı 0,1N, 1N ve 7N HCl ve 0,1N, 1N ve 7N NaOH kullanılarak 2.5'e ayarlanmıştır.

XII) pH'sı 2.5'e ayarlanan ve 250 ml'lik ayırma hunisine alınan su fazının üzerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi tekrar kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karışması ve böylelikle su

böylelikle su fazındaki GA_3 ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise daha önceden hazırlanan etiketli ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

XIII) Behere alınan su fazı tekrar ayırma hunisine alınmış ve üzerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi tekrar kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve su fazının homojen bir şekilde birbirine karışması ve böylelikle su fazındaki GA_3 ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

XIV) XII tekrarlanmıştır. Böylece 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki GA_3 ve ABA, bağlı- GA_3 ve -ABA'dır. Daha sonra, bu şekildeki ekstraksiyon balonlarının ağızları parafilmle ve alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra $+4^{\circ}C$ 'de buzdolabında evaporasyon işlemine kadar saklanmıştır.

XV) Beherde kalan su fazları atılmıştır.

2.6. Evaporasyon İşlemleri

Ekstraksiyon balonlarında bulunan serbest - GA_3 ve -ABA ile bağlı - GA_3 ve -ABA içeren kombine etil asetat fazları rotary-evaporatör (Bibby marka) aleti ile $+40^{\circ}C$ 'de su banyosu içinde tamamen kuruyuncaya kadar evapore edilmiştir. Evaporasyon işlemi sonunda örneklerin ince tabaka kromatografisi işlemleri yapılmıştır.

2.7. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri

I) İnce tabaka kromatografisi cam plakları (20 x 20 cm) inorganik bir floresans bileşik içeren silikajel GF₂₅₄ (Merck) ile 0,25 mm kalınlığında kaplandıktan sonra aktivasyon için etüvde $100^{\circ}C$ 'de 1 saat kurutulmuştur.

II) Cam plakalar kenarlarından 2 mm kazınarak GA₃, ve ABA karışımı ekstraktın bant halinde ve 10⁻² M standart sentetik -GA₃ (Sigma G-7645) ve -ABA'nın (Sigma A-1049) nokta halinde uygulanabileceği şekilde iki bölüme ayrılmıştır.

III) Ekstraksiyon balonlarında bulunan GA₃, ve ABA karışımı ekstraktlar her defasında 0.5 ml metanol ile çözülerek, iki defa çok ince uçlu pastör pipeti yardımıyla etiketlerine göre cam plakalar üzerine bant oluşturularak tatbik edilmiştir. Ayrıca, her cam plaka üzerine nokta halinde 10⁻² M standart sentetik -GA₃ ve -ABA üst üste gelecek şekilde sırası ile ikişer damla uygulanmıştır.

IV) Bu cam plakalar, içerisinde isopropanol: amonyak: distile su (10:1:1 v/v/v) karışımı solvent bulunan ince tabaka kromatografisi tankı içine yerleştirilmiştir. Cam plakalar, solvent sistemi tatbik noktasından itibaren 11 cm yükselineye kadar tankın içinde bekletilmiştir. Solvent sisteminin yükselmesi tamamlandığında cam plakalar tanktan çıkarılmış ve bir vantilatör karşısında kurutulmuştur.

2.8. GA₃ ve ABA Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi

GA₃ ve ABA bölgelerinin belirlenebilmesi için plakalar karanlık odada 254 nm dalga boyundaki UV ışığında incelenmiştir. Plaka üzerinde mor floresans renk veren ekstrakta ait ABA bölgesi ile standart sentetik ABA bölgesi kıyaslanmıştır. Numunelerdeki GA₃ bölgelerinin UV ışığında belirlenmesi için plaka üzerinde standart sentetik GA₃'ün tatbik edildiği bölüme %5 konsantrite sülfürik asit (H₂SO₄) içeren etanol çözeltisi püskürtülerek standart sentetik GA₃ bölgesi görünür hale getirilmiştir. Mavi-yeşil renk veren standart sentetik GA₃ bölgesi belirlenerek elde edilen R_f değerine göre ekstrakta ait GA₃ bölgesi belirlenmiştir.

2.9. GA₃ ve ABA Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri

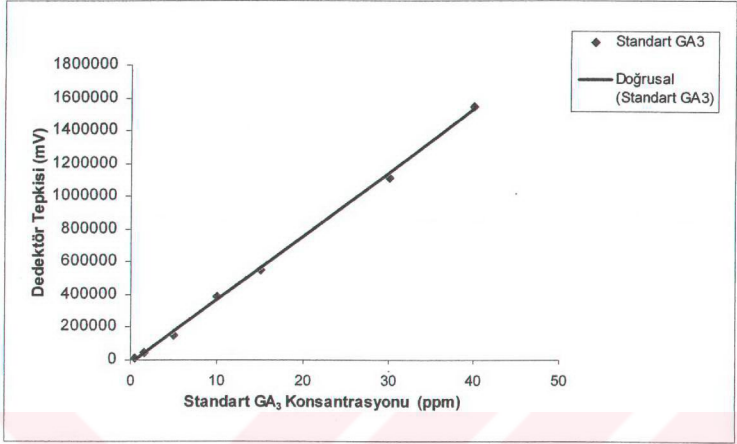
UV ışığında belirlenen GA₃ ve ABA bölgeleri, standart sentetik -GA₃ ve -ABA bölgelerinin altından ve üstünden geçen birer çizgi ile işaretlenmiştir. Cam plakalar üzerindeki işaretli GA₃ ve ABA bölgelerini içeren silikajel uygun bir kazıyıcı

yardımla kazınarak her biri ayrı ayrı temiz bir kağıt üzerine alınmıştır. Kağıt üzerine alınan silikajel, boğaz kısımlarına cam pamuğu yerleştirilmiş pastör pipetlerine boşaltılmıştır. Pastör pipetlerindeki silikajelden 2 ml metanol geçirilerek GA₃ ve ABA 10 ml'lik etiketli cam tüplere alınmıştır. Cam tüpler içindeki metanol bir vantilatör karşısında uçurularak serbest- ve bağlı -GA₃ ve -ABA kuru olarak elde edilmiştir. İçinde kuru halde GA₃ ve ABA ekstraktı bulunan cam tüpler alüminyum folyoya sarılarak HPLC'de okununcaya kadar derin dondurucuda -15°C'de saklanmıştır.

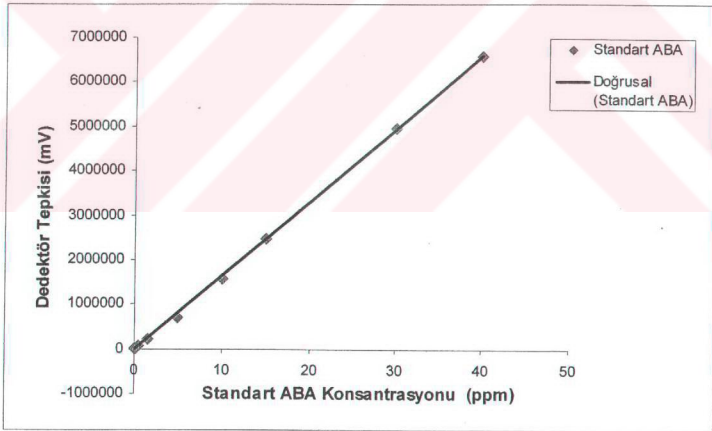
2.10. GA₃ ve ABA Miktarlarının HPLC Tekniği ile Belirlenmesi

Cam tüpler içersinde kuru halde bulunan GA₃ ve ABA ekstraktları 0,1 ml metanol ile çözülerek 0,45 µm por hacimli enjeksiyon filtreleriyle filtre edilmiştir. Toplam 168 adet örneğin herbiri zıt faz HPLC'ye (Cecil 1100 Series, HPLC kolonu: Supelcosil LC-18, 25 cm x 4,6 mm, 5 µm) 5 µl enjekte edilmiştir. Sürükleyici faz (bitki büyüme hormonlarının HPLC kolonunda sürüklenmesini sağlayan solvent) olarak GA₃ için metanol ve bidistile su (30:70 v/v, fosforik asitle pH 3'e ayarlanmıştır) ve ABA için metanol ve 0,1 M asetik asit çözeltisi (55:45 v/v) kullanılmıştır. Sürükleyici fazda kullanılan metanol HPLC çalışmaları için hazırlanmış saflıktadır. Ultraviyole (UV) maksimum absorbsiyon dalga boyları, GA₃ için 208 nm ve ABA için 253 nm'ye ayarlanmıştır.

GA₃ ve ABA miktarları her biri için ayrı ayrı hazırlanan doğrusal regresyon grafiğinden ppm olarak hesaplanmıştır (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5). Bazı standart sentetik ve örnek GA₃ ve ABA kromatogramları Şekil 2.6, 2.7, 2.8 ve 2.9'da gösterilmiştir. İçsel gibberellin ve absisik asit miktarları standart sentetik -GA₃ ve -ABA'ya eşdeğer olarak ifade edilmiştir.

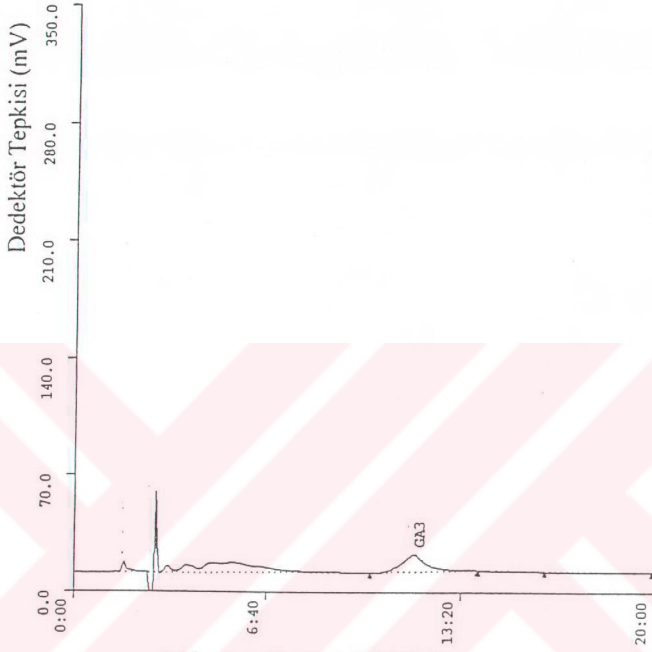


Şekil 2.4. İçsel GA_3 'ün miktar tayininde esas alınan standart sentetik GA_3 doğrusal regresyon grafiği ($r=0,99936$)



Şekil 2.5. İçsel ABA'nın miktar tayininde esas alınan standart sentetik ABA doğrusal regresyon grafiği ($r=0,99983$)

Cgm - 01pe000.~PM ID - toy.~UNKNOWN recorded - 09/01/80 17:14:01
printed - 09/01/80 17:34:04 R Method - 1 P Method - 1

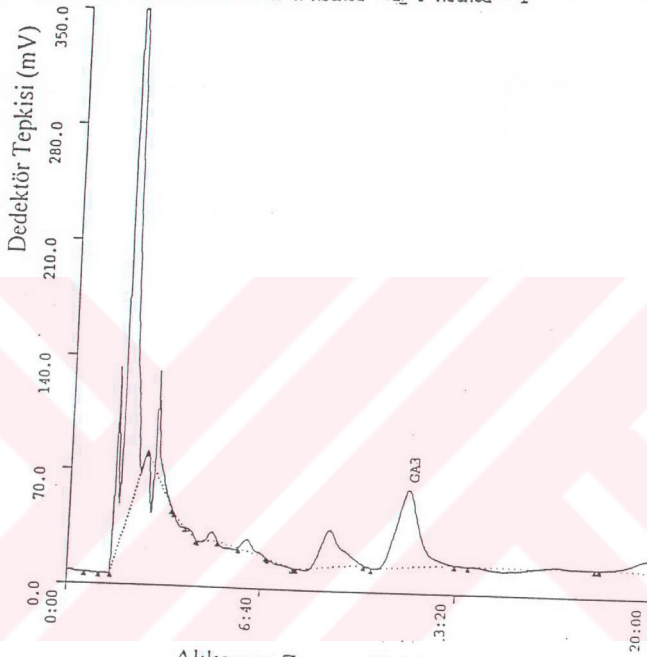


Results for Sample toy (01pe000.~PM) UNKNOWN
Recorded 09/01/80 17:14:01 Printed 09/01/80 17:34:04

No.	Time	Name	Area	Height	ppm	Type
1	11:44.0	GA3	603253.75	10350	16.37	≡≡
2	17:01.4	***	-24641.23	123	0.00	≡≡

Şekil 2.6. Standart sentetik- GA_3 ' e ait HPLC kromatogramı

Qm - gelb2010.7PM ID - gelk1s2bag2 UNKNOW recorded - 10/01/80 00:48:27
 Printed - 10/01/80 01:38:29 R Method - 1, P Method - 1



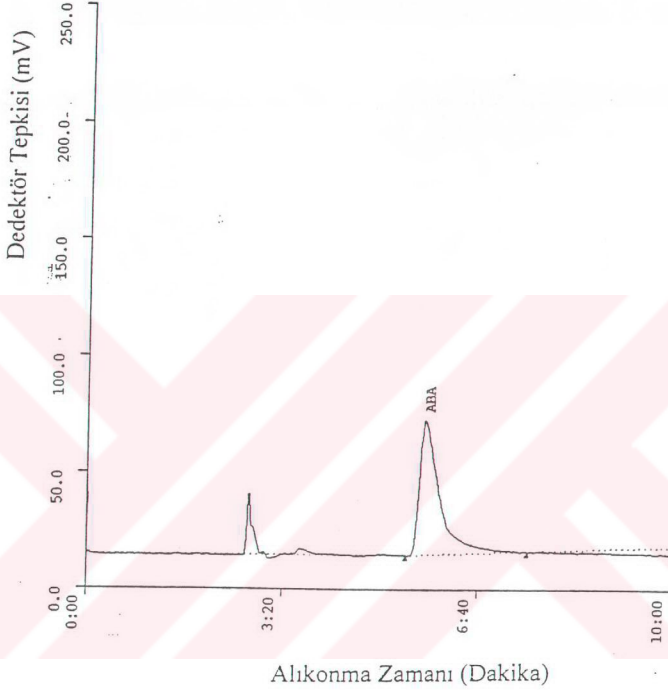
Alıkonma Zamanı (Dakika)

Results for Sample gelk1s2bag2 (gelb2010.7PM) UNKNOW
 Recorded 10/01/80 00:48:27 Printed 10/01/80 01:38:29

No.	Time	Name	Area	Height	ppm	Type
1	0:42.2	***	-325.22	65	0.00	uuu
2	1:55.2	***	9955522.00	872314	0.00	uuu
3	2:56.6	***	302234.31	61238	0.00	uuu
4	3:37.6	***	-53753.25	-558	0.00	uuu
5	4:03.2	***	18049.94	251	0.00	uuu
6	4:57.0	***	74579.90	5455	0.00	uuu
7	6:10.0	***	162040.33	7263	0.00	uuu
8	6:53.5	***	-43355.95	-111	0.00	uuu
9	8:53.0	***	1260793.83	22743	0.00	uuu
10	11:37.8	GA3	2501599.25	46350	0.00	uuu
11	16:37.4	***	-189323.94	733	0.00	uuu

Şekil 2.7. Kızılcām sürgün uçlarından ekstrakte edilen bağı-GA₃ numunesine ait HPLC kromatogramı

Cgm - 01po000.~FM ID - toy UNKNOWN recorded - 17/09/101 07:31:44
printed - 17/09/101 07:41:49 R Method - 1 P Method - 1

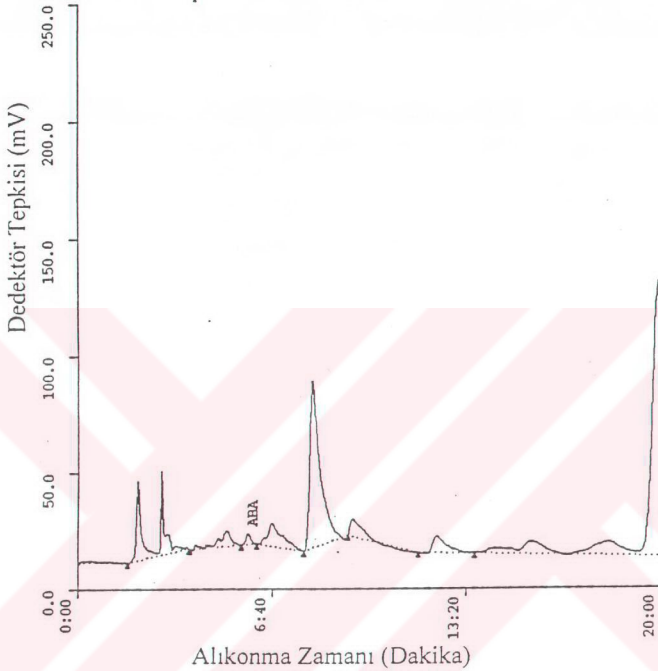


Results for Sample toy (01po000.~FM) UNKNOWN
Recorded 17/09/101 07:31:44 Printed 17/09/101 07:41:50

No.	Time	Name	Area	Height	Fpm Type
1	5:44.8	ABA	1427921.88	57751	8.90 B B

Şekil 2.8. Standart sentetik-ABA'ya ait HPLC kromatogramı

Cgm - EK06010.7FM ID - B1K10BABA2 UNKNOWN recorded - 07/09/101 19:39:29
 printed - 07/09/101 20:29:39 R Method - 1 P Method - 1



Results for Sample B1K10BABA2 (EK06010.7FM) UNKNOWN
 Recorded 07/09/101 19:39:29 Printed 07/09/101 20:29:40

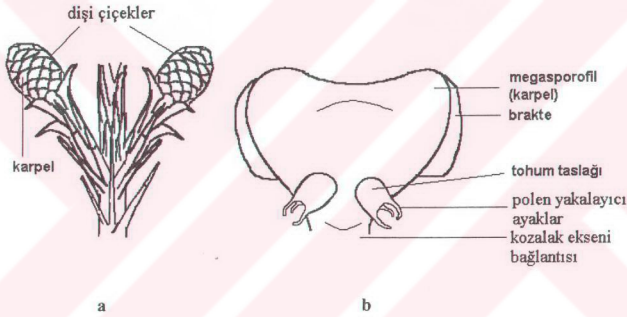
No.	Time	Name	Area	Height	ppm Type
1	2:52.8	***	714375.69	35903	0.00 B B
2	3:51.6	***	-56.96	0	0.00 B B
3	5:48.1	ABA	53470.72	4639	0.48 B B
4	8:03.8	***	1742290.50	71588	0.00 B B
5	12:19.8	***	228794.88	7144	0.00 B B
6	34:55.3	***	20481618.00	178263	0.00 B B

Şekil 2.9. Kızılçam sürgün uçlarından ekstrakte edilen bağlı-ABA numunesine ait HPLC kromatogramı

2.11. Dişi ve Erkek Çiçek Sayımları

Kızılçam eşey özellikleri bakımından, Pinaceae familyasının diğer üyelerinde olduğu gibi, diklin çiçeğe sahip monoik bir bitkidir. Yani dişi ve erkek çiçekler aynı ağaç üzerinde, ancak ayrı dallardadırlar.

Dişi çiçekler genellikle genç sürgünlerin supterminal (uç tomurcuğun hemen altında) kısmında bulunur. Fakat nadir durumlarda, genç sürgünler üzerinde düzensiz olarak lateral dizilmiş de olabilirler. Kızılçam dişi çiçek toplulukları olan kozalaklar iki yılda bir olgunlaşır ve kozalak üzerindeki her bir karpel iki tane tohum taslağı taşıır (Keskin 1999) (Şekil 2.10). Tozlaşma ilkbaharda olduğu halde döllenme olayının,



Şekil 2. 10. a) İkili bir dişi çiçek kümesi
b) Üzerinde bir çift tohum taslağı taşıyan karpel (Keskin 1999)

gerçekleşmesi için polen taneleri kozalakçığa girdikten sonra, uzun süre ovülün gelişmesini beklerler. Kızılçamda bir dişi çiçek ve gelişim aşamaları Şekil 2.11’de verilmiştir (Keskin 1999).

Erkek çiçekler, diğer Pinus türlerinde olduğu gibi, her yıl oluşan uzun sürgünlerin dip taraflarında bulunurlar. Sapsız (filamentsiz) iki polen kesesini taşıyan stamen pullarının birçoğu, sarmal olarak bir eksen etrafında dizilerek bir kozalakçık görünümü alırlar. Bu kozalakçıklar, nadiren tek tek, çoğu kez iki ya da daha fazla sayıda bir araya gelerek küme oluştururlar (Şekil 2.12) (Keskin 1999). Kızılçamda bir erkek çiçek ve gelişim aşamaları Şekil 2.13’de verilmiştir (Keskin 1999).



(a)



(b)



(c)



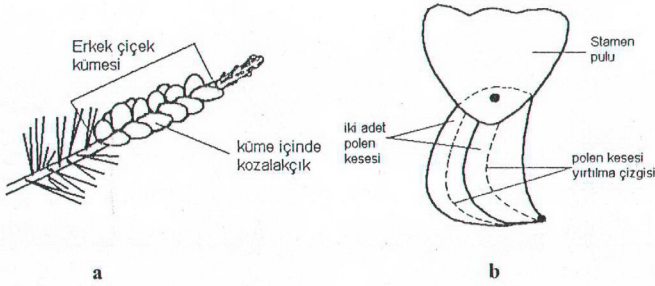
(d)



(e)

Şekil 2.11. Kızılcıdamda bir dişi çiçek ve gelişim aşamaları (Keskin 1999)

- a) Tomurcuk pullarının gevşemesi
- b) Braktelerin görünmesi
- c) Braktelerin çiçek eksenine dik olarak açılması
- d) Braktelerin kapanmaya başlaması
- e) Braktelerin tümüyle kapanması



Şekil 2. 12. a) Dal üzerinde erkek çiçek kümesi
b) Erkek kozalakçıkların taşıdığı stamenlerden bir çift (Keskin 1999)

Tohum bahçesinde, erkek çiçekler (erkek kozalakçık) dişi çiçeklerden önce belirmediği ve polenlerin dağılmasından sonra dökülerek kaybolduğu için, sayıma erkek çiçeklerden başlanmıştır. Kızılçamda erkek çiçek kümelerinin 1 ile 30 arasında değişen sayılarda erkek kozalakçık taşıdıkları belirlenmiştir (Keskin 1999). Keskin (1999)'e göre erkek çiçek kümeleri üç gruba ayrılarak sayılmıştır;

- I. grup : 1-10 adet erkek kozalakçık taşıyan kümeler,
- II. grup : 11-20 adet erkek kozalakçık taşıyan kümeler,
- III. grup : 21-30 ve daha fazla adet erkek kozalakçık taşıyan kümeler.

Her gruptaki erkek kozalakçık sayısı hakkında doğru bir tahminde bulunabilmek için, gruptaki küme sayısı grup orta değeri ile çarpılmıştır (orta değerler; I. grup için 5, II. grup için 15, III. grup için 25 olarak alınmıştır). Bu çarpım sonucu elde edilen değerler toplanarak, toplam kozalak sayısı belirlenmiştir. Bu işlem, önce bir ağacın her ana sürgününden çıkan en alt konumlu dalların tüm uç ve yan dalları üzerindeki bütün erkek kozalakçıklar ve sonra da bu ağaç üzerindeki bütün ana sürgünler için tekrarlanmış ve böylece bir ağacın üretmiş olduğu toplam erkek çiçek kozalakçığı sayısı hesaplanmıştır (Keskin 1999).



(a)



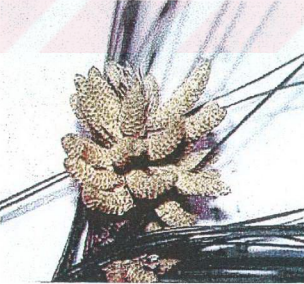
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 2.13. Kızılçamda bir erkek çiçek ve gelişim aşamaları (Keskin 1999)

- a) Tomurcukların belirmesi
- b) Tomurcuk pullarının açılmaya başlaması
- c) Tomurcuk pullarının dökülmesi
- d) Polen dağılımının başlaması
- e) Maksimum polen dağılıma dönemi

Kızılçamda dişi çiçeklerin dallar üzerinde birli, ikili, üçlü, dörütlü veya beşli gruplar oluşturacak biçimde bulunması nedeniyle, erkek çiçeklerde olduğu gibi bir sınıflandırmaya gerek yoktur. Dişi çiçek sayısı hesaplanırken önce herbir ağacın ana sürgününden çıkan en alt konumlu dalların tüm uç ve yan dalları üzerindeki bütün dişi çiçekler sayılmış ve daha sonra da tüm ağaç üzerinde bu işlem tekrarlanarak, bir ağaçtaki toplam dişi çiçek sayısı bulunmuştur.

Sonuçlar, ağacın tepe tacı hacmine (m^3) düşen çiçek sayısı üzerinden hesaplanmıştır. Ağacın tepe tacı hacmi koninin hacim formülünden hesaplanmıştır:

$$V = \frac{\pi r^2 H}{3}$$

Burada: V = Tepe tacı hacmi (m^3),

r = tepe tacının yarıçapı (m),

H = ağacın boyu (m)'dır.

Ağacın tepe tacının yarıçapı hesaplanırken öncelikle ağacın kuzey-güney yönünün ve doğu batı yönünün yarıçapları ölçülmüştür. Daha sonra hacim hesabı yapılırken bu iki yarıçapın ortalaması alınarak ortalama bir yarıçap bulunmuştur ve bu değer tepe tacının yarıçapı olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışmada geçen 'dişi çiçek' ve 'erkek çiçek' terimleri, botanik literatüründe yer alan 'dişi çiçek durumu' ve 'erkek çiçek durumu' terimlerine karşılık olarak kullanılmıştır. *Gymnospermae*'lerde, her bir çiçek, brakte (taşıyıcı yaprak) denen bir yaprağın koltuğunda yer alır ve megasporofiller (dişi spor kesesini taşıyan yaprak) ya da mikrosporofiller (erkek spor kesesini taşıyan yaprak), bir eksen çevresinde spiral biçimde dizilerek bir kozalak şeklini alır.

2.12. Verilerin İstatistiksel Analizleri

Çalışmamızda uygulama grubu ve zamana göre içsel hormon miktarı farklılıklarının önemli olup olmadığını %95 güven düzeyinde belirlemek için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi, uygulama gruplarındaki çiçek miktarı farklılıklarının %95 güven düzeyinde önemli olup olmadığını belirlemek için Tukey testi yapılmıştır. İçsel hormon miktarları ile çiçeklenme arasındaki ilişkinin %95 güven düzeyinde anlamlı olup olmadığını belirlemek için ise korelasyon değeri (r) hesaplanmıştır. Adı geçen istatistiksel testlerin yapılmasında ve temel parametrelerin hesaplanmasında SPSS (versiyon 10.0) ve SAS paket programları kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Bulgularımızdaki toplam -GA₃ ve -ABA miktarları serbest- ve bağı -GA₃ ve -ABA değerlerinin toplamını ifade etmektedir.

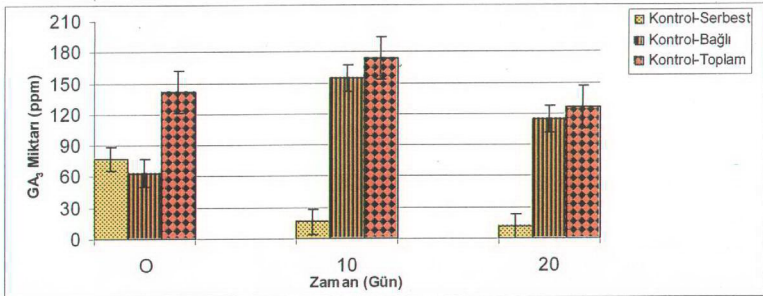
3.1. Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Sürgün Uçlarında GA₃ ve ABA Miktarları

Çalışmada kullanılan kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) sürgün uçlarında serbest-, bağı ve toplam -GA₃ ve -ABA miktarları standart sentetik-GA₃ ve -ABA'ya eşdeğer olarak ifade edilmiş ve Çizelge 3.1'de verilmiştir.

3.1.1. GA₃ miktarı

3.1.1.1. Kontrol kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında

Etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmamış kızılçam ağaçlarının uçlarından 0. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 77,61ppm, 63,56 ppm, 141,17 ppm, 10. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 16,22 ppm, 154,57 ppm, 170,79 ppm, 20. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 11,23 ppm, 114,48 ppm, 125,71 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1). Yapılan istatistik analize göre, kızılçam sürgün uçlarından 10. ve 20. günde alınan kontrol grubu doku örneklerinde toplam-GA₃ miktarları arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05).



Şekil 3.1. Kontrol grubunda zamana bağı olarak serbest-, bağı- ve toplam-GA₃ miktarı değişimleri (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)

Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Kontrol, Etanol ve GA4/7/9 Karışımı Hormon Uygulanmış Kızılcām (Pinus brutia Ten.) Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarında Serbest-, Bağlı- ve Toplam –GA3 ve –ABA Eşdeğer Miktarları (değerler 3 Tekrarın Ortalaması ± Standart Hata Olarak Verilmiştir).

UYGULAMA GRUBU	ZAMAN (gün)	HORMON EŞDEĞER MİKTARI (ppm)					
		GA ₃			ABA		
		Serbest	Bağlı	Toplam	Serbest	Bağlı	Toplam
Kontrol	0	77,61±31,95	63,56±30,16	141,17±62,09	1,14±0,25	2,42±0,65	3,56±0,62
	10	16,22±3,61	154,57±9,08	170,79±8,30	1,43±0,20	1,08±0,14	2,51±0,29
	20	11,23±3,19	114,48±13,81	125,71±12,34	0,70±0,11	0,92±0,09	1,62±0,13
Etanol	10	11,28±2,95	2,19±0,47	13,47±2,76	1,19±0,19	1,10±0,34	2,29±0,42
	20	27,61±6,46	124,46±43,18	152,07±48,56	2,02±0,67	0,39±0,04	2,41±0,71
Hormon	10	55,15±26,47	8,89±3,34	64,05±29,81	0,61±0,10	1,17±0,25	1,78±0,26
	20	18,89±4,94	3,71±0,72	22,60±4,25	2,30±0,64	0,93±0,17	3,24±0,73

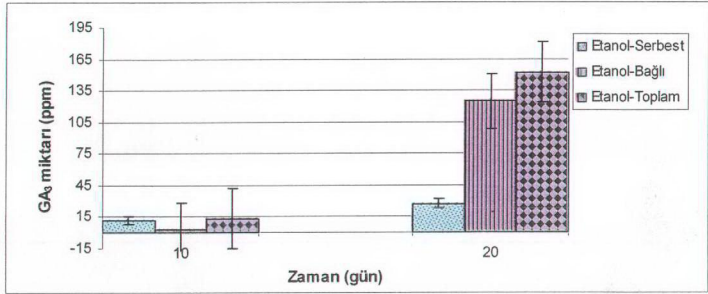
3.1.1.2. Etanol uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında

Etanol uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 11,28 ppm, 2,19 ppm, 13,47 ppm, 20. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 27,61 ppm, 124,46 ppm, 152,07 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.2). Etanol uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. ve 20. günde alınan doku örneklerinde toplam-GA₃ miktarları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

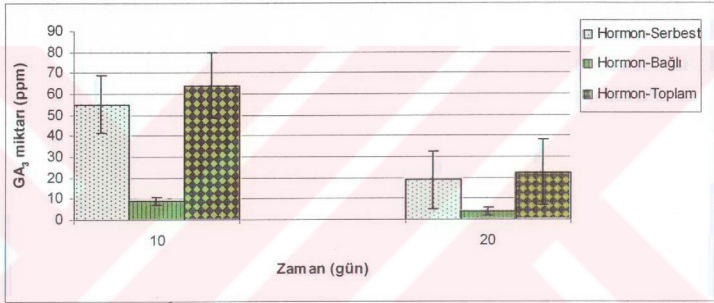
3.1.1.3. GA_{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında

GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 55,15 ppm, 8,89 ppm, 64,05 ppm, 20. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları sırasıyla 18,89 ppm, 3,71 ppm, 22,60 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.3). GA_{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. ve 20. günde alınan doku örneklerinde toplam-GA₃ miktarları arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

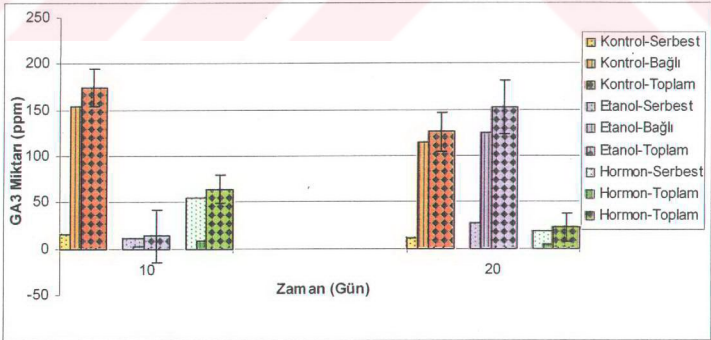
Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından alınan doku örneklerinde GA₃ miktarları karşılaştırıldığında (Şekil 3.4.); 10. günde sadece kontrol grubu ve etanol uygulanan grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken ($P<0,05$), 20. günde alınan doku örneklerinde ise sadece kontrol grubu ve GA_{4/7/9} uygulanan grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).



Şekil 3.2. Etanol uygulaması yapılmış grupta zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarı değişimleri (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)



Şekil 3.3. $GA_{4/7/9}$ uygulaması yapılmış grupta zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarı değişimleri (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)



Şekil 3.4. Uygulama grupları arasında zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarı değişimlerinin karşılaştırılması (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)

3.1.2. ABA miktarı

3.1.2.1. Kontrol kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında

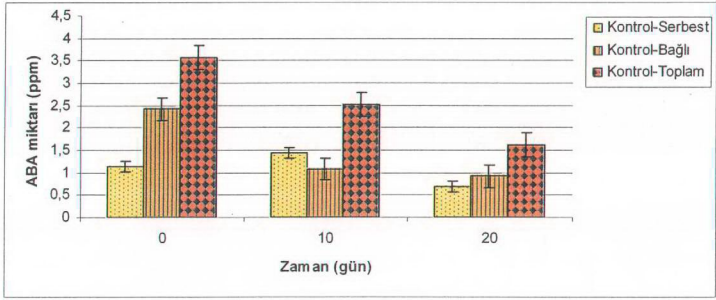
Etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmamış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 0. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 1,14 ppm, 2,42 ppm, 3,56 ppm, 10. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 1,43 ppm, 1,08 ppm, 2,51 ppm, 20. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 0,70 ppm, 0,92 ppm, 1,62 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.5). Yapılan istatistik analize göre, kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. ve 20. günde alınan kontrol grubu doku örneklerinde toplam-ABA miktarları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

3.1.2.2. Etanol uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında

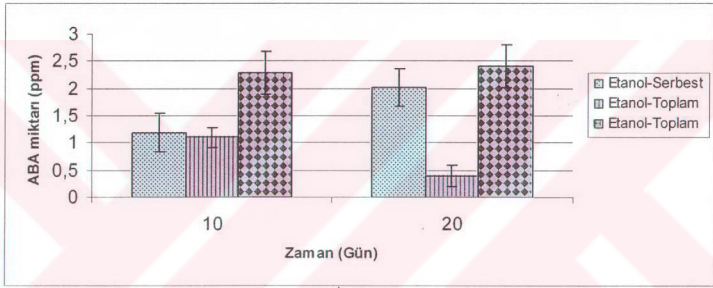
Etanol uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 1,19 ppm, 1,10 ppm, 2,29 ppm, 20. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 2,02 ppm, 0,39 ppm, 2,41 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.6). Etanol uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. ve 20. günde alınan doku örneklerinde toplam-ABA miktarları arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

3.1.2.3. GA_{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarından alınan sürgün uçlarında

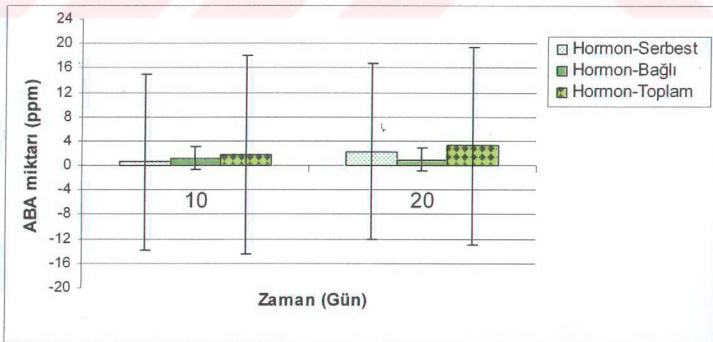
GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 10. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 0,61 ppm, 1,17 ppm, 1,78 ppm, 20. günde alınan doku örneklerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 2,30 ppm, 0,93 ppm, 3,24 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.7). GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından



Şekil 3.5. Kontrol grubunda zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarı değişimleri (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)



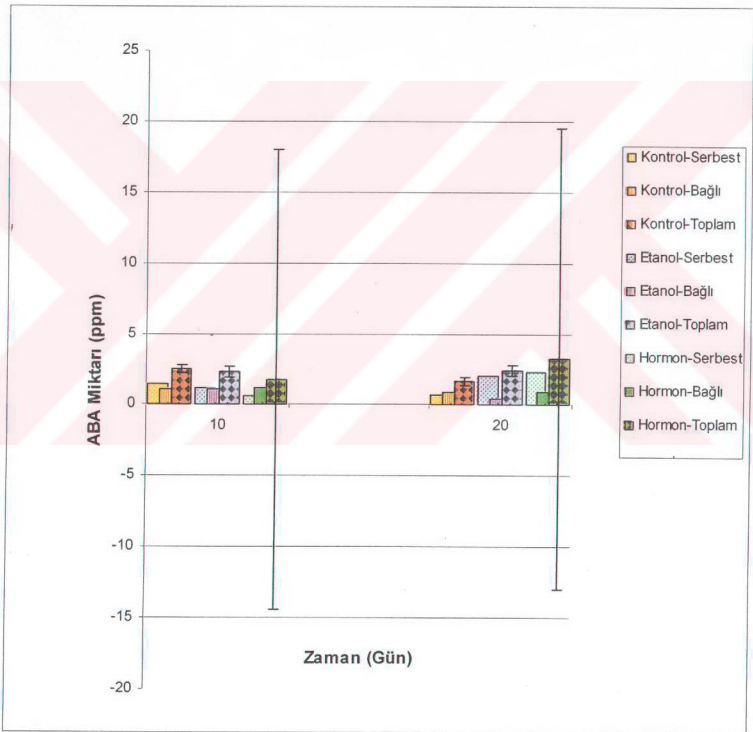
Şekil 3.6. Etanol uygulaması yapılmış grubunda zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarı değişimleri (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)



Şekil 3.7. $GA_{4/7/9}$ uygulaması yapılmış grupta zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- ABA miktarı değişimleri (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)

10. ve 20. günde alınan doku örneklerinde toplam-ABA miktarları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Kontrol, etanol ve $GA_{4/7/9}$ uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından alınan doku örneklerinde ABA miktarları karşılaştırıldığında (Şekil 3.8.); 10. günde kontrol grubu, etanol uygulaması yapılmış grup ve $GA_{4/7/9}$ uygulaması yapılmış grup arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Aynı şekilde, 20. günde kontrol grubu, etanol uygulaması yapılmış grup ve $GA_{4/7/9}$ uygulaması yapılmış grup arasındaki farklılık da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).



Şekil 3.8. Uygulama grupları arasında zamana bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarı değişimlerinin karşılaştırılması (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)

3.2. Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarında dişi ve erkek çiçek miktarları

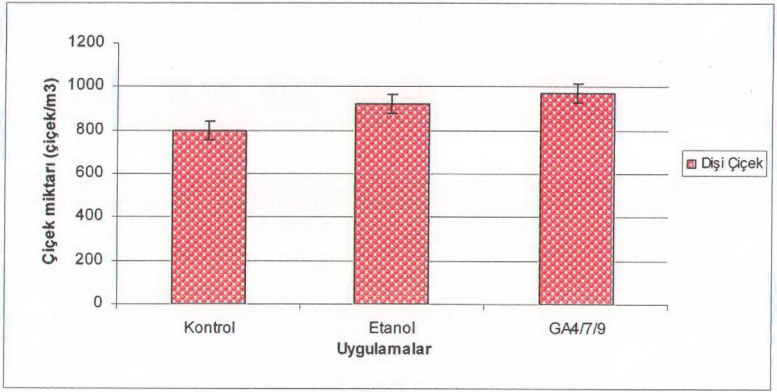
Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarında dişi çiçek miktarları sırasıyla; 800 çiçek/m³, 920 çiçek/m³, 970 çiçek/m³ olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2, Şekil 3.9). Dişi çiçek miktarları karşılaştırıldığında yapılan istatistik analize göre sadece kontrol grubu ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış grup arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge.3.2. Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarında dişi ve erkek çiçek miktarları

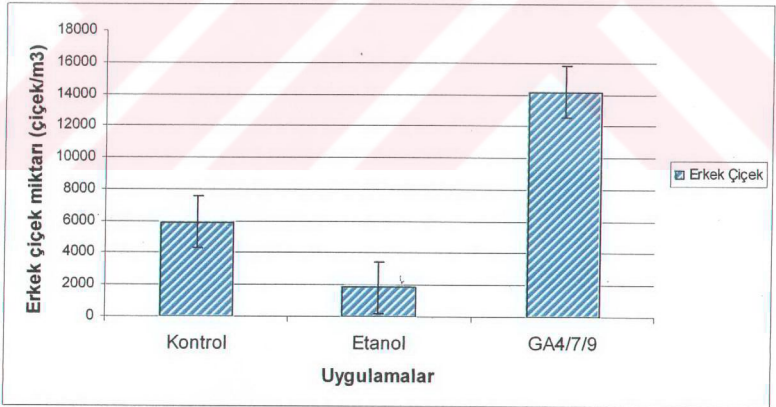
UYGULAMA GRUBU	ÇİÇEK MİKTARI (adet/m ³)*		RAMET BAŞINA DÜŞEN ORTALAMA ÇİÇEK SAYISI (Adet)	
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek
Kontrol	800 a	5890 a	116	900
Etanol	920 ab	1810 a	97,6	190
Hormon (GA _{4/7/9})	970 b	14150 b	133	2632,5

*Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Tukey's studentized range test, p>0,05)

Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarında erkek çiçek miktarları sırasıyla; 5890 çiçek/m³, 1810 çiçek/m³, 14150 çiçek/m³ olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2, Şekil 3.9). Erkek çiçek miktarları karşılaştırıldığında yapılan istatistik analize göre, kontrol ve etanol uygulaması yapılmış gruplardaki erkek çiçek miktarları ile GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış gruptaki erkek çiçek miktarı arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (P<0,05).



Şekil 3.9. Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarında dişi çiçek miktarları (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)



Şekil 3.10. Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ağaçlarında erkek çiçek miktarları (Dikey çizgi bir standart hata alt ve üst değerleri göstermektedir.)

Diğer taraftan, içsel toplam- GA_3 miktarı ile dişi çiçek miktarı arasındaki ilişki istatistiksel olarak %95 güven düzeyinde önemli bulunmamıştır ($r = -0,315$). Aynı şekilde içsel toplam- GA_3 miktarı ile erkek çiçek miktarı arasındaki ilişki de istatistiksel olarak %95 güven düzeyinde önemli bulunmamıştır ($r = -0,228$). Yine içsel toplam-ABA miktarı ile dişi çiçek miktarı arasındaki ilişki istatistiksel olarak % 95 güven düzeyinde önemli bulunmamıştır ($r = -0,345$). Aynı şekilde içsel toplam-ABA miktarı ile erkek çiçek miktarı arasındaki ilişki de istatistiksel olarak %95 güven düzeyinde önemli bulunmamıştır ($r = 0,61$).

4. TARTIŞMA

Literatür bilgilerine göre, çalışmamızda kullanılan kızılçamda çiçeklenme ve eşey belirlenmesi üzerinde bitkisel hormonlardan GA_{4/7/9} uygulamasının etkisi ile ilgili dünyada henüz bir çalışmaya rastlanılamamıştır. GA_{4/7/9} uygulamasının kızılçamda çiçeklenme ve eşey belirlenmesine katkı getirebilmek amacıyla yapılan bu çalışmada bulgularımıza göre (Bkz. Çizelge 2.1), GA_{4/7/9} uygulamasının kızılçamda dişi ve erkek çiçeklenme üzerinde etkisinin olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 3.1, Şekil 3.1 ve 3.4'de görüldüğü gibi, etanol ve GA_{4/7/9} uygulanmamış kontrol bitkilerinde içsel toplam-GA₃ miktarı, etanol uygulanmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından 20. günde alınan doku örneklerinde belirlenen içsel toplam-GA₃ miktarı (152,07 ppm) hariç, hem etanol hem de GA_{4/7/9} uygulanmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından alınan doku örneklerindeki içsel toplam-GA₃ miktarlarından çok daha yüksek değerlerde bulunmuştur. Yine Çizelge 3.1, Şekil 3.5 ve 3.8'de görüldüğü gibi, gerek kontrol, gerekse etanol ve GA_{4/7/9} uygulanmış kızılçam ağaçlarının sürgün uçlarından alınan doku örneklerinden elde edilen içsel toplam- ABA miktarları birbirlerine çok yakın değerlerde bulunmuştur. Örneğin; İçsel toplam- ABA miktarları kontrol grubu 0. günde 3,56 ppm, 10. günde 2,51 ppm, 20. günde 1,62 ppm, etanol grubu 10. günde 2,29 ppm, 20. günde 2,41 ppm, GA_{4/7/9} grubu 10. günde 1,78 ppm, 20. günde 3,24 ppm'dir.

Literatür bilgilerine göre, gibberellinlerin çeşitli çam türlerinin pekçok farklı dokularında bulunduğu rapor edilmektedir (Kamienska vd 1976). Yine gibberellin benzeri maddelerin *Larix decidua* L., *Larix leptoleptis* L., *Cupressus arizonica* Greene, *Cryptomeria japonica*, *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*, *Juniperus chinensis* 'in vejetatif sürgünlerinde, *Pinus jeffreyi* Grev ve Balf., *Pinus ponderosa* Law. ve *Pinus lambertiana* Dougl.'nın gelişmekte olan embriyolarında, *Pinus sylvestris* L. 'nin polen ve vejetatif sürgünlerinde, *Pinus attenuata* Lemm.'in polenlerinde saptandığı da bildirilmektedir (Crozier vd 1970 , Kamienska vd 1976). Yine *Picea abies* fidanlarının sürgünlerinde GA₁, GA₃, GA₄, GA₇, GA₉, GA₁₂, GA₁₅, GA₂₀, GA₂₉, GA₃₄, GA₅₁'in varlığı gösterilmiştir (Moritz 1995). Ayrıca *Pinus radiata* D. Don tomurcuklarında gibberellin benzeri maddelerin varlığı da belirlenmiştir (Taylor vd 1984). Örneğin;

Cupressus arizonica Greene'nin vejetatif sürgünlerinde GA₃'e eşdeğer olmak üzere yaklaşık olarak 40-70 mg/kg liyofilize doku gibberellin benzeri madde bulunmuştur (Ruddat vd 1968). Yine *Picea glauca* tohumlarında, zigotik embriyolarında ve megagametofitlerinde gibberellinlerin varlığı saptanmıştır (Kong vd 1997). Bazı konifer bitki türlerinin çeşitli dokularında saptanan gibberellin miktarları, farklı miktarlarda örneğin; *Pseudotsuga menziesii*'nin vejetatif sürgününde 1,65 µg - 9,8 µg GA₃, *Cupressus arizonica*'nın vejetatif sürgününde 40 µg - 70 µg GA₃, GA₉, GA₄, GA₇, *Pinus attenuata* poleninde 250 µg / kg GA₃ bulunmuştur. Yine literatür bilgilerine göre, konifer türlerinden *Picea glauca* tohumlarında, zigotik embriyolarında ve megagametofitlerinde ABA'nın varlığı da saptanmıştır (Kong vd 1997).

Literatür bilgilerine göre, araştırmacıların koniferlerden elde ettikleri bitkisel hormon miktarları ile çalışmamızda kullanılan bir konifer türü olan kızılçam vejetatif sürgün uçlarından elde edilen bitkisel hormonların miktarları arasındaki farklılığın, materyal ve metot ile laboratuvar yöntemlerinden kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz. Bununla ilgili olarak örneğin, bitkisel hormonların ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında kullanılan kimyasal maddelerin, hormon ayrışımının gerçekleştiği HPLC kolonu dolgu maddesinin, kullanılan sürükleyici fazın bileşiminin farklılığı gibi özellikler sayılabilir.

Kontrol, etanol ve GA_{4/7/9} uygulaması yapılmış kızılçamda dişi ve erkek çiçek miktarları incelendiğinde (Bkz. Çizelge3.2), GA_{4/7/9} uygulanmış ağaçlarda dişi ve erkek çiçek sayılarının, hem kontrol ve hem de etanol uygulaması yapılmış ağaçlardaki dişi ve erkek çiçek sayılarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Dişi ve erkek çiçek sayısı kontrol grubunda sırasıyla 800 adet/m³ ve 5890 adet/m³, etanol grubunda sırasıyla 920 adet/m³ ve 1810 adet/m³, hormon grubunda sırasıyla 970 adet/m³ ve 14150 adet/m³ olarak saptanmıştır. Elde edilen verilere göre, GA_{4/7/9} hormon uygulaması yapılmış kızılçam ağaçlarındaki erkek çiçek sayısı kontrol grubu ağaçlarındakine göre yaklaşık 3 kat artmıştır. Yapılan istatistik analize göre dişi çiçeklenme bakımından kontrol ile etanol ve etanol ile hormon grubu arasındaki fark önemsiz iken (P>0,05), kontrol ve hormon grubu arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0,05). Erkek çiçeklenme bakımından ise kontrol ve etanol grubu arasındaki fark önemsiz iken (P>0,05), kontrol

Çalışmamızda uygulama gruplarının içsel toplam-GA₃ miktarları (Bkz. Çizelge 3.1) ve yapılan istatistik analize göre uygulama gruplarının içsel toplam-GA₃ miktarları ile dişi ve erkek çiçek miktarları arasındaki ilişkinin önemli bulunmaması dikkate alındığında; içsel toplam- GA₃'ün kızılçamda hem dişi ve hem de erkek çiçeklenme üzerinde bir etkisinin olmadığı fikrini vermektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, GA₃'ün *Pinus sylvestris* L'de dişi çiçeklenmeyi arttırdığı ancak bu etkilerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmektedir (Luukkanen ve Johansson 1980). Yine çalışmamızda uygulama gruplarının içsel toplam-ABA miktarları (Bkz. Çizelge 3.1) ve yapılan istatistik analize göre uygulama gruplarının içsel toplam-ABA miktarları ile dişi ve erkek çiçek miktarları arasındaki ilişkinin önemli bulunmaması dikkate alındığında; içsel toplam-ABA'nın da kızılçamda hem dişi hem de erkek çiçeklenme üzerinde bir etkisinin olmadığı fikrini vermektedir. Ancak konifer türlerinin tohum bahçelerinde çiçeklenmenin artmasında ABA'nın etkisi ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, ABA'nın *Pinus massoniana*'da erkek çiçek oluşumunu belirgin bir şekilde arttırdığı bildirilmektedir (Huang vd 1999).

Diğer taraftan, her üç gruptaki dişi ve erkek çiçek miktarları ile istatistik analiz sonuçları dikkate alındığında; GA_{4/7/9} uygulamasının hem dişi ve hem de erkek çiçeklenme üzerinde artırıcı bir etkisinin ve bu etkisinin de özellikle erkek çiçeklenme üzerinde daha fazla olduğunu söyleyebiliriz. Bu konudaki bulgumuz ve düşüncemiz Luukkanen ve Johansson (1980) tarafından desteklenmektedir. Luukkanen ve Johansson (1980) yaptıkları bir çalışmanın sonucu olarak, *Pinus sylvestris* L. 'nin gelişen sürgünlerine gibberellinlerin etanolik sprey uygulamasının hem erkek hem de dişi çiçeklenmeyi arttırdığını ve etkinin özellikle erkek çiçeklenmede belirgin olduğunu da rapor etmektedirler. Yine bu konudaki bulgumuz, Chalupka'ya göre *Pinus sylvestris* L.'de GA_{4/7} uygulamasının erkek çiçeklenme oranını arttırdığı, dişi çiçeklenme üzerine etkisinin ise daha az olduğu literatür bilgisiyle uyum göstermektedir (Luukkanen ve Johansson 1980). Bununla beraber, GA_{4/7} karışımının dışsal uygulamasının *Pinus concorta* Dougl.'da dişi çiçeklenmeyi önemli bir şekilde arttırdığı da rapor edilmektedir (Wheeler vd 1980). Tüm bu literatür bilgilerine karşın GA_{4/7} uygulamasının *Picea sitchensis* (Bong.) Carr.' da (Tompsett ve Fletcher 1979) dişi çiçeklenme üzerinde,

Picea abies L. (Dunberg 1973) ve *Larix decidua* Mill., *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.'de (Philipson 1996) ise erkek çiçeklenme üzerinde bir etkisinin olmadığına ilişkin literatür bilgileri de bulunmaktadır.

Erkek çiçeklerin varlığı veya yokluğunun, dişi çiçeklere göre sayısı veya nisbi oranının hormon konsantrasyonuna veya uygulama zamanına veya dengesine (Örneğin; gibberellin), çevresel faktörlere (Örneğin; gün uzunluğu), aşılacak bitkinin anaç bitkiden alındığı yere, besinsel ve yaş faktörlerine bağlı olabileceği bildirilmektedir (Wheeler vd 1980, Ho ve Schneckenger 1992). Örneğin; *Picea mariana*'da GA_{4/7} uygulamasında erkek kozalak üretiminin uyarılması için optimum hormon konsantrasyonu 3,3 ng iken, dişi kozalak üretiminin uyarılması için optimum hormon konsantrasyonunun 11 ng olduğu rapor edilmektedir (Smith 1998). Yine hormon uygulama zamanının çiçeklenme tipi üzerine etkisiyle ilgili yapılan çalışmalarda, erken dönemde (Mayıs) GA_{4/7} uygulamasının erkek çiçeklenmeyi, daha geç dönemdeki uygulamaların ise dişi çiçeklenmeyi artırdığı gösterilmiştir (Wheeler vd 1980, Schneckenger 1992). Yine hormon uygulama yerinin dişi kozalak sayısı üzerine etkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada, gövdeye enjeksiyon şeklindeki hormon uygulamasının tomurcuklara dışsal hormon uygulamasına göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (Siregar ve Sweet 1997). Belirli gibberellinlerin özellikle GA_{4/7} uygulamasının Pinaceae türlerinin çoğunda (*Pinus radiata* D. Don, *Pinus taeda* L., *Pinus elliotii* Engelm., *Pinus palustris* Mill., *Pinus banksiana* Lamb.) çiçeklenmeyi erken teşvik ettiği ve artırdığı bildirilmektedir (Pharis ve Kuo 1977, Hare 1979, Hare vd 1979, Ross ve Greenwood 1979, Ross vd 1983, Sweet 1979: Ross vd 1984'den). Ross ve Greenwood (1979), dişi çiçeklenme üzerine gibberellinlerin etkisi ile ilgili olarak *Pinus taeda* L. ile yaptıkları çalışmada, her bir dala 100 ve 500'er µg GA_{4/7} uygulamalarının dişi çiçek üretimini önemli miktarda artırdığını, 500 µg GA₃ uygulamasının da aynı konsantrasyondaki GA_{4/7}'nin etkisine benzer etki gösterdiğini, 100 µg GA₃ ve her iki konsantrasyonda GA₅ uygulamalarının ise etkisiz olduğunu belirlemişlerdir.

GA_{4/7}'nin çiçeklenme üzerindeki etkisinde klonal varyasyonun da etkili olduğunun gözardı edilmemesinin gerektiği de ifade edilmektedir. Klonlardan ancak

yarısından azının bu hormon uygulamasına başarılı bir şekilde cevap verdiğine ilişkin bazı çalışmalar da bulunmaktadır (Tompsett 1977). Çiçeklenme ile ilgili olarak, çiçeklenme üzerinde $GA_{4/7}$ uygulamasının genetik olarak çiçeklenmeye eğilimli klonlarda etkili olduğu bildirilirken [Örneğin; *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Ross ve Pharis 1976)], az çiçeklenen ağaçlarda bu uygulamanın etkisiz olduğu ile ilgili literatür bilgisi de bulunmaktadır [*Picea abies* (L.) Karst (Dunberg, 1980)]. $GA_{4/7}$ karışımının dışsal uygulamasının çiçeklenme üzerindeki etkisinin GA_3 'e göre daha fazla olduğu da bildirilmektedir (Ross ve Greenwood 1979, Pharis ve Kuo 1977, Luukkanen ve Johansson 1980). Diğer taraftan $GA_{4/7}+A_3$ karışımının dışsal uygulamasının *Picea stichensis* (Bong.) Carr.'da erkek ve dişi çiçeklenmeyi önemli bir şekilde arttırdığını gösteren çalışmalar da vardır (Tompsett ve Fletcher 1979). Yine $GA_{4/7}$ karışımının dışsal uygulanmasının *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco tohum bahçelerinde çiçeklenmenin erken teşvik edilmesinde ve arttırılmasında uygulanabilir bir metot olarak görüldüğü ve etkili olduğu da rapor edilmektedir (Ross ve Pharis 1976). Gibberellin uygulamalarının Cupressaceae ve Taxodiaceae'de olduğu gibi koniferlerin çiçeklenmesini arttırdığı da bildirilmektedir (Kato vd 1958, Pharis vd 1965, Dunberg 1974, Tompsett ve Fletcher 1979). Gibberellinlerin konifer türlerinin tohum bahçelerinde çiçeklenmeyi arttırıcı en etkili ajan olduğunun görüldüğü de bildirilmektedir (Pharis ve Kuo 1977, Luukkanen ve Johansson 1980).

Ayrıca, farklı tipteki gibberellinlerin çiçeklenme üzerindeki etkilerinin daha az polar veya daha fazla polar oluşlarıyla ilgili olduğu da rapor edilmektedir (Ross ve Greenwood 1979). Gibberellinlerin daha az polar veya daha fazla polar oluşları gibbane halka yapısındaki hidroksil grubu sayısı ile ilgili olup, hidroksil grubunun hiç bulunmayışı veya bir hidroksil grubunun bulunuşu daha az polar gibberellinleri , iki veya daha fazla hidroksil grubunun varlığı ise daha polar gibberellinleri ifade etmektedir. Örneğin; GA_9 hiç hidroksil grubuna sahip değilken, GA_4 , GA_5 ve GA_7 bir hidroksil grubuna, GA_3 ise iki hidroksil grubuna sahiptir. Bu konuda, daha az polar gibberellin (Örneğin; $GA_{4/7}$ 'nin belli oranlardaki karışımları) uygulamalarının, Cupressaceae ve Taxodiaceae familyası üyelerinde olduğu gibi, Pinaceae familyası üyelerinde de çiçeklenmeyi arttırıcı etkilerinin olduğu rapor edilmektedir (Ross ve Pharis 1976, Pharis ve Kuo 1977, Tompsett 1977, Tompsett ve Fletcher 1979). Bu da

bize gibberellinlerin polaritesi arttıkça çiçeklenme üzerindeki etkilerinin azaldığı fikrini vermektedir.

Ayrıca polen yoluyla genetik kirlenmenin tohum bahçesi dışındaki düşük genetik özellikli ağaçlardan gelen polenlerin üstün özellikli ağaçlardan oluşan tohum bahçelerindeki dişi çiçekleri döllemesi dikkate alındığında; tohum bahçelerinde bulunan üstün özellikli ağaçlarda erkek çiçek sayısının artması, genetik kirlenme düzeyini azaltacağını akla getirmektedir. Çalışmamızdan elde edilen verilere göre; GA_{4/7/9} uygulaması kızılçam tohum bahçesinde klon numarası 9273 olan ağaçlarda erkek çiçek sayısını arttırmıştır. Tüm bunlar da bize, kızılçam tohum bahçesinde klon numarası 9273 olan ağaçlarda GA_{4/7/9} uygulamasının erkek çiçek sayısını artırarak polen kirliliği oranını düşüreceği fikrini vermektedir.

5. SONUÇ

Bitki büyüme hormonlarının orman ağaçlarının büyümesi ve gelişmesi üzerinde, organ farklılaşmasında, ağaç formunda, gençlikten olgun döneme geçişinde, çiçeklenme üzerinde ve eşeyin belirlenmesinde önemli role sahip oldukları bildirilmektedir (Ross ve Pharis 1976). Yine, orman ağaçlarında hormon uygulaması ve fizyolojik strese neden olma veya her ikisinin birlikte çiçek oluşumunu uyaran metotlar olarak kullanıldığı da rapor edilmektedir (Beaulieu ve ark. 1998).

Bitki büyüme hormonlarının çiçeklenme ve tohum verimi üzerine etkisinin neler olduğunun bilinmesi tohum bahçelerinin işletilmesi açısından önem taşımaktadır. Dolayısıyla tohum bahçelerindeki klonlarda hormonal seviyenin çiçeklenmeden olgun kozalağa kadar süreçte etkilerinin bilinmesi gerekli temel verilerin başında gelmektedir.

Orman popülasyonlarının genetik yapısını istenilen yönde değiştirmek ve doğadaki popülasyonları amacımıza göre evcilleştirmek konusunda, tohum bahçeleri ağaç ıslahçısının elinde çok önemli bir araçtır (Keskin 1998). Bununla ilgili olarak Şimşek, tohum bahçelerinde tohum oluşumunun doğal ormanlara göre daha erken başladığını ve sık periyotlar ile devam ettiğini bildirmiştir (Kaya 2001). Ayrıca Ürgenç tarafından tohum bahçelerinden elde edilen tohumların çimlenme kabiliyetinin yüksek olduğu da belirtilmektedir (Kaya 2001).

Çalışmamızın sonucunda, $GA_{4/7/9}$ uygulamasının hem dişi ve hem de erkek çiçeklenme üzerinde arttırıcı bir etkisinin ve bu etkisinin de özellikle erkek çiçeklenme üzerinde daha fazla oluşu dikkate alındığında; $GA_{4/7/9}$ uygulamasının tohum bahçelerinde polen kirliliğinin başka bir deyişle genetik kirlenme düzeyinin azalmasını sağlayabileceği söylenebilir.

Öte yandan gibberellinlerin dışsal uygulamasının Pinaceae familyasında çiçek verimi üzerine olumlu etkisi bilinmekle beraber klonların bu işleme verecekleri cevabın da bilinmesi gerekmektedir. Bu bağlamda, çiçeklenme ve eşeyin belirlenmesi ile ilgili tüm bitkisel hormonların etkilerinin diğer klonlar üzerinde de çalışılmasının gereğine inanılmaktadır.

Tüm bunlar dikkate alındığında; kızılcam tohum bahçesinde tüm bitkisel hormonların dışsal uygulamalarının ve içsel seviyelerinin çiçeklenme üzerinde etkilerinin ortaya konulmasıyla üretilecek bilgiler ile kurulu tohum bahçelerinin etkin yönetimi üzerinde uygulamaya yön verileceği ve bunun da ülke ekonomisine katkı getireceği düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- ANONİM 2003. Tohum bahçeleri, Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü, Ankara. <http://www.ortohum.gov.tr/Tohbah.htm>
- BEAULIEU, J. 1998. Flower Induction Treatments Have No Effects on Seeds Traits and Transmission of alleles in *Picea glauca*. *Tree Physiology*, 18:12, 817-821.
- CHALUPKA, W. 1978. Effects of Growth Regulators on the Flowering of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) grafts. *Silvae Genetica*, 27: 2, 62-65.
- CİHANGİR, N. ve AKSÖZ, N. 1993. *Aspergillus niger*'den Gibberellik Asit Eldesi ve Uygun Fizyolojik Koşulların Saptanması, *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*, 17:2, 63-74.
- CİHANGİR, N. ve AKSÖZ, N. 1993. *Aspergillus niger*'den Kültür Ortamından Elde Edilen Gibberellik Asit'in Biyoaktivliğinin Saptanması, *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*, 17:4, 303-309.
- CROZIER, A., AOKI, H., PHARIS, R. P., DURLEY, R. C. 1970. Endogenous Gibberellins of Douglas Fir. *Phytochemistry*, 9: 2453-2459.
- DUNBERG, A. 1973. Gibberellin-like Substance from Norway Spruce (*Picea abies*). *Physiol. Plant*, 28: 358-360.
- ERGÜN, N. 1997. Bazı Liken ve Yosun Türlerinde İçsel Büyüme Hormonlarının (Oksin, Gibberellin, Sitokinin ve Absisik Asit) Üretimi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antakya, 75.ss.
- FIRAT, F. 1962. Dendrometri, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İ.Ü: Yayın No:984, İstanbul.
- HO, R. and SCHNEKENBURGER, F. 1992. Gibberellin A₁₇ Promotes Cone Production on Potted Grafts of Eastern *Pinus strobus*. *Tree Physiology*, 11: 2, 197 -203.
- HUANG, Z., CHEN, T., WANG, Z., GAO, X. 1999. The Role of Plant Growth Regulators in Flowering of Male Strobili in Masson Pine. *Jornal of Nanjing Forestry University*. 23: 3, 86-88.
- KAMIENSKA, A. and PHARIS, R. P. 1975. Endogenous Gibberellins of Pine Pollen. *Plant Physiology*, 56: 655-659.

- KARADENİZ, A. 2000. Bazı Bakteri Türlerinde Oksin, Gibberellin ve Absisik Asit Üretiminin Belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antalya, 39 ss.
- KAYA, N. 2001. Kızılçamın (*Pinus brutia* Ten.) Çameli-Göldağı Orijinli Asar-Antalya Klonal Tohum Bahçesinde Eşleşme Sisteminin ve Genetik Kontaminasyonun Saptanması. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Antalya, 81 ss.
- KESKİN, S. 1998. Kızılçamın (*Pinus brutia* Ten.) Bir Tohum Bahçesinde Çiçeklenme Özellikleri Bakımından Klonal Farklılıklarının Belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antalya, 95 ss.
- KESKİN, S. 1999. Çameli-Göldağı Orijinli Kızılçam Tohum Bahçesinde Çiçek ve Tohum Verimi Açısından Klonal Farklılıklar ve Çiçeklenme Fenolojisi. Batı Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Orman Bakanlığı Yayın No: 091, Antalya, 96 ss.
- KONG, L., ATTREE, S., FOWKE L. 1997. Changes of Endogenous Hormone Levels in Developing Seeds, Zygotic Embryos and Megagametophytes in *Picea glauca*. *Physiologia Plantarum*. 101: 1, 23-30.
- LUUKKANEN, O. and JOHANSSON, S. 1980. Effect of Exogenous Gibberellins on Flowering in *Pinus sylvestris* Grafts. *Physiologia Plantarum*, 50: 340-346.
- MORITZ, T. 1995. Biological Activity, Identification and Quantification of Gibberellins in Seedlings of Norway spruce (*Picea abies*) Grown Under Different Photoperiods. *Physiologia Plantarum*, 95: 1, 67-72.
- ÖZCAN, B. 1997. Zeytinyağı Fabrikası Atığında Üretilen *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* Funguslarında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Gibberellik Asit (GA₃), Absisik asit (ABA) ve Sitokinin (Zeatin) Üretimi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antakya, 69 ss.
- PHILIPSON, J.J. 1996. Effects of Girdling and Gibberellin A₄₇ on Flowering of European and Japanese Larch Grafts in an Outdoor Clone Bank. *Ann. Bot.*, 889-900.

- PALAVAN- ÜNSAL , N. 1993. Bitki Büyüme Maddeleri, İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, Üniversite Yayın No:3677, İstanbul, 357 ss.
- ROSS, S. D., GREENWOOD, M. S. 1979. Promotion of Flowering in the Pinaceae by Gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 45: 207-210.
- ROSS, S. D., PHARİS, R. P. 1976. Promotion of Flowering in the Pinaceae by Gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 36: 182-186.
- ROSS, S. D., BOLLMANN, M. P., PHARİS, R. P., SWEET, G. B. 1984. Gibberellin A_{4/7} and the Promotion of Flowering in *Pinus radiata*. *Plant Physiology*, 76: 326-33.
- RUDDAT, M., PHARIS, R. P., AOKİ, H., CROZİER, A. 1968. Gibberellin-like Substances from Vegetative Tissue of a Conifer, Arizona Cypress. *Plant. Physiol.*, 43, 2049-2053.
- SALISBURY, F. B., ROSS, C. W. 1992. Plant Physiology, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, 682 pp.
- SİREGAR, I., SWEET GB. 1997. Optimal Timing of Gibberellin A_{4/7} Application to Increase Female Strobilus Numbers in a *Pinus Radiata* Seed Orchard. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 26:3, 339-347.
- SMİTH, R., 1998. Effects of Stem Injections of Gibberellin A_{4/7} and Paclobutrazol on Sex Expression and the Within- Crown Distribution of Seed and Polen Cones in Black Spruce (*Picea mariana*). *Canadian Journal of Forest Research*, 28:5, 641-651.
- SWEET, GB. 1979. A Physiological Study of Seed Cone Production in *Pinus radiata*. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 9: 1, 20-33.
- ŞİMŞEK, Y. 1993. Orman Ağaçları Islahına Giriş, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Muhtelif Yayınlar Serisi No: 65, Ankara.
- TAYLOR, J. S., KOSHİOKA, M., PHARİS, R. P., SWEET, G. B. 1984. Changes in Cytokinins and Gibberellin-Like Substances in *Pinus radiata* Buds During Lateral Shoot Initiation and the Characterization of Ribosyl Zeatin and A Novel Ribosyl Zeatin Glicoside. *Plant Physiology*, 74: 626-631.
- TOPCUOĞLU, Ş. F. 1987. Tuz Stresi Koşullarında Büyütülen Ayçiçeği (*Heliantus annus*) Bitkisinde Yaşa Bağlı Olarak Absisik Asit (ABA) Seviyelerinin

- Değişimi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 216 ss.
- TOPCUOĞLU, Ş. F. ve ÜNYAYAR, S. 1995. Beyaz Çürükçül Fungus *Phanerochaete chrysosporium* ME 446' da Bitki büyüme meddelerinin (Auxin, Gibberellin, Absisik Asit ve Sitokinin) Üretimi ve Biyolojik Aktivitelerinin Tayini. İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu Proje No: İ.Ü.A.F. 93-19, Malatya, 161ss.
- TOMPSETT, P. B. 1977. Studies of Growth and Flowering in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. 1.Effects of Growth Regulator Applications to Mature Scions on Seedling Rootstocks. *Annals of Botany*, 1171-1178.
- TOMPSETT, P. B., FLETCHER, A. M. 1979. Promotion of Flowering on Mature *Picea sitchensis* by Gibberellin and Enviromental Treatments. The Influence of Timing and Hormonal Concentration. *Physiologia Plantarum*, 45: 112-116.
- TUOMI, T., ROSENQVİST, H. 1995. Detection of Absciscic, Gibberellic and Indole-3-Acetic acid and Microbes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33 (6) :725-734.
- ÜNYAYAR, S. 1995. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da Kültür Periyoduna Bağlı Olarak İndol-3-Asetik Asit (IAA), Gibberellik Asit (GA₃), Absisik Asit (ABA) ve Zeatin Üretimi ve Biyolojik Aktivitelerinin Tayini. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Malatya, 163 ss.
- ÜNYAYAR, S. vd 1996. A Modified Method for Extraction and Identification of Indole-3-Acetic Acid (ABA) and Zeatin Produced by *Phanerochaete chrysosporium* ME 446. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 22 (3-4), 105-110.
- WHEELER, N. C. vd 1980. Promotion of Flowering in the Pinaceae by Gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 50:4, 340-346.

7. EKLER

EK-1: TANIMLAR

Altlık (stock) : Genotipini koruyarak üretmek istediğimiz ağaç yani ortetten alınan ve yeni bir bireyi geliştirecek olan kalemin aşılındığı anaçtır.

Brakte (brachte): Çiçek sapı yaprakçığı.

Çiçeklenme fenolojisi : Çiçeklerin yıl içinde gelişim çağına, mevsimlere ve iklimsel değişimlere bağlı olarak gösterdikleri değişikliklerdir.

Dişi çiçek (dişi kozalakçık, seed cone) : İlerde gelişerek içinde tohumları taşıyan kozalağı verecek olan ve çok sayıda dişi spor kesesi (makrosporofil) taşıyan dişi çiçektir.

Döl denemeleri : Döllerin performansını karşılaştırarak, ebeveynlerin test edilmesidir. Yetiştirme ortamının sağladığı üstünlüklerle, iyi genlerden kaynaklanan kalıtsal üstünlükleri ayırt etmek üzere çok sayıda döl, kontrollü şartlarda karşılaştırılarak daha güvenli sonuçlar elde edilir.

Erkek çiçek (erkek kozalakçık, seed cone): Erkek çiçek kümesi içerisinde yer alan, üzerinde çok sayıda polen kesesi bulunduran yapılardır.

Erkek çiçek kümesi (cluster): Son yıla ait sürgün üzerinde, bir ya da daha çok erkek kozalakçığın yan yana yer aldığı topluluktur.

Gen havuzu: Bir popülasyondaki fertlerin taşıdığı bütün genlerin (kalıtsal materyalin) hepsinin birden ortaya konulmasıyla ve karıştırılmasıyla oluştuğu varsayılan teorik bir kavramdır.

Genotip: Ağacın üreme hücreleri ya da vejetatif üretme ile nesilden nesile normal olarak değişmeden geçebilen ve fenotipin ortaya çıkmasında etkili olan kalıtsal yapıdır.

Klon: Belirli bir ortetten aşı ya da çelik yoluyla üretilen ve aynı genotipik yapıya sahip olan fertlerin ait olduğu tüm gruptur.

Klonal tohum bahçesi: Çelik, aşı kalemi vb. vejetatif materyalle üretilen fidanlarla kurulan tohum bahçeleridir.

Plantasyon: Fidan dikimi yoluyla yapılan ağaçlandırmalardır.

Plus ağaç: Fenotipik seleksiyona dayanılarak seçilen üstün nitelikli ağaçlara Plus ağaç adı verilir.

Polen kirliliği (kontaminasyonu): Bir tohum bahçesine bahçe dışındaki bireylerden gelen yabancı polenlerin bahçedeki dişi çiçekleri dölleyerek tohum oluşmasına karışmasıdır.

Populasyon: Aralarında nesilden nesile gen alışverişi olabilen, aynı türden olup aynı gen havuzunu paylaşan, belirli bir orijinde yer alan ve bir ya da birden fazla meşcereden meydana gelen fertler topluluğudur.

Tohum bahçesi : Genetik olarak üstün ağaçların klon ya da tohumlarından kurulan ve genetik açıdan arzulanmayan polen kaynaklarından izole edilmiş, özel idare ve işletmeye tabi tutulan, sık, bol ve kolay tohum hasat edilen ağaçlandırmalardır.

Tohum meşceresi: Yüksek kalitede tohum elde etmek üzere seçilen, tohum veriminin ve genetik kazancın artırılması amacıyla müdahalelerde bulunulan, doğal ya da bazı özel durumlarda yapay olarak kurulmuş ağaç populasyonlarıdır.

EK-2: TOHUM BAHÇESİNİN KROKİSİ

SÜTUN NUMARALARI

SIRA NO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
1																																				
2																																				
3																																				
4																																				
5																																				
6																																				
7																																				
8																																				
9																																				
10																																				
11																																				
12																																				
13																																				
14																																				
15																																				
16																																				
17																																				
18																																				
19																																				
20																																				
21																																				
22																																				
23																																				
24																																				
25																																				
26																																				
27																																				
28																																				
29																																				
30																																				
31																																				
32																																				
33																																				
34																																				
35																																				
36																																				
37																																				
38																																				
39																																				
40																																				
41																																				
42																																				
43																																				

Çalışmada Kullanılan Klon:

İL BLOK

L BLOK
İL BLOK

BLOKLAR

İSLEMLER:

KONTROL
GAUTUÇLAŞTIR

KONTROL
ETANOL

ÖZGEÇMİŞ

Sezgi ŞEREF 1978 yılında Antalya’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Isparta’da, lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. 1996 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2000 yılında Biyolog ünvanı alarak mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine devam etmekte olup, Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.