

66937

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KABAK (*Cucurbita pepo* L.) ve AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.)
KOTİLEDONLARININ SENESANSİ SÜRESİNCE BENZİLADENİN'İN
FOTOSENTETİK PİGMENT SEVİYESİ, ÇÖZÜNEBİLİR
PROTEİN MİKTARI ve PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ
ÜZERİNE ETKİSİ


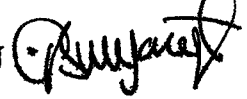


Biyolog Nuran DURMUŞ

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde

"Yüksek Lisans (Biyoloji)"

Ünvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 14.01.1997
Tezin Savunma Tarihi : 03.02.1997

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Asım KADIOĞLU 
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Osman BEYAZOĞLU 
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Zihni DEMİRBAĞ 
Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Asım KADIOĞLU 

Ocak -1997

TRABZON

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖNSÖZ

Kabak (*Cucurbita pepo* L.) ve Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Kotiledonlarının Senesensi Süresince Benziladenin (BA)'in Fotosentetik Pigment Seviyesi, Çözünebilir Protein Miktarı ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi adlı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında " Yüksek Lisans Tezi " olarak hazırlanmıştır.

Bu konunun seçilmesinde, çalışmanın planlanmasında ve değerlendirilmesinde her türlü yardımını gördüğüm sayın hocam Doç. Dr. Asım KADIOĞLU'na, değerli jüri üyeleri hocalarıma, çalışmayı oldukça rahat bir ortamda gerçekleştirmemi sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Osman BEYAZOĞLU'na ve çalışmam sırasında bana yardımcı olan Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca bu projenin yürütülmesi için maddi destek sağlayan K.T.Ü. Araştırma Fonu'na (Proje no: 96.111.004.5) teşekkür ederim.

Trabzon, Ocak, 1997

Nuran DURMUŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Önsöz.....	II
İçindekiler.....	III
Özet.....	V
Summary.....	VI
Şekil Listesi.....	VII
Tablo Listesi.....	IX
Kısaltmalar.....	X

1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1 Giriş.....	1
1.2. Senesens	3
1.2.1. Bitkide Senesensi Kontrol Eden Faktörler.....	5
1.2.2. Senesens Olayının Düzenlenmesi ve Doğal Seleksiyon	6
1.2.3. Senesensin Metabolik Düzenlenmesi	6
1.2.4. Senesensin Belirtileri.....	7
1.2.4.1. Klorofil Parçalanması	7
1.2.4.2. Hücrel Bileşenlerin Parçalanması ve Sentezi.....	8
1.2.4.2.1. Protein Sentezinin Kontrolü.....	10
1.2.4.2.2. Protein Parçalanmasının Kontrolü.....	12
1.2.5. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Yaprak Senesensinin Kontrolü	13
1.2.6. Senesens Tipleri.....	16
1.2.6.1. Organlarda Senesens	16
1.2.6.2. Bitkinin Tümünde Senesens.....	16
1.2.6.2.1. Monokarpik Senesensin Düzenlenmesi	17
1.2.7. Bitki Senesensinde Peroksidazların Rolü.....	20
2. MATERYAL VE METOD.....	23
2.1. Bitkilerin Büyütülmesi ve Hormon Uygulanması	23
2.2. Klorofil ve Karotenoid Tayini	23
2.3. Peroksidaz Aktivitesi Tayini.....	24

2.3.1. Enzim Ekstraktının Hazırlanması.....	24
2.3.2. Enzim Aktivitesinin Tayini	24
2.3.3. Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi ile Peroksidaz İzoenzimlerinin Belirlenmesi.....	24
2.4. Çözünebilir Protein Tayini.....	26
3. BULGULAR.....	27
3.1. Benziladeninin Fotosentetik Pigment Miktarları Üzerine Etkisi.....	27
3.2. Benziladeninin Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....	34
3.3. Benziladeninin Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	36
3.4. Benziladeninin Peroksidaz İzoenzimleri Üzerine Etkisi	38
4. TARTIŞMA	40
5. SONUÇLAR	45
6. ÖNERİLER	46
7. KAYNAKLAR.....	47
8. ÖZGEÇMİŞ.....	56

ÖZET

Bu çalışmada, sitokinin grubu hormonlardan olan benziladenin (BA)'in kabak (*Cucurbita pepo* L.) ve ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) kotiledonlarının senesensi süresince fotosentetik pigment seviyesi, çözünebilir protein miktarı ve peroksidaz aktivitesi üzerine olan etkisi incelendi. Bu amaçla kotiledonların senesensi boyunca fotosentetik pigment miktarlarında, peroksidaz aktivitesinde ve çözünebilir protein miktarında meydana gelen değişiklikler spektrofotometrik olarak tespit edildi. Ayrıca, BA'nın peroksidaz izoenzimleri üzerine olan etkisi poliakrilamid jel elektroforeziyle belirlendi.

Kotiledonlarda senesens ilerledikçe peroksidaz aktivitesinin arttığı, fotosentetik pigment ve çözünebilir protein miktarlarının ise azaldığı, belirlendi. Her iki bitkide de kotiledonların senesensi süresince karotenoidlerin miktarının klorofillerden daha yüksek olduğu, klorofil a'nın ise klorofil b'den daha hızlı parçalandığı kaydedildi. Ayrıca BA uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinin ve izoenzim sayısının kontrole göre azaldığı; fotosentetik pigment ve çözünebilir protein miktarlarının ise kontrolden daha fazla olduğu tespit edildi.

Elde edilen verilere göre, BA'nın etkisi ile azalan peroksidaz aktivitesinin, sitokininlerin antisenesens rollerine katkıda bulunan bir mekanizma olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Cucurbita pepo*, *Helianthus annuus*, senesens, benziladenin, peroksidaz

SUMMARY

THE EFFECT OF BENZYLADENINE ON THE LEVELS OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS, SOLUBLE PROTEIN AND PEROXIDASE ACTIVITY DURING SENESCENCE OF SQUASH (*Cucurbita pepo* L.) AND SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) COTYLEDONS

In this study, the influence of benzyladenine (BA, a cytokinin) on the levels of photosynthetic pigments, soluble protein and peroxidase activity during senescence of squash (*Cucurbita pepo* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) cotyledons was investigated. For this purpose, changes in the levels of photosynthetic pigments, activity of peroxidase and amount of soluble protein were determined by spectrophotometric methods during senescence of the cotyledons. Also, the effect of BA on peroxidase isoenzymes were determined by polyacrylamide gel electrophoresis.

While the senescence stage of the cotyledons progressed, peroxidase activity was found to be increased, whereas there was a decline in the levels of photosynthetic pigments and soluble protein. In the cotyledons of both plants, the amounts of carotenoids were found to be higher than those of chlorophylls. In addition, the amount of chlorophyll a decreased more than that of chlorophyll b. In the BA- treated cotyledons, the activity of peroxidase and the number of isoperoxidases decreased compared with the control, however, the levels of photosynthetic pigments and soluble protein were higher in comparison with control.

From these results, it was concluded that reduced peroxidase activity in the BA-treated cotyledons was a contributing mechanism to the overall antisenesescence action of cytokinins.

Key Words: *Cucurbita pepo*, *Helianthus annuus*, senescence, benzyladenine, peroxidase

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 1.** Tohumlu Bitkilerin Hayat Devreleri Boyunca Meydana Gelen Senesens Olaylarının Özeti..... 4
- Şekil 2.** Hücredeki Proteinlerin ve Diğer Makromoleküllerin Döngüsünü Gösteren Şema..... 8
- Şekil 3.** Organlar Arasındaki Etkileşim Sistemini Açıklayan Teori19
- Şekil 4.** Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Toplam Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi27
- Şekil 5.** Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Toplam Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi28
- Şekil 6.** Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi29
- Şekil 7.** Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi30
- Şekil 8.** Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil a Miktarı Üzerine Etkisi31
- Şekil 9.** Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil a Miktarı Üzerine Etkisi.....32
- Şekil 10.** Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil b Miktarı Üzerine Etkisi32
- Şekil 11.** Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil b Miktarı Üzerine Etkisi33
- Şekil 12.** Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....35
- Şekil 13.** Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi35

Şekil 14. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi	37
Şekil 15. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	37
Şekil 16. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz İzoenzimleri Üzerine Etkisi	39
Şekil 17. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz İzoenzimleri Üzerine Etkisi	39



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

- Tablo 1.** Bir Bitkinin Yıllık Büyüme Peryodu Boyunca Senesense Uğrayan Organları ve Herbir Organın Senesensine Sebep Olan Faktörler..... 5
- Tablo 2.** Senesense Uğrayan Yapraklarda Aktivitesinde Artış Olduğu Kaydedilen Enzimler.....12



KISALTMALAR

BA	: Benziladenin
ABA	: Absisik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
RuBP karboksilaz	: Ribuloz 1,5 difosfat karboksilaz
mRNA	: Mesajcı RNA
IAA	: İndol Asetik Asit
SAM	: S- Adenosil Metionin
ACC	: 1- Aminosiklopropan 1- Karboksilik Asit
TEMED	: N,N,N,N- Tetrametil Etilen Diamin
BSA	: Bovin Serum Albumin



1. GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

Senesens, bitkilerin normal gelişmelerini tamamlayabilmeleri için gelişmenin amacına uygun olarak bazı hücre, doku ve organlarının ölmesi olayıdır. Bu olay fotosentez hızının azalması, pigmentlerin parçalanması, protein ve nükleik asit miktarlarındaki değişikliklerle karakterize edilir (1, 2, 3, 4, 5, 6) . Yüksek bitkilerin fotosentetik dokularında senesensin gözle görülen en bariz belirtisi, kloroplast pigmentlerinin kademeli olarak kaybı ve bu olay sonucunda yeşil yaprakların sararmasıdır (7, 8, 9).

Senesens esnasında klorofil, protein ve nükleik asit miktarlarındaki azalmanın aksine, bazı enzim aktivitelerinde genel bir artışın olduğu belirlenmiştir (10, 11). Hidrolazlar, krebs çemberi enzimleri ve oksidoredüktazlar gibi birçok enzimin senesens sırasındaki aktiviteleri incelenmiş, ancak senesense özgü işaret enzim henüz kesin olarak belirlenememiştir (12). Koparılmış yaprak ve yaprak disklerinin senesensi süresince peroksidaz aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir (13, 14, 15, 16). Bu enzimin aktivitesinin yaprakların fizyolojik yaşıyla birlikte arttığı da gösterilmiştir (15, 17, 18). Hatta, peroksidaz aktivitesindeki artışın olgunluk ve senesensin en güvenilir indikatörü olduğu da belirtilmiştir (15). Bununla birlikte, yapılan bazı çalışmalarda senesens olayı ile peroksidaz aktivitesi arasında önemli bir ilişki olmadığı ileri sürülmüştür (12, 17). Örneğin; arpa yapraklarında yapılan bir çalışmada genç ve olgunlaşmış yapraklarda peroksidaz aktivitesi bakımından belirgin bir fark gözlenmemiştir (19).

Başta yaprak senesensi (4, 5, 6, 7, 8) olmak üzere, kotiledon senesensi (3, 20) ve meyve olgunlaşması (16) konularında birçok çalışma yapılmıştır. Kotiledon senesensi temelde yaprak senesensinden farklı değildir (21). Yaprak senesensinin, çeşitli bitki hormonları arasındaki kompleks interaksyonlar tarafından düzenlendiği kaydedilmiştir (10, 11, 22). Bununla beraber sitokininlerin, bitkilerdeki senesensi geciktiren en etkili hormonlar olduğu ve yaprak senesensinin düzenlenmesinde önemli rol oynadıkları kabul edilmektedir (10, 23). Birçok araştırmacı, farklı sitokinin tipi hormonların çoğu bitkilerde aynı etkiye sahip olduğunu belirtmiştir (24, 25, 26). Çeşitli bitki türlerinin koparılmış yaprak ve kotiledonlarında benziladenin (BA) dahil olmak üzere bütün sitokinin hormonlarının

senesensi geciktirdiği, bu tip büyümeyi düzenleyici maddelerin koparılmamış organların senesensinin geciktirilmesinde etkisiz veya çok az etkili oldukları kaydedilmiştir (20, 21, 22, 27).

Yukarıda belirtildiği gibi, sitokinlerin senesens üzerine etkili oldukları bilinmekle birlikte, bunların antisenesens etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır (10). Sitokinlerin senesensi engelleme mekanizmalarının enzimlerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Örneğin, Grossman ve Leshem (28), sitokinlerin bezelye yapraklarındaki lipoksijenaz aktivitesini azaltarak antisenesens olayında önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Benzer olarak sitokinlerin peroksidaz aktivitesini azaltarak antisenesens mekanizmaya katkıda bulunabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmada, benziladeninin kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince peroksidaz aktivitesi üzerindeki etkilerinin araştırılması ayrıca klorofil, karotenoid ve protein miktarları belirlenerek, bunların peroksidaz aktivitesi ile gösterdiği değişimlerin incelenmesi amaç edinilmiştir.

1.2. Senesens

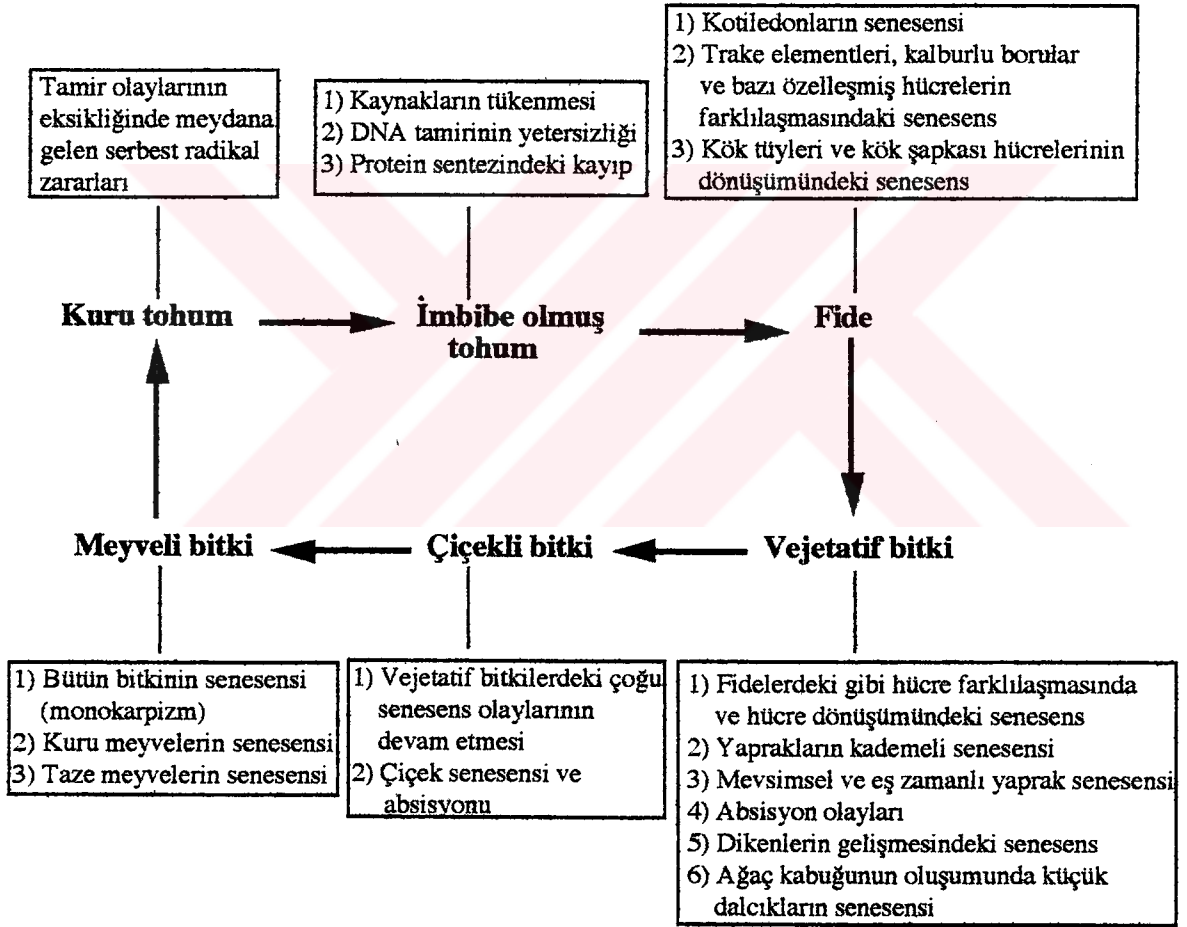
Hayvanlarda olduğu gibi bitkiler de doğar, gelişir, olgunlaşır ve ölürler. Yüksek bitkiler tohum çimlenmesi sonunda oluşan fidenin hızla büyümesiyle yeni vejetatif yapılar kazanırlar. Vejetatif safha olarak adlandırılan bu dönem, bitkinin çiçeklenecek olgunluğa erişmesiyle son bulur. Bu dönemde metabolik olaylar hızlı olup, süresi bazı bitkilerde çok kısa bazılarında ise oldukça uzundur. Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda bitki tam çiçek açma döneminde çiçek taslakları koparılmış, bitkinin vejetatif büyümesi ve gelişmesinde yeniden bir hızlanma ve tazelenme olduğu tespit edilmiştir. Bu durum çiçeklenmeyi oluşturan metabolik etmenlerin bitkinin vejetatif safhasını olumsuz etkilediğini göstermektedir (29).

Tüm bitkinin ölümünden önce bazı hücre, doku ve organlarının daha erken ölüme ulaştıkları bilinen bir gerçektir. Çünkü her bitki kendine özgü gelişim biçimini gerçekleştirirken bazı hücre, doku ve organlarının ölmesi gerekir. Örneğin, simpodiyal dallanma gösteren bitkilerde, bu çeşit bir dallanmanın meydana gelmesi için apikal hücrelerin ölmesi gerekmektedir. Yine *Monstera* adlı bitkinin yapraklarında görülen delikler yaprak ayasının gelişme süreci içinde mezofil dokusundaki bazı hücre gruplarının ölmesi sonucu meydana gelir. Yaprakların bu şekilde biçimlenmesi rüzgara karşı dirençli olmalarını sağlar. Diğer taraftan yaz boyunca uygun şartlarda fotosentez yapan yapraklar, kıştan önce içerdiği tüm besin maddelerini bitkinin rizom, kök, tohum veya floem gibi yaşamına devam edecek organlarına vererek ölürler. Böylece bitkinin gelişme süreci içerisinde işlevini tamamlamış olan yaprak, senesense uğrar.

Yukarıdaki örneklerden de anlaşılacağı gibi, senesens dokunun genç veya yaşlı oluşuna bağlı olarak meydana gelmez. Ayrıca *Monstera*'da yaprak ayasının ölen ve ölmeyen hücre gruplarının aynı yaşta oldukları unutulmamalıdır. Metabolik tepkimelerin tümü ile yavaşladığı yaşlanma olayının aksine senesensin meydana geldiği organlarda katabolik tepkimelerin hızlandığı, DNA, RNA ve çeşitli proteinlerin yıkıldığı, yıkılan maddelerin yapıtaşlarının da bitkinin senesens görülmeyen kısımlarına taşındığı saptanmıştır. Bütün bunlar senesensin bir program gereğince meydana geldiğini göstermektedir (29, 30).

Senesens olayına bitkilerin hayat devrelerinin bütün basamaklarında raslanabilir (31). Aşağıdaki şemada (Şekil 1) bir çiçekli bitkinin hayat devresi boyunca meydana gelen senesens olayları özetlenmiştir. Bu şemanın önemli bir özelliği; tohumlarda meydana gelen değişiklikler hariç, listelenen bütün olayların bitkinin gelişme programının tamamlayıcı bileşenleri olmasıdır.

Genellikle senesensin düzensiz bir olay olduğu görüşü benimsenmesine rağmen, gerçekte senesens son basamağına kadar düzenli olaylardan oluşan fizyolojik bir prosedir. Yaprakların senesensi sırasında klorofilin ve



Şekil 1. Tohumlu Bitkilerin Hayat Devreleri Boyunca Meydana Gelen Senesens Olaylarının Özeti.

tilakoid membranların parçalanmasına karşı mitokondri ve plazma membranlarının çok az bozulma göstermesi bu durumun tipik bir örneğidir (6). Yapraklarda hücre bileşenlerinin yıkımı düzenli bir şekilde meydana gelir ve bu esnada oluşan ürünler bitkinin diğer kısımlarına aktarılır.

1.2.1. Bitkide Senesensi Kontrol Eden Faktörler

Tablo 1'de bir bitkinin büyüme peryodu boyunca senesense uğrayan organları ve herbir organın senesensine sebep olan faktörler gösterilmiştir (32).

Tablo 1. Bir Bitkinin Yıllık Büyüme Peryodu Boyunca Senesense Uğrayan Organları ve Herbir Organın Senesensine Sebep Olan Faktörler.

Senesense uğrayan bitki organları	Senesenslerini etkileyen faktörler
Kök (vasküler dokular, kök şapkası ve tüylerinin de senesensi dahil)	Oksinler ve sitokinler
Kotiledon	Sürgün, ışık, meyve, kök ve bütün hormonlar
Yaprak (abscisyon zonunun senesensi de dahil)	Meyve, kök, ışık ve bütün hormonlar
Gövde (vasküler dokuların senesensi de dahil)	Oksinler, sitokinler ve şekerler
Bitkinin tepe (apikal) kısmı	Meyve, gün uzunluğu ve giberellinler
Çiçek	Tozlaşma, absisik asit (ABA), sitokinler ve etilen
Meyve (tohumların senesensi de dahil)	Bütün hormonlar
Bütün bitki (monokarpizm)	Meyve, kök, gün uzunluğu, oksinler, ABA ve sitokinler

Tablo 1'de görüldüğü gibi senesensin bütün basamakları büyümeyi düzenleyici maddelerle ilgilidir. Senesensin kontrolünde büyümeyi düzenleyici maddelerin etkisi konusunda genellemeler yapmak çok güçtür. Çünkü bu maddelerin etkileri türlere göre büyük oranda farklılıklar göstermektedir.

1.2.2. Senesens Olayının Düzenlenmesi ve Doğal Seleksiyon

Farklı türlerde görülen senesens şekilleri çok çeşitlidir. Örneğin, herdem yeşil olan bitkiler arasında bir yıl boyunca yapraklarını dökmeyen türler olduğu gibi 2 veya 3 yıl boyunca yapraklarını dökmeyen türler de vardır. Kısa kozalaklı bir çam olan *Pinus aristata*'da iğne yapraklar 30 yıl kadar fonksiyonel kalabilirler. Benzer şekilde çoğu orkidelerde petaller, çiçekleri tozlaşıncaya kadar aylarca fonksiyonel kalabilirler ve tozlaşma olduğu gün senesense uğrarlar (33). Öte yandan, *Ipomea caerulea* gibi türlerde çiçekler tomurcuklarının açtığı gün solarlar ve ölürlür. Çiçeklerin içerikleri parçalanır ve gelişen ginekeuma doğru çekilirler (30).

Bitkilerdeki senesens olayının şeklinin ve zamanlanmasındaki bu büyük farklılığın neden kaynaklandığını araştırmak gerekir. Bu durumu deneylerle açıklığa kavuşturmak güçtür. Senesens olayı üzerinde bitkinin bulunduğu habitatteki faktörlere bağlı olan doğal seleksiyonun büyük bir rolünün olması muhtemeldir. Örneğin, otlar arasında yaprakları bulunan bitkiler, alt yapraklarını sırası ile hızlıca absisyona uğratırlar ve fazla ışık alabilmek için daha üst seviyeden yeni yapraklar çıkarırlar (34, 35). Öte yandan, orman altı alanda bulunan bitkiler için ışık sınırlıdır ve bu bitkiler bütün bir sezon boyunca hatta bazı türler birkaç yıl boyunca aynı yaprakları bulundururlar. Yeterli besleyici madde bulunmayan ortamlardaki bitkiler ise yapraklarını dökmeden önce temel besinlerini yeni oluşan yapraklarına aktararak, etkili bir biçimde besin döngülerini devam ettirirler. Tomurcuklarını şafakta açan bazı çöl sukkulentleri ise çiçeklerini, gün boyunca su kaybını azaltmak için şafakta senesense uğratırlar (30).

1.2.3. Senesensin Metabolik Düzenlenmesi

Senesens hakkında ortaya atılan görüşlerin çoğunda; bu olayın bitkilerin gelişme programının bir şekli ve bitkinin tümünün veya bir

kısının ölümüne neden olan gelişmesiyle ilgili olaylardan biri olduğu belirtilir. Bu nedenle, senesensin bitkinin gelişmesi ile ilgili olayların gidiş yönünü belirleyen gen aktivitesinin özel bir ekspresyonu olduğu hipotezi ortaya atıldı (30). Gen ekspresyonunun düzenlenmesi, DNA'nın transkripsiyonu, gen transkriptlerinin translasyonel kontrolü ve enzimler gibi gen ürünlerinin bazı fomalrının kontrol edilmesiyle yapılır.

Bu yönüyle senesense bakıldığı zaman, hücrenin kendisinin varlığına son veren, hücredeki metabolik olayları düzenleyen genlerin ekspresyonu sonucu meydana gelen bir ölüm programı veya ölüm saatinden sözedildiği görülür. Bundan dolayı, esas olarak senesensin ölüm mesajının nasıl kodlandığı, nasıl tercüme edildiği ve uygulanma şeklinin nasıl olduğunun çalışılması gerekir. Bitkilerdeki gen ekspresyonunun kontrolünde bitki büyüme düzenleyicilerinin rolü, gen ekspresyonunu kontrol eden elementlerin organizasyonu ve biyokimyasal olarak senesens olayındaki anahtar olayların derinliğine tartışılması gerekir (30).

1.2.4. Senesensin Belirtileri

1.2.4.1. Klorofil Parçalanması

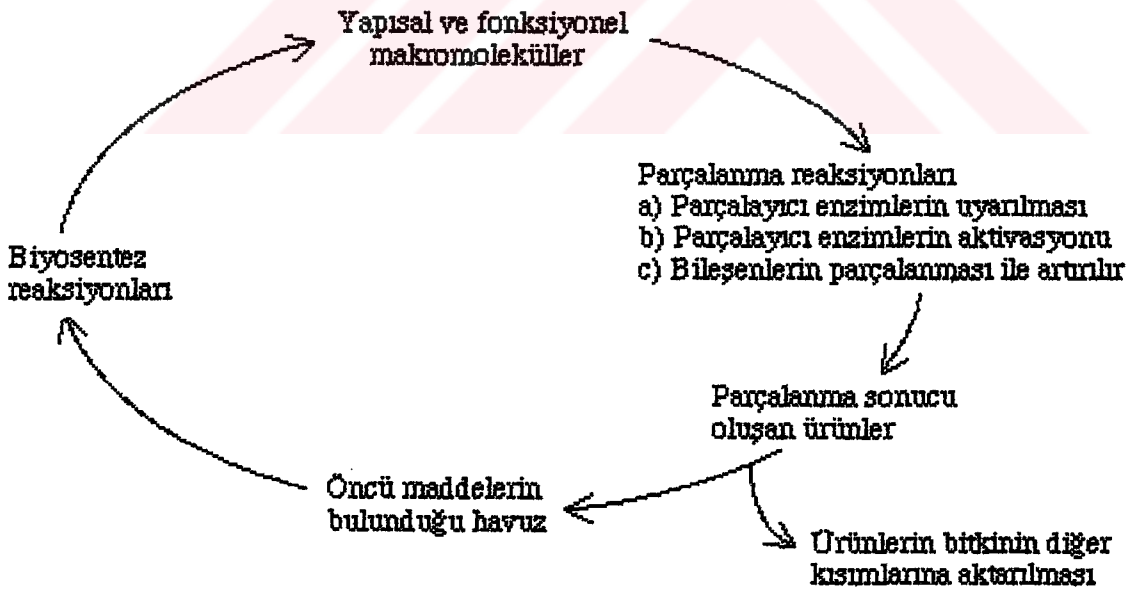
Yapraklarda senesensle ilgili görülen en önemli olaylardan biri klorofilin kaybıdır. Bu durum yeşil rengin sarıya dönüşümüyle kendini gösterir. Klorofil parçalanmasının zamanlanması yaprağın fotosentetik kapasitesi gibi diğer fonksiyonlarıyla her zaman ilgili olmayabilir (34, 36). Gerçekten senesens ve ölüm durumunda klorofillerini kaybetmeyen mutantların var olduğu bilinmektedir (37, 38). Klorofil kaybı senesensin tüm olaylarıyla bağdaşmamasına rağmen, bu durum senesens olayının genel bir sonucudur ve klorofilin parçalanma basamaklarının bilinmesi senesens sendromunu anlamamıza yardımcı olur. *Phaseolus vulgaris* ve *Hordeum vulgare* ile yapılan son bir çalışmada, klorofil degradasyonunun, klorofil molekülündeki 10. karbon atomuna bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla başladığı tespit edilmiş ve oluşan bileşik klorofil a-1 olarak adlandırılmıştır (30).

Klorofil a-1 içeriğinin artması, maksimum seviyesine ulaşması ve daha sonra azalması onun kararlı bir parçalanma ürünü olmadığını, kendi kendini parçalayan bir ara ürün olduğunu göstermektedir. Bitkiden

koparılmamış yaprakların senesensi sırasında klorofil a-1 bileşiğinin oluşup oluşmadığı henüz belirlenememiştir. Bu durumun sebebi olarak klorofil a-1'in çok hızlı parçalanması ve hücrelerde birikmemesi gösterilebilir. Hem dahil çoğu siklik moleküllerin katabolizması benzer reaksiyonlarla başladığı için, hidroksilasyonun klorofil yıkım yolunun ilk adımı olması şaşırtıcı değildir. Klorofilin parçalanma yolunun daha sonraki basamakları ise henüz belirlenememiştir (30).

1.2.4.2. Hücresel Bileşenlerin Parçalanması ve Sentezi

Geçen 50 yılda, çoğu türlere ait yaprakların olgunlaşma ve senesens safhalarında RNA ve protein miktarlarının gittikçe azaldığı tespit edilmiştir (36, 39). Bu zorunlu hücre bileşenlerinin kaybının muhtemel bir sebebi olabileceği düşünülmüştür. Ondokuzuncu yüzyılda, bitki hücrelerindeki proteinlerin dinamik bir durumda olduğu ve sürekli yıkılıp yeniden sentezlendiği ileri sürülmüştür (40). Daha sonraları RNA'da da benzer değişimlerin olduğu belirlenmiştir. Canlı hücrelerdeki proteinlerin dinamik bir durumu olduğu görüşünden hareket edilerek hücrede aşağıdaki gibi bir protein döngüsünün varolabileceği fikri ortaya atılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Hücredeki Proteinlerin ve Diğer Makromoleküllerin Döngüsünü Gösteren Şema.

Şekil 2'deki protein döngüsünden de görüleceği gibi proteinler, bileşenleri olan aminoasitlere parçalanırlar ve aminoasitler genel bir havuza aktarılırlar. Gerektiğinde yeni proteinlerin sentezlenmesinde kullanılmak için bu havuzdan alınırlar. Senesense uğrayan dokulardaki proteinlerin net kaybı düşünüldüğü zaman senesensin protein sentez oranı ve parçalanma hızı arasındaki dengesizlikten kaynaklanabileceği görülebilir (41). Böyle bir dengesizliğe protein sentez hızının yavaşlaması veya parçalanma hızının artması ya da her ikisi de sebep olabilir. Birçok güçlü teknikler kullanılmasına rağmen bitkilerdeki protein sentez ve parçalanma oranlarının doğru ölçülebilmesinde bazı engellerle karşılaşmaktadır (40). Senesensin başlaması ile protein sentez ve parçalanmasının alakalı olduğu tespit edilirse proteinlerin tek tek sentez ve parçalanma oranlarının ölçülmesi gerekir. Böylece senesens olayının başlamasında anahtar rol oynayan proteinler belirlenebilecektir. Bitki gelişiminin sadece bir safhasında sentezlenen ve hücrede zorunlu fonksiyonu olan bir protein, eğer kademeli olarak inaktif olur veya parçalanırsa, bu proteinin senesense uğrayan hücrenin fonksiyonunun azalmasını teşvik eden bir faktör olduğu düşünülebilir (30).

Bu tip çalışmalarda reaksiyon zincirinin başlangıcında rolü olan enzimleri çalışmak gerekir. Bu enzimler hücrenin ekonomisinde önemlidirler ve metabolizmanın düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. Yaprak enzimleri içerisinde en fazla çalışılan enzim ribuloz 1,5 difosfat karboksilaz (RuBP karboksilaz)'dır. Bu enzimin senesense uğrayan yapraklarda fotosentezi sınırlayıp sınırlamadığı henüz belirlenememiştir (6). RuBP karboksilaz üzerindeki çalışmalar salatalık, arpa (42), mısır (43) ve fasülye (44) yapraklarında yapılmıştır. Arpa ve salatalıkta yaprakların gelişmesi boyunca RuBP karboksilazın sentezlendiği, gelişim tamamlandığında sentezinin durduğu ve daha sonra olgunlaşmış yapraklarda ise enzimin aktivitesinin ve miktarının giderek azaldığı tespit edilmiştir. Aksine olgunlaşmış mısır yapraklarında RuBP karboksilazın sentezinin devam ettiği daha sonraki basamaklarda ise enzimin parçalanma hızının sentezinden daha hızlı olduğu belirlenmiştir (43). RuBP karboksilaz enziminin önemli bir özelliği, enzimin büyük alt ünitesinin kloroplastlarda kodlanması ve 70 S ribozomlarında sentezlenmesi, küçük alt ünitesinin ise nükleusda kodlanıp, kloroplastta girmeden önce sitoplazmadaki 80 S

ribozomlarında sentezlenmesidir. Çeşitli türlerde kloroplastlarda meydana gelen hem fotosentez hem de RNA ve protein sentezlerinin, hücrenin geri kalan kısımlarındaki organizasyon ve metabolik fonksiyonlardaki kayıp başlamadan önce yavaşlamaya başladığı tespit edilmiştir (45). Bu nedenle, RuBP karboksilazın iki alt ünitesinin farklı yerlerde sentezlenmesinden dolayı koordinasyon kaybı sözkonusu olabilir. Bu durum buğdayda detaylı olarak çalışılmıştır (46). Mısırdaki gibi buğdayın olgunlaşmış yapraklarında da enzimin sentezlendiği, yaprağın büyümesi tamamlandığında ise RuBP karboksilazın sentez oranının diğer proteince oranla hızlı bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Karboksilazın büyük ve küçük alt ünitelerinin sentezindeki azalmanın birbirine benzer olduğu bulunmuştur. Bu enzimin mRNA miktarları yaprak büyümesi tamamlandıktan sonra diğer mRNA'lardan çok daha hızlı azalmıştır. Bundan dolayı, enzimlerde gittikçe meydana gelen aktivite kaybının, mRNA'ların üretimindeki azalmadan kaynaklandığı söylenebilir. Senesens olayında proteinlerin parçalanma oranının artmasından ziyade, protein sentez oranının azalması daha muhtemel görülmektedir.

1.2.4.2.1. Protein Sentezinin Kontrolü

Prokaryotik hücre ve ökaryotik organellerde mRNA'lar kısa ömürlüdürler ve gen ekspresyonu esas olarak transkripsiyon basamağında kontrol edilir. Aksine ökaryotların sitoplazmik mRNA'ları uzun ömürlüdür ve protein sentezinin kontrolü hem transkripsiyon hemde translasyon basamaklarında yapılabilir (47). Organellerde ve sitoplazmadaki protein sentezinin düzenlenmesi muhtemelen farklı olduğundan burada onlardan ayrı ayrı bahsedilecektir:

a) **Kloroplastlar:** Yaprak senesensiyle ilişkili olarak protein döngüsünün biyosentez değişikliklerini açıklayan veriler, fotosentetik birimin çalışılmasından elde edilmiştir.

Salatalık ve fasülye yapraklarının senesensi sırasında sitoplazmik protein sentezi devam etmesine rağmen, kloroplastlardaki protein sentezinin azaldığı belirlenmiştir (48). Bunun nedeni polizomların kaybolması ve kloroplast RNA sentezinin durmasıdır (49).

Phaseolus vulgaris'in yaprak büyümesi tamamlandığı zaman kloroplastlardaki protein sentezinin durmasının, kloroplast RNA polimeraz

aktivitesinin azalmasından kaynaklandığı belirlenmiştir (50). Kloroplastlarda bulunan RNA polimeraz nukleusda kodlanır ve sitoplazmadaki ribozomlarda sentezlenir. Bu anahtar enzim nukleus tarafından kontrol edilir ve böylece kloroplastların hayat süresi düzenlenmiş olur.

Yaprak hücrelerindeki senesensin kontrolünde nukleusun önemli bir rolü olduğu Yoshida (51) tarafından da vurgulanmıştır. Bu araştırmacı *Elodea densa*'ya ait hücreleri iki parçaya ayırmak için kalsiyum klorür solusyonunda plazmolize uğratmış ve biri nukleuslu diğeri nukleussuz iki parça elde etmiştir. Bu parçaları 5 gün boyunca kültür etmiş ve deney sonucunda nukleus içeren kısımdaki kloroplastlar parçalanırken nukleus ihtiva etmeyen kısımdaki kloroplastların yeşil kaldığını görmüştür.

b) Mitokondri: Çoğu bitki yapraklarının gelişmesi boyunca solunumun devam ettiği hatta sararma ve senesens sırasında ise arttığı belirlenmiştir (30, 52). Bu bulgu elektron mikroskobu çalışmalarıyla da desteklenmiştir. Bu çalışmalarda sararmış yaprakların mitokondrilerinin yapısal bütünlüklerinin senesensin en ileri safhalarında bile bozulmadığı buna karşılık kloroplastların parçalandığı ve bunun sonucu olarak fotosentez hızının azaldığı tespit edilmiştir (45).

Senesense uğrayan yapraklarda mitokondri aktivitesinin devam etmesinin temel sebebi; hücrenin, yıkılan ürünlerinin taşınması, lipidlerin, amidlerin ve spesifik enzimlerin sentezi için enerjiye ihtiyaç duymasındadır (53, 54).

c) Sitoplazma: Senesense uğrayan yaprakların toplam protein içeriği azalmasına rağmen, 80 S'lik sitoplazmik ribozomda gerçekleştirilen protein sentezinin devam ettiği belirlenmiştir (40, 48). Bununla beraber, senesense uğrayan yaprakların RNA içeriklerinin RNA sentezindeki azalmayla orantılı olarak azaldığı görülmüştür (49, 55). Genellikle aktinomisin D gibi RNA sentezi inhibitörlerinin yaprak senesensi üzerinde etkili olmadığı bulunmuş (38) ve buradan senesensin transkripsiyonal basamakta kontrol edilemeyeceği sonucuna varılmıştır (37). Yaprak senesensinin uzun ömürlü mRNA'lara sahip proteinlerle alakalı olabileceği ve bu proteinlerin sentezinin, mRNA'ların translasyonu ve işlenmesi basamaklarında kontrol edilebileceği düşünülmektedir. Nitekim, *Nicotiana* yaprak diskleri kullanılarak yapılan bir çalışmada (56), RNA poliadenilasyonunun inhibitörü olan cordycepin kullanılarak RNA'nın

fonksiyonel hale geçmesi engellenmiş ve bunun sonucu olarak senesensin geciktirildiği tespit edilmiştir (56).

Ökaryotlarda 80 S ribozom siklusunun inhibitörlerinin yaprak senesensinin aktif inhibitörleri olduğu bulunmuştur. Bu inhibitörler mRNA'nın translasyon basamağının baskılanmasıyla senesensi geciktirirler. Bu tip çalışmalarda en çok kullanılan inhibitörler sikloheksimid ve 2-(4-metil-2,6-dinitroanilino)-N-metil-propionamiddir (57).

1.2.4.2.2. Protein Parçalanmasının Kontrolü

Daha öncede belirtildiği gibi senesense uğrayan yapraklarda proteinlerin net kaybı, protein döngüsündeki biyosentez basamağının engellenmesiyle elde edilebilir. Tablo 2'de senesense uğrayan yapraklarda aktivitesinde artış olduğu kaydedilen enzimler listelenmiştir (14, 15, 16, 30, 58).

Senesens ile bu enzimlerin aktivitesindeki artışın ilişkili olup olmadığının araştırılması gerekir. Çoğu durumlarda senesens esnasında tespit edilen proteaz aktivitesinin, senesens öncesi proteaz aktivitesine oranla fazla olduğu belirlenmiştir. Bu belirlenen proteaz aktivitesinin protein yıkımı için gerekli olandan çok daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 2. Senesense Uğrayan Yapraklarda Aktivitesinde Artış Olduğu Kaydedilen Enzimler.

Enzimler	Çalışılan Bitkiler
Peroksidazlar	Fasülye, pirinç, tütün, <i>Cajanus cajan</i>
Proteazlar	Tütün, fasülye, bezelye, buğday, mısır, arpa, yulaf
Ribonükleazlar	<i>Rhoeo discolor</i> , <i>Lolium temulentum</i>
Asit invertaz	<i>Lolium temulentum</i>
Klorofillaz	Arpa, yulaf
Esteraz	<i>Festuca pratensis</i>
Asit fosfataz	<i>Perilla frutescens</i>
β -1-3 glukan hidrolaz	<i>Nicotiana glutinosa</i>

Van Loon ve arkadaşları (59) senesens sırasında ölçülen asit proteaz aktivitelerinde bazı çelişkilerin olabileceğini belirlemişlerdir. Bu bilim adamları kesilmiş yulaf yapraklarını karanlıkta suya koyup normal sararma meydana getirerek proteaz aktivitesinin arttığını buna karşılık suya dik olarak yerleştirilen yapraklardaki proteaz aktivitesinde artış olmadığını fakat yaprakların her iki grubunda da aynı oranda protein yıkımı meydana geldiğini gözlemişlerdir.

1.2.5. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Yaprak Senesensinin Kontrolü

Senesense uğrayan bir dokunun bileşenlerinin sentez ve parçalanmasına müdahale edilerek, dokunun senesensine sebep olan durumun değiştirilebileceği açıklanmış fakat bu değişimin nasıl gerçekleştirildiğine değinilmemiştir. Yaprakların senesense uğradığı durumlar büyük oranda farklılık gösterir (60). Ana bitkiden bir yaprağın kesilmesi onun senesensini hızlandırır fakat kesilen bu yaprakta meydana gelen değişikliklerin doğal olarak senesense uğrayan bir yapraktaki olayların sadece hızlı bir versiyonu olup olmadığı konusunda değişik görüşler vardır. Son olarak yapılan bazı çalışmalarda, meyve oluşumu ve yeni komşu yaprakların çıkması gibi faktörlerin yaprak senesensini etkileyebileceği tespit edilmiştir (35, 37).

Chibnall (61) koparılmış fasulye yaprak senesensinin, kesilen petiollerdeki kökler geliştikçe engellenebildiğini ve köklerde bulunan bir maddenin yaprakların canlılık faaliyetlerini sürdürebilmesi için gerekli olduğunu belirlemiştir. Bu bulguyu takiben köklerde ve bitkinin diğer kısımlarında bulunan büyümeyi düzenleyici maddelerin yaprakların senesensini etkilediğini gösteren deliller elde edilmiştir (35, 37). Günümüzde, bu maddelerin senesens olayında nasıl rol oynadığı tam olarak açıklanamamıştır.

Yaprak senesensi üzerine büyümeyi düzenleyici maddelerin etkilerini çalışmak için en çok kullanılan deneysel metod, koparılan yaprakların petiolleri ile birlikte büyümeyi düzenleyici maddeleri ihtiva eden solusyonlara koyulması veya çıkarılan yaprak disklerinin uygun solusyonlara koyularak protein ve klorofil kaybının ölçülmesiyle, senesens hızının gözlenmesidir. Bu deneylerin sonuçları, bitki büyüme

düzenleyicilerinin etkilerinin türden türe farklı olduğunu göstermiştir. *Xanthium*'un koparılmış yapraklarında ve diğer çoğu türlerde sitokininlerin senesensi geciktirdiği (22); indol asetik asit (IAA)'in *Prunus* türlerinin senesensinin geciktirilmesi için gerekli olduğu tespit edilmiştir (55). Öte yandan, giberellinlerin *Taraxacum officinale*'nin koparılmış yapraklarının senesensini geciktirdiği fakat sitokininlerin bu yapraklar üzerine etkisiz olduğu belirlenmiştir (62). *Rumex* türleri ve *Tropaeolum majus*'da ise sitokininlerin ve giberellinlerin benzer konsantrasyonlarda koparılmış yaprakların senesensini geciktirdiği tespit edilmiştir (63). Bitki büyüme düzenleyicilerinin bu farklı etkilerinin nedenleri bilinmemektedir. Çeşitli türlerde köklerden yapraklara doğru taşınan bir sitokinin kaynağının var olduğu ve yaprak dokularında sitokininlerin diğer ürünlere metabolize olduğu belirlenmiştir. Bu gözlemler, büyümeyi düzenleyici bir maddenin senesensi geciktirici etkisinin onun bitkideki endojenik miktarına bağlı olduğunu göstermiştir. Büyümeyi düzenleyici maddelerin miktarı metabolizmayı desteklemek için gerekli olan seviyenin altına düşerse senesens meydana gelmekte ve bu madde dışardan uygulandığı zaman ise senesens geciktirilebilmektedir (31, 34).

Bitkilere dışardan uygulanan absisik asit (ABA) çoğu türlerde yaprak senesensini hızlandırmıştır (64). Colquhoun ve Hillman (65) *Phaseolus vulgaris* 'in yapraklarındaki senesens basamağı ve ABA içeriği arasında bir ilişkinin olmadığını belirlemişlerdir. Bu nedenle ABA'nın, senesensin erken safhalarında başlatıcı bir faktör olarak etki etmesi, daha sonra senesensin ilerlemesine herhangi bir etkide bulunmaması düşünülebilir. Buna karşılık koparılmış yulaf yapraklarının karanlıkta inkübe edilmesiyle ABA içeriğinde beş kat bir artış görülmüş ve bu artışın yaprakların hızlı senesense uğramasına sebep olabileceği sonucuna varılmıştır (66).

Sitokininlerin yaprak senesensini geciktirmedeki etkileri bilinmesine rağmen, hormonların etki şeklinin anlaşılması henüz mümkün olmamıştır. *Glycine max*'ın kültür edilmiş hücreleri kullanılarak yapılan çalışmalar, sitokininlerin translasyon basamağında etkili olarak büyümeyi uyardığını göstermiştir (30). Kültür edilmiş *G. max* hücrelerine sitokinin uygulandığında 15 dakika içersinde monosomların polisomlara dönüşümünün uyarıldığı ve varolan mRNA'lar aktifleştirilerek translasyonun etkilendiği belirlenmiştir (67). Bu etkinin biyokimyası henüz anlaşılammıştır. Sitokininlerin benzer bir etki mekanizmasıyla protein

sentezini uyararak yaprak dokularındaki senesensi geciktirdiği düşünülmektedir.

Yaprak senesensiyle ilgili olan diğer hormon etilen olup, etilenin senesens üzerine olan etkisi hakkında bazı şaşırtıcı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı türlerde senesens hızı üzerine etilenin herhangi bir etkisinin olmadığı, bazılarında ise olduğu tespit edilmiştir (30). Etilenin bütün yapraklarının senesensini teşvik ettiği ve bu türlerin senesense uğrayan yaprakları tarafından üretildiği belirlenmiştir. *Ilex aquifolium* ve *Hedera helix* gibi herdem yeşil olan bitkilerin koparılmış yapraklarının aylarca senesense uğramaksızın karanlıkta kaldıkları fakat bu yaprakların etilene maruz bırakıldığında hızlı bir şekilde senesense uğradıkları gözlenmiştir (30).

Son zamanlarda, etilenin metioninden biyosentez yolunun S-adenosil metionin (SAM) ve 1-aminosiklopropan 1-karboksilik asit (ACC)'le ilgili olduğu gösterilmiştir (68). Koparılmış bütün yaprakları kullanılarak yapılan bir çalışmada senesensin hızlı olarak meydana gelen son fazından önce, etilen üretiminde hızlı bir artışın olduğu belirlenmiştir (69). *Phaseolus vulgaris*'in koparılmış yapraklarına 1mM ACC uygulanması durumunda etilen üretimi artırılarak yaprak sararmasının yani senesensin hızlandığı görülmüştür.

Çoğu bitki dokularına oksin uygulandığında ACC sentaz aktivitesinin arttığı ve bunun sonucu olarak etilen üretiminin hızlandığı gösterilmiştir (70). ACC sentaz, SAM'ı ACC'ye dönüştüren bir enzimdir. Aminoetoksivinil glisin, ACC sentazı inhibe ederek etilen sentezini azaltır. Co^{2+} ise ACC'nin etilene dönüşümünü inhibe eder. Bu iki madde koparılmış yaprakların senesensini geciktirir. Etilenin etkisini inhibe eden gümüş iyonları ve yüksek CO_2 konsantrasyonları da benzer etkiler gösterir (71). ACC'nin etilene dönüşümü ve etilenin etkisini gösterebilmesi için moleküler oksijenin gerekli olduğu kaydedilmiştir (72). Bu sonuçlar, anaerobik koşullar altında yaprak senesensinin geciktirilebileceğini göstermektedir.

1.2.6. Senesens Tipleri

Bitkilerde senesens incelendiğinde karakteristik olarak iki tip senesensin olduğu görülür. Bunlardan birisi organlardaki senesens, diğeri ise bitkinin tümündeki senesensdir.

1.2.6.1. Organlarda Senesens

Bitkilerde, organ senesensinin en tipik örnekleri yaprak ve meyvelerde görülür. Bu senesens tipi de kendi arasında gruplara ayrılır.

a) **Kademeli senesens:** Gövde boyuna uzamasına devam ederken bitkinin kaidesinde bulunan olgunlaşmış yaprakların senesense uğramasıdır. Kademeli senesense maruz kalan yapraklarda olayın; gövde ucundaki genç yapraklarla tabandaki olgun yapraklar arasındaki, metabolik ve besleme rekabetiyle sağlandığına ilişkin deliller elde edilmiştir. Bu durum tepesi koparılan bitkilerin tabanındaki yapraklarının senesensinin geciktirilmesiyle ispatlanmıştır (29).

b) **Eş zamanlı senesens:** Yapraklarını her sonbahar döken ağaçlarda görülen senesens olayıdır. Bu tip ağaçların yaprakları sonbaharın gelmesiyle değişen çevre şartlarına ve bu şartların neden olduğu endojenik faktörlere bağlı olarak senesense uğrarlar.

c) **Meyve senesensi:** Meyve oluşumunu izleyen meyvenin olgunlaşma safhası da bir senesens tipidir. Olgunlaşma ile birlikte yumuşama etli meyvelerdeki senesensin belirgin bir özelliğidir. Yumuşama hücre çeperinin orta lamelindeki pektinlerin poligalaktronidaz enzimiyle eritilmesi, nişastanın ve yağların hidrolizi şeklinde izah edilebilir (29, 30).

1.2.6.2. Bitkinin Tümünde Senesens

Bazı bitkiler, meyveleri olgunlaştığı zaman ölürlür. Muhtemelen bir mısır tarlasının olgunlaşması da bu olayın en bariz örneğidir. Böyle davranış gösteren türler **monokarpik** olarak adlandırılırlar. Tüm tek yıllık ve iki yıllık bitkilerle, bazı çok yıllık (*Agave* gibi) bitkileri içine alan monokarpik bitkiler, genellikle ömürlerinde bir defa çiçeklenip meyvelenirler ve sonra da ölürlür. Birden çok büyüme ve üreme siklusuna sahip bitkiler ise **polikarpik** olarak adlandırılırlar. Otsu ve odunsu çok

yıllık bitkilerden oluşan polikarpik bitkiler bir çiçeklenme ve meyvelenme periyodundan sonra ölmezler. Bunlarda ölüm, türlere göre az çok belirgin olan ömür uzunluğuna göre çiçek ve meyve vermenin birçok defa tekrarından sonra meydana gelir. Onun için hepsi polikarpik olan çift çenekli odunlu bitkilerin ağaç bireyleri uzun yıllar yaşarlar. Bazı türlerin davranışları detaylı olarak incelendiği zaman bu polikarpik ve monokarpik ayırımın tamamıyla belirlenemediği görülür. Örneğin, bazı türlerin senesensi meyvalanma zamanındaki besleyici kaynak ve iklim koşulları tarafından etkilenebilir.

Tahıllar gibi monokarpik türlerin senesensleri, vejetatif uç kısmın hepsinin generatif yapıya dönüşmesiyle başlar (29, 30).

1.2.6.2.1. Monokarpik Senesensin Düzenlenmesi

Bu çalışmada kullanılan kabak ve ayçiçeği monokarpik bitkilere örnek teşkil etmektedirler. Monokarpik türlerde senesens ve tohum dolgunluğu arasında yakın bir ilişki vardır. Bitki hayati kaynaklarının tümünü maksimum tohum üretebilmek için kullanmakta ve bunun sonucunda kendisi tükenerek ölmektedir. Bu olay, bitkinlik veya besleyicinin sapması hipotezi olarak adlandırılmaktadır (30). Maalesef, bu olayı deneysel olarak ispatlamak çok güçtür ve bu konu hakkında yeterli bilgi mevcut değildir. Bu hipotezi destekleyen eski bir gözlemde, çoğu monokarpik türlerde çiçeklerin veya gelişen meyvelerin koparılmasıyla senesensin geciktirilerek bitki hayatının uzatılabileceği tespit edilmiştir (73). Bu çeşit deneylerde karşılaşılan güçlük, bitkiyi biçimlendiren meyvelerin veya çiçeklerin koparılmasının, bitkideki besinlerin yıkılıp taşınmasının engellenmesinden ziyade başka yollarla bitkiye zarar verebileceği şeklindedir. Örneğin, bu organlar büyümeyi düzenleyici maddelerin esas kaynakları olabilirler.

Besinlerle ilgili ortaya atılan hipotezin çelişkili olduğunu ifade eden en eski araştırmacı Murneek (74)'dir. Bu araştırmacı (74) fazla besin maddelerinin varlığında bile bitkilerin büyümesi üzerine meyvelerin teşvik edici etkisinin devam ettiğini belirlemiştir. Buradan bitkilerdeki senesens olayıyla başka faktörlerin ilgili olabileceği ortaya çıkmıştır. Nitekim monokarpik bir bitki olan ıspanağın hem erkek hem de dişi bireyleriyle yapılan araştırmada dişi bitkide tohum oluşumundan dolayı daha fazla besin talep edilmesine rağmen her iki bitkininde aynı zamanda senesense uğradığı görülmüştür (30).

Bitkilerde senesensin düzenlenmesinde büyüme düzenleyici maddelerin etkileriyle ilgili son çalışmalar Nooden ve arkadaşları (75) tarafından soya fasülyesinde yapılmıştır. Soya fasülyesinde senesensin, meyvelerin çoğu olgunlaştığı zaman başladığı tespit edilmiştir. Tohum zarfları olgunlaşmadan önce meyveler uzaklaştırıldığında ise senesensin engellenebildiği görülmüştür. Aynı araştırmacıların yaptıkları başka bir çalışmada gövde ucunun koparılmasıyla simpodiyal dallanma gösteren (Y şekilli) bitkiler geliştirilmiş ve dalların birindeki meyveler koparılmış. Meyveli dal senesense uğrarken meyvesiz olan daldaki yaprakların yeşil kaldığı görülmüştür. Soya fasülyesi ile yapılan başka bir çalışmada ise bitkiler üç internod uzaklığında olan legümenlerin altında ve üstünde tek bir yaprak olacak şekilde budanmış ve legümenlerin altındaki yaprağın hızlı bir şekilde senesense uğradığı tespit edilmiştir (75). Bu etki meyvelerden gelen senesensi teşvik edici bir faktörün büyük bir potansiyelle aşağıya doğru hareket ettiğini göstermekteydi. Bununla beraber bu deneyin tekrarı görüldüğü kadar kolay değildir. Legümenlerin altındaki ve üstündeki yaprakların yaşları çok farklı olup, bu durum onların senesens için aynı eğilime sahip olmadıklarını gösterir. Buna ek olarak stoma hareketlerinin yaprak yaşının bir fonksiyonu olarak azaldığı bilinmektedir (6). Legümenlerin alt veya üstündeki yapraklar arasında böyle bir farklılık varsa, iki uygulamada bu yapraklara geçen çözünmüş madde ve su miktarı da farklı olacaktır. Bu deneylerde raslanan diğer bir güçlük, fotosentezle yapraklarda meydana gelen mineral besinlerin legümenlere hareketidir. Legümenlerin alt ve üstündeki yaprakların vasküler bağlantıları farklı olacağından besinlerin hareketi de farklı olacaktır.

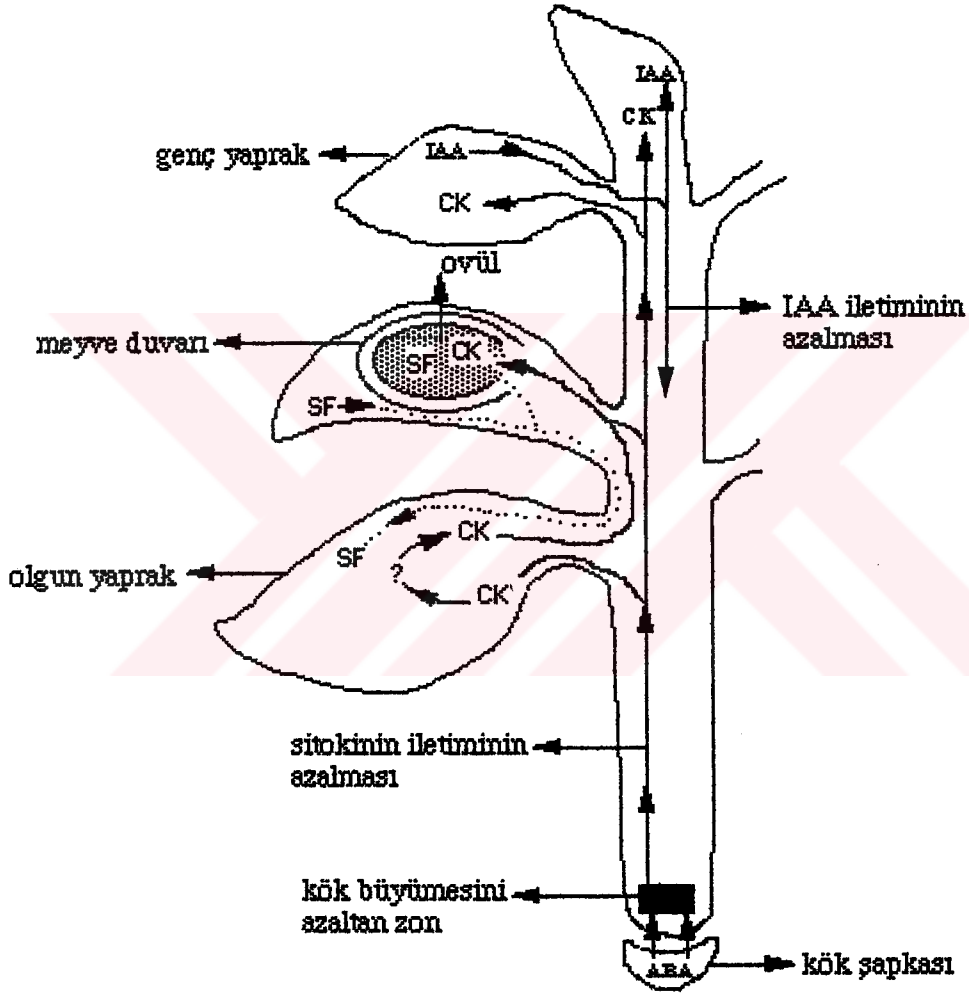
Başka bir çalışmada legümenlerin altındaki floemin çıkarılması sonucu alttaki yaprakların senesensinin azaldığı görülmüş fakat legümenlerin altındaki yaprakların petiyollerindeki floemin kesilmesi senesensi engellememiştir (76). Bu durum floemin, meyvelerden aşağıya doğru senesensi teşvik edici bir faktörü taşıdığını göstermektedir. Monokarpik bitkilerle yapılan bu çeşit deneylerin senesensle ilgili çeşitli ilginç sonuçlar verdikleri söylenebilir.

Diğer bir çalışmada, meyve vermiş soya fasülyesi yapraklarına ABA uygulandığında senesens hızlanmış fakat meyvesiz bitkilerin senesensi hızlanmamıştır (30). Bu nedenle, ABA'nın meyvelerde olgunlaşmayı arttırdığı bilinmesine rağmen senesensi teşvik edici bir faktör olmadığı

sonucuna varılmıştır. Gerçekten C^{14} - ABA ile yapılan deneyler, ABA'nın yapraklardan meyvelere taşındığını göstermiştir (77).

Genel olarak monokarpik bitkilerle yapılan deneylere bakıldığında, bitkilerin farklı kısımları arasındaki karşılıklı etkileşimin üzerinde durulmadığı görülür.

Organlar arasındaki etkileşim sistemini açıklayan Şekil 3'deki gibi bir teori ortaya atılmıştır (30).



Şekil 3. Organlar Arasındaki Etkileşim Sistemini Açıklayan Teori (CK : sitokinin, SF : senesens faktörü).

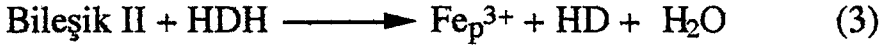
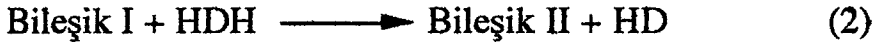
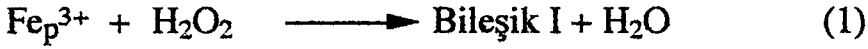
Bu teoriye göre, bitkinin kök ucu ve aktif olarak büyüyen sürgünlerinde, sitokininler ve IAA gibi büyümeyi düzenleyici maddeler üretilir ve bu maddelerin etkileri ile bitkinin vejetatif dönemi devam ettirilir. Bununla beraber bitkinin tepe kısmı, çiçekleri oluşturmak için farklılaştığı zaman bütün yapraklar olgunlaşır ve sürgünün tepesinden gelen IAA kaynağı azalır. Bu esnada bitkideki büyüme daha az aktif olduğu için köklerden gelen sitokinin kaynağı da azalır. Vejetatif dönemi uyaran düzenleyicilerin azalması, meyveleri olgunlaştıran düzenleyicilerin artmasına sebep olur. Bunlar senesensi teşvik eden etilen ve meyvelerin gelişmesini sağlayan faktörlerdir. Bu faktörler vejetatif dönemi uyaran düzenleyicilerin kaynağını azaltır ve böylece senesensin meydana gelmesi sağlanır. Bununla beraber, bazı türlerde gelişmekte olan meyveler tarafından senesens faktörü (SF) olarak adlandırılan bir maddenin sentezlendiği ve bu maddenin etkisiyle meyvenin daha aşağı kısımlarında bulunan dokuların senesenslerinin uyarıldığı tespit edilmiştir (30).

1.2.7. Bitki Senesensinde Peroksidazların Rolü

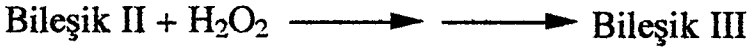
Peroksidazlar, bitkilerde yaygın olarak bulunan, prostetik grup olarak demir-porfirin ihtiva eden oksidaz grubu enzimlerdir. Bitki organ ve hücrelerinden kolayca izole edilebilirler. Peroksidazların birçok fizyolojik olayla ilişkisi olduğu ve metabolizmada aktif bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Bitkilerde peroksidazların önemli bir fonksiyonu lignin senteziyle ilgilidir. Bunun yanısıra peroksidazların endojen IAA regülasyonu, H_2O_2 detoksifikasyonu, etilen üretimi, klorofil yıkımı ve fenolikler gibi çeşitli organik bileşiklerin oksidasyonu da ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Her bitki, substrat spesifikliği ve bitkideki yerleşimi farklı olan çok sayıda peroksidaz izoenzimlerine sahiptir. İzoenzimlerin moleküler ağırlıkları 30.000 ile 50.000 dalton arasında farklılık göstermektedir.

Peroksidazlar çeşitli organik substratların bir elektron oksidasyonunu katalizlerler. İlk adım H_2O_2 veya bir organik hidroperoksid tarafından enzimin ferrihem prostetik grubunun iki elektron oksidasyonu ile ilgilidir. Ferriperoksidaz enziminin H_2O_2 ile interaksyonu bir kararsız bileşiğin oluşmasıyla sonuçlanır (Reaksiyon 1). Bileşik I olarak adlandırılan bu ara ürün bir elektron vericisiyle (HDH) reaksiyona girerek oksitlenir ve bileşik II oluşur (Reaksiyon 2). Bileşik II bir elektron kaybederek tekrardan

enzimin dinlenme formuna (Fe_p^{3+}) dönüşür (Reaksiyon 3). Fe_p^{3+} , bileşik I ve bileşik II ile ilgili siklus çoğu peroksidaz reaksiyonları için geneldir.



Elektron verici moleküllerin peroksidatif oksidasyonuna ek olarak, çeşitli oksidaz reaksiyonlarının H_2O_2 yokluğunda peroksidaz tarafından katalizlendiği belirlenmiştir. Bu oksidaz reaksiyonuna bileşik I ve II katılmaz. O_2 süperoksid radikaline (O_2^-) indirgenir. Bu oksidaz siklusuyla ferropereksohidraz (Fe_p^{2+}) ve bileşik III ilgilidir .



Bitki hücrelerinde peroksidaz esas olarak hücre duvarında, vakuollerde, transport organellerinde ve membrana bağlı ribozomlarda bulunur. Bitkilerdeki peroksidazların çalışması, hücrelerdeki buldukları yer, doku spesifikliği ve bazı izoperoksidazların fonksiyonlarıyla alakalıdır. Farklı izoperoksidazlar farklı substrat spesifikliğine, ısı kararlılığına ve hücresel kompartımanlarda dağılıma özelliğine sahiptirler. Bundan dolayı farklı amaç için meydana gelen reaksiyonları katalizlerler ve gelişme ile ilgili spesifik olaylara katılırlar. *Nicotiana tabacum* 'un kallus, vejetatif form ve çiçek tomurcuklarında, 47 izoperoksidaz bulunmuş ve bunların yarısından çoğunun gelişme ile ilgili spesifik olaylarda rol oynadığı belirlenmiştir (78).

Çeşitli bitkilerde senesens boyunca peroksidaz aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (13, 14, 15, 16). Peroksidazların senesense uğrayan bitki dokularında klorofil parçalanması ve lipid peroksidasyonu olaylarında rol oynadığı tespit edilmiştir. Tilakoid membrana bağlı olan bir fenol spesifik peroksidazın klorofil katabolizmasıyla ilgili olabileceği ileri sürülmüştür. Nitekim ayçiçeği yapraklarında yapılan bir çalışmada bazı anyonik peroksidaz izoenzimlerinin senesens boyunca meydana gelen klorofil içeriğindeki azalmayla aynı zamanda görüldüğü kaydedilmiştir.

Işığın, klorofil parçalanmasındaki peroksidaz aktivitesini etkilediği tespit edilmiştir. Karanlıkta buğday ve çavdar yapraklarında peroksidaz

aktivitesinde hızlı bir yükselme olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, karanlıkta klorofil miktarında da azalma olacağı için sözkonusu bu bitkilerde meydana gelen peroksidaz aktivitesindeki artışın klorofil katabolizmasıyla alakalı olduğu düşünülebilir. Bu durumun aksine suda yaşayan sucul bir angiosperm olan *Hydrilla* 'da ise ışıklandırılmayla beraber enzim aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir. Işığın etkisiyle peroksidaz aktivitesinde meydana gelen artış, H₂O₂ birikmesi sonucu oluşan klorofil kaybıyla alakalı olabilir (78).



2. MATERYAL VE METOD

2.1. Bitkilerin Büyütülmesi ve Hormon Uygulanması

Trabzon Tarım İl Müdürlüğü'nden temin edilen kabak (*Cucurbita pepo* L.) ve ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) tohumları bir gece saf suda bekletildikten sonra eşit büyüklükteki saksılara dikildi. Tohumlar çimlendikten 18 gün sonra kotiledonlar kesilerek, bunlardan bir mantar delicisiyle birlikte eşit büyüklükte diskler çıkarıldı ve kırık hücrelerini uzaklaştırmak için 5 kez saf suyla yıkandı. Daha sonra bu diskler herbir petri kabında 9 tane olacak şekilde iki katlı filtre kağıdı içeren steril petri kaplarına yerleştirildi. Kontrol grubuna 10 ml steril saf su diğer petrilere ise aynı hacimde, steril saf suda hazırlanmış benziladenin hormonunun 1, 10 ve 100 ppm'lik konsantrasyonları uygulandı ve petriler, kotiledonların senesensini hızlandırmak amacıyla karanlıkta, 25°C'ye ayarlı iklim dolabına yerleştirildi. İnkübasyondan 24 saat sonra düzenli aralıklarla diskler alınarak 5 gün boyunca analizler yapıldı (20).

2.2. Klorofil ve Karotenoid Tayini

Klorofil ve karotenoidlerin tayini için 3 disk tartıldı ve 5 ml %80'lik asetonda homojenize edildi. Homojenat 3.000 rpm'de 5 dak. santrifüj edildi ve süpernatantın optik yoğunluğu spektrofotometreyle (Shimadzu UV 120-01) 663, 645 ve 450 nm'de okundu. Klorofil a ve b Arnon (79)'a, karotenoid miktarları ise Jaspars (80)'a göre aşağıdaki formüllerle belirlendi.

Klorofil a (mg/l): $12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$

Klorofil b (mg/l): $22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$

Toplam karotenoid (mg/l): $4,07 \times A_{450} - 0,0435 K_{l a} - 0,367 K_{l b}$

2.3. Peroksidaz Aktivitesi Tayini

2.3.1. Enzim Ekstraktının Hazırlanması

Bitkilerin kotiledonlarından çıkarılan 6 disk 10 ml 0,2 M soğuk sodyum fosfat tamponunda (pH 7) buz üzerinde homojenize edildi. Homojenat iki katlı tülbent bezinden süzöldükten sonra +4°C'de 20.000Xg'de 20 dak. santrifüj edildi. Süpernatantın bir kısmı çözünebilir protein miktarının belirlenmesi için alındı. Geri kalan kısmı ise enzim aktivitesinde kullanılmak üzere 0,02 M sodyum fosfat tamponunda (pH 7) bir gece boyunca diyaliz edildi (81).

2.3.2. Enzim Aktivitesinin Tayini

Peroksidaz aktivitesi spektrofotometrik olarak Rodriguez ve Sanches (82)'in tanımladığı gibi Van Lelyveld ve Pretorius (83)'un metodunun biraz değiştirilmesiyle ölçüldü. Substrat olarak 40 mM guaiacol ve 26 mM H₂O₂ çözeltileri kullanıldı.

Aktivite tayini için, içersine 1 ml guaiacol, 0,5 ml H₂O₂ ve 1,4 ml 0,05 M fosfat sitrat tamponu (pH 4,6) koyulan tüp, 25°C'ye ayarlı su banyosunda 15 dak. bekletildi. Tüp içersindeki tampon- substrat karışımı spektrofotometre küvetine dökülerek üzerine 100 µl enzim ekstraktı ilave edildi. 420 nm dalga boyunda meydana gelen absorbans değişimi 3 dak. boyunca birer dakika arayla kaydedildi ve enzim aktivitesi $\Delta_{420} / \text{dak.} / \text{g}$ taze ağırlık cinsinden ifade edildi.

2.3.3. Poliakrilamid Jel Elektroforezi ile Peroksidaz İzoenzimlerinin Belirlenmesi

Elektroforez çalışmalarında enzim kaynağı olarak dondurularak saklanan enzim ekstraktı kullanıldı. Liu (84) tarafından tanımlanan poliakrilamid jel elektroforeziyle peroksidaz izoenzimleri belirlendi. Yığıma jeli için %3'lük ayırma jeli için %8'lik akrilamid hazırlandı. Yığıma jelin hazırlanması için; 1 M Tris-HCl (pH=6,8)'den 1 ml, %30'luk akrilamid ve %0,8'lik bis akrilamidden 1,3 ml, saf sudan 5,5 ml ve taze hazırlanmış

%10'luk amonyum persülfattan 0,08 ml alınıp üzerine 0,01 ml TEMED (N,N,N,N-tetrametil etilen diamin) ilave edilerek karıştırıldı. Ayırma jeli için ise; 1,5 M Tris-HCl (pH 8,8)'den 10 ml, %30'luk akrilamid ve %0,8'lik bis akrilamidden 10,7 ml, saf sudan 18,5 ml, taze hazırlanmış %10'luk amonyum persülfattan 0,4 ml alındı ve bu karışımın üzerine son olarak 0,02 ml TEMED ilave edilerek karıştırıldı.

Elektroforez işlemi için, elektroforez camları önce su sonra etil alkol ile iyice temizlendikten sonra, cam plakalar arası 0,75 mm olacak şekilde kıskaçlarla tutturularak jel hazırlama cihazına konuldu. Taze olarak hazırlanan %8'lik ayırma jeli enjektör yardımıyla cam plakalar arasına yaklaşık 10 cm oluncaya kadar döküldü. Bu sırada jel arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi. Jel yüzeyinin düzgün olması için su ile ince bir tabaka oluşturuldu ve jelin polimerleşmesi için yarım saat kadar beklenildi. Polimerizasyonun ardından ayırma jelinin üzerindeki su boşaltıldı. Daha sonra %3'lük yığma jeli, ayırma jelinin üstüne cam plakaların arası tamamen doluncaya kadar ilave edildi. Jel polimerleşmeden önce içersine 0,75 mm'lik 20 gözlü tarak dikkatlice yerleştirildikten sonra polimerizasyon için yarım saat bekletildi. Daha sonra tarak dikkatlice çıkarılarak, jelde oluşan gözler önce saf su ile, sonra yürütme tamponuyla yıkanarak gözlerin yerleri işaretlendi ve cam plakaların arasındaki jel, elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankının alt ve üst kısmı elektrik devresini içine alacak şekilde yürütme tamponuyla dolduruldu. Numuneler, %50 gliserol ve %1'lik bromofenol boyası içersinde 20 µg protein olacak şekilde hazırlandı ve Hamilton marka bir enjektörle jele uygulandı. Yürütme tamponu (14,4 g glisin ve 3 g Tris, 1 litre, pH, 8,3) kullanılarak +4°C'deki soğuk odada numuneler, yığma jelini geçinceye kadar 10 mA akımda, ayırma jeline ise 20 mA akımda 3-4 saat yürütüldü. Daha sonra dikkatli bir şekilde çıkarılan jel, benzidin (0,1 g benzidin / 100 ml 0,2 M sodyum asetat tamponu, pH 5) ve H₂O₂ substratlarıyla hazırlanan çözeltide (2,5 ml %3'lük H₂O₂ / 100 ml benzidin çözeltisi) 35°C'de 1 saat bekletildikten sonra %30'luk etil alkolde muhafaza edildi. İzoenzim bantlarının yerleri cetvelle ölçülüp, Rf değerleri hesaplanarak jel haritaları çıkarıldı.

2.4. Çözünebilir Protein Tayini

Kotiledonlardaki çözünebilir protein miktarının tayini için Bradford Yöntemi (85) kullanıldı. Bu yöntem, fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomassie brilliant blue G-250 reaktifi ile kompleks oluşturması, oluşan kompleksin 595 nm'de maksimum absorbanans göstermesi esasına dayanır. Bu yöntemin diğer protein yöntemlerinden üstün tarafı, çok kısa sürede uygulanması, bozucu faktörlerin pek söz konusu olmaması, protein-boya kompleksinin çözeltilerde uzun süre kalmasıdır. Ayrıca proteine boyanın bağlanması çok hızlı gerçekleşir (ortalama 2 dk). Bu yöntemin hassasiyeti 1-100 μg arasındadır.

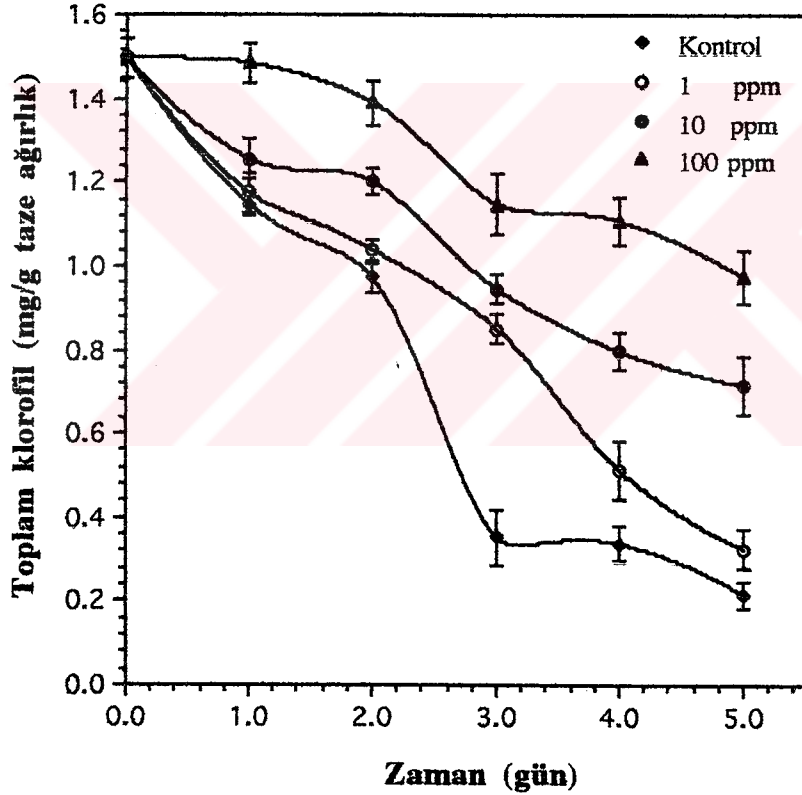
Protein tayini için şu işlem takip edildi: 100 ml'sinde 0,01 g protein ihtiva eden standart BSA (bovin serum albumin) çözeltilerinden tüplere 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6 ml alınarak 0,05 M fosfat tamponu (pH,6) ile tüm tüplerin hacimleri 2 ml'ye tamamlandı. Her bir tüpe 1,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 reaktifi ilave edilerek tüpler vorteks ile karıştırıldı. Spektrofotometre, 2 ml 0,05 M fosfat tamponu ve 1,5 ml boyadan oluşan çözelti (kör) ile kalibre edildi ve standart BSA ihtiva eden tüplerin absorbanansları 595 nm'de köre karşı 2 ile 60 dak. arasında okundu. Elde edilen absorbanans değerlerine karşılık gelen μg protein değerleri ile standart grafik hazırlandı.

Kotiledonlardaki çözünebilir protein miktarlarının tayini için daha önce hazırlanan enzim ekstraktından 0,3 ml alınarak üzerine 1,7 ml fosfat tamponu ve 1,5 ml Coomassie reaktifi ilave edilerek vortekste karıştırıldı. 2 ile 60 dak. arasında 595 nm de absorbanansları ölçüldü. Üç ölçümün ortalama absorbanansına karşılık gelen protein miktarları standart grafik yardımıyla hesaplanarak **mg protein / g taze ağırlık** olarak ifade edildi.

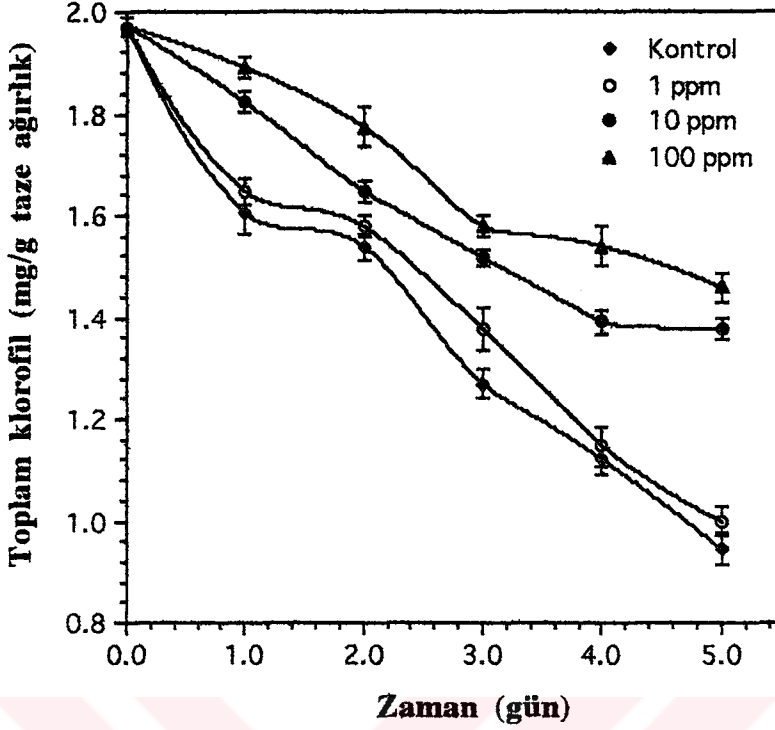
3. BULGULAR

3.1. Benziladeninin Fotosentetik Pigment Miktarları Üzerine Etkisi

Kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince toplam klorofil miktarında meydana gelen değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine farklı konsantrasyonlardaki benziladenin (BA)'in etkileri Şekil 4 ve 5'de gösterildi.



Şekil 4. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Toplam Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).



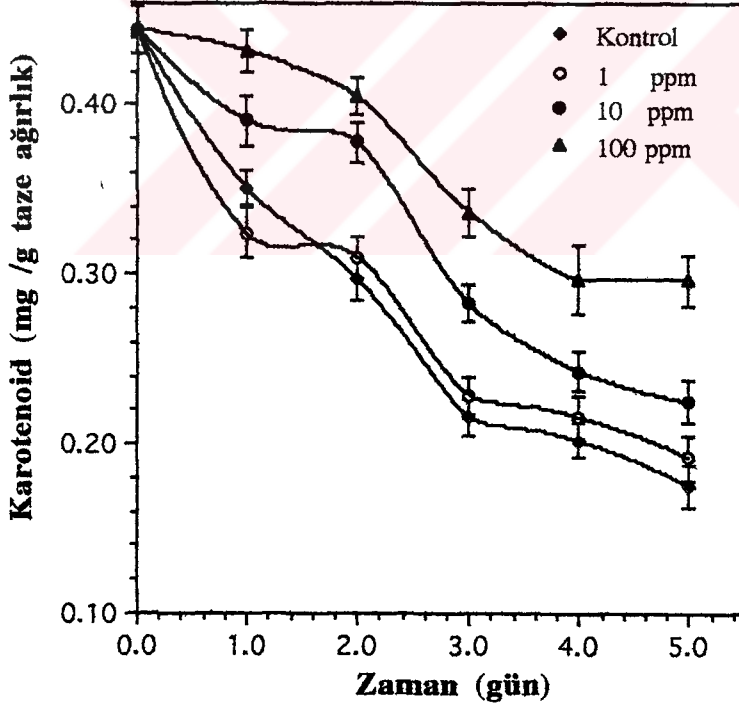
Şekil 5. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Toplam Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

Her iki bitkide de kotiledonların senesensi süresince toplam klorofil miktarının kademeli bir şekilde azaldığı görülmektedir. Kontrolle karşılaştırıldığında farklı konsantrasyonlarda BA uygulanan kotiledonlardaki toplam klorofil miktarlarının daha yüksek olduğu tespit edildi. Deneyin başlangıcından itibaren, 1 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki toplam klorofil miktarlarının kontrole yakın oranda azaldığı, 10 ve 100 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki klorofil kaybının ise önemli ölçüde geciktirildiği belirlendi. Beş günlük peryot boyunca özellikle 2. günden sonra toplam klorofil miktarının önemli ölçüde azaldığı görüldü. Deney sonunda kontrol grubundaki kabak kotiledon disklerinin toplam klorofil miktarında g başına 1,282 mg'lık bir azalma görülmesine karşın, bu değer 1 ppm BA uygulanan kabak kotiledonlarında 1,174 mg, 10 ppm BA uygulananlarda 0,783 mg ve 100 ppm BA uygulananlarda ise 0,526 mg olarak belirlendi. Ayçiçeği kotiledonlarında ise bu değerler; kontrol grubunda 1.026 mg/g, 1 ppm BA uygulanan kotiledonlarda 0,972 mg /g, 10

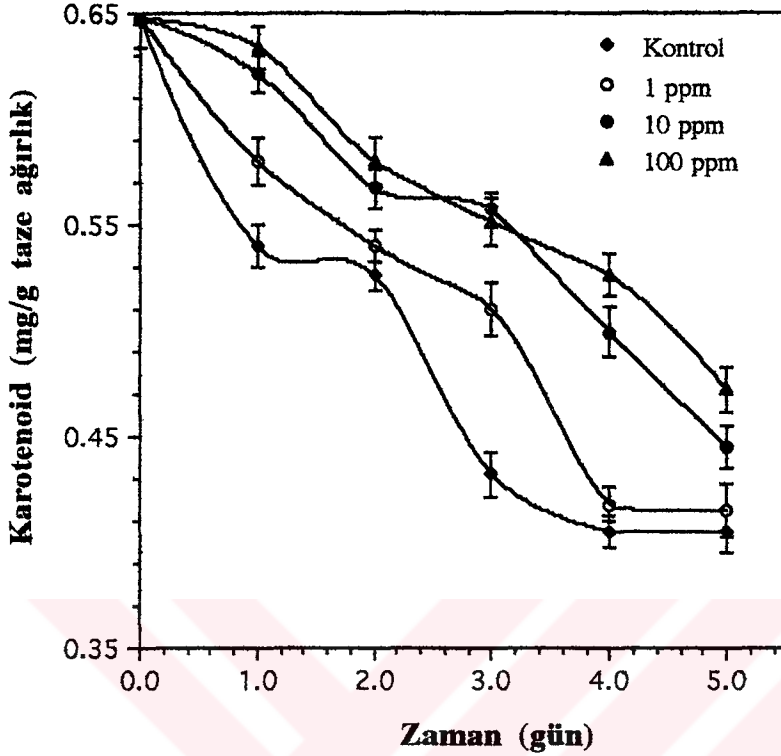
ppm BA uygulananlarda 0,594 mg/g ve 100 ppm BA uygulananlarda ise 0,513 mg/g olarak bulundu.

Bu sonuçlar her iki bitkide de 10 ve 100 ppm'lik BA konsantrasyonlarının toplam klorofil miktarındaki azalmayı önemli ölçüde geciktirdiğini göstermektedir. Kabak kotiledonlarında 1,498 mg/g olan başlangıç klorofil miktarının 5 günlük peryot sonunda, 10 ppm BA uygulanan kotiledonlarda 0,715 mg/g'ının 100 ppm BA uygulananlarda ise 0,972 mg/g'ının aynen muhafaza edilmesine karşın kontrol grubunda ancak 0,216 mg/g'ının kaldığı tespit edildi. Ayçiçeği kotiledonlarında ise 1,971 mg/g olan başlangıç toplam klorofil miktarının, 10 ppm BA uygulanan kotiledonlarda 1,377 mg/g'ının, 100 ppm BA uygulananlarda ise 1,458 mg/g'ının aynen muhafaza edildiği, kontrol grubunda ise 0,945 mg/g'ının kaldığı belirlendi.

Kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince karotenoid miktarlarında meydana gelen değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine farklı konsantrasyonlardaki BA'nın etkileri Şekil 6 ve 7'de gösterildi.



Şekil 6. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

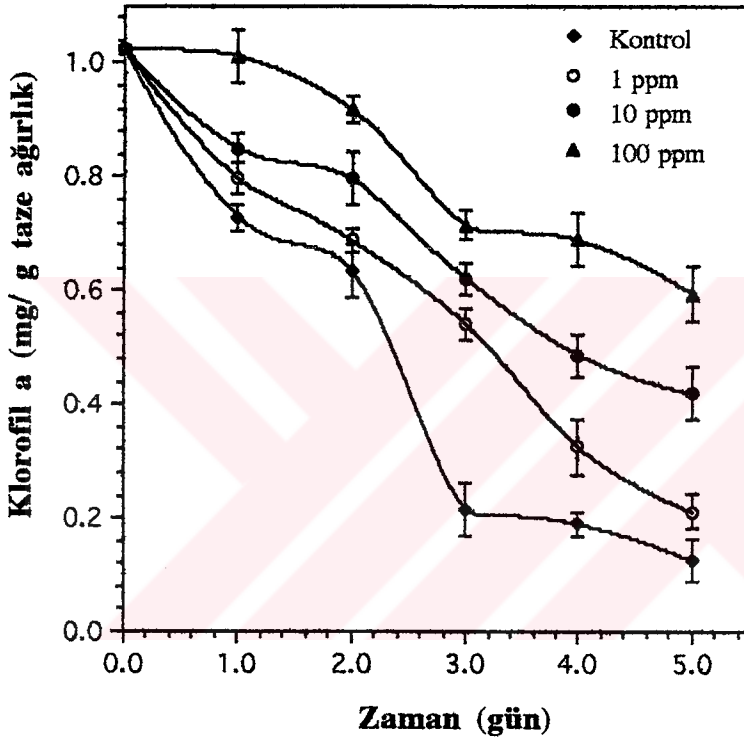


Şekil 7. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

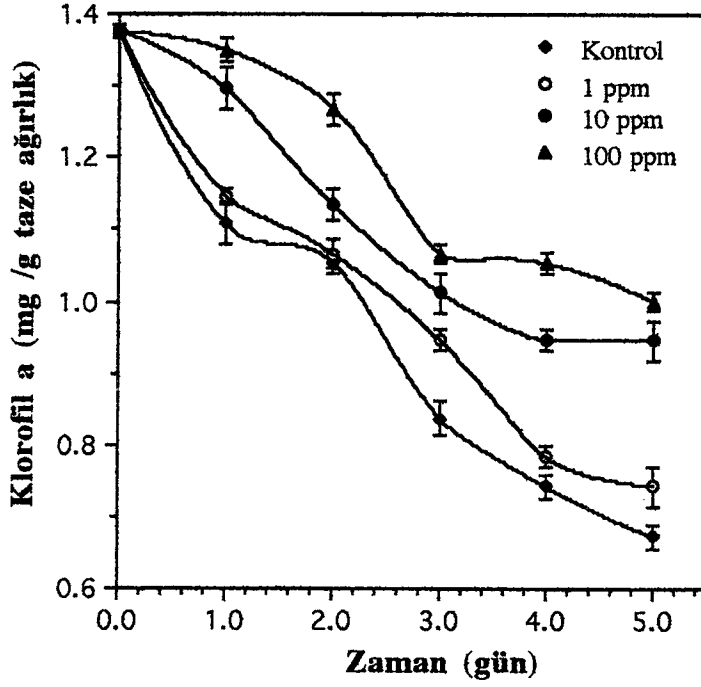
Kotiledonların senesensi süresince karotenoid miktarında da kademeli bir azalmanın olduğu görüldü. Farklı konsantrasyonlarda BA uygulanan kotiledonlardaki karotenoid miktarlarının kontrolden daha fazla olduğu belirlendi. Her iki bitkide de karotenoidlerin klorofillerden daha yavaş kaybolduğu tespit edildi. Kabak kotiledonlarının toplam klorofil miktarında deney sonunda g başına 1,282 mg'lık azalma tespit edilmesine karşın, karotenoidlerde 0,27 mg'lık bir azalma bulundu. Benzer olarak ayçiçeği kotiledonlarının toplam klorofil miktarında da 1,026 mg/g'lık azalma olmasına karşın karotenoid miktarında 0,243 mg/g'lık bir azalma belirlendi. Farklı BA konsantrasyonlarının kotiledonların senesensi süresince karotenoid miktarındaki azalmayı geciktirdiği ve en etkili BA konsantrasyonunun 100 ppm olduğu belirlendi. Kontrol grubundaki kabak kotiledonlarında tespit edilen %60,6'lık azalmanın 100 ppm BA uygulanan

kotiledonlarda %33,2 olduğu bulundu. Ayçiçeği kotiledonlarında ise bu değerler, kontrol grubunda %37,5, 100 ppm BA uygulananlarda ise %27,1 olarak belirlendi.

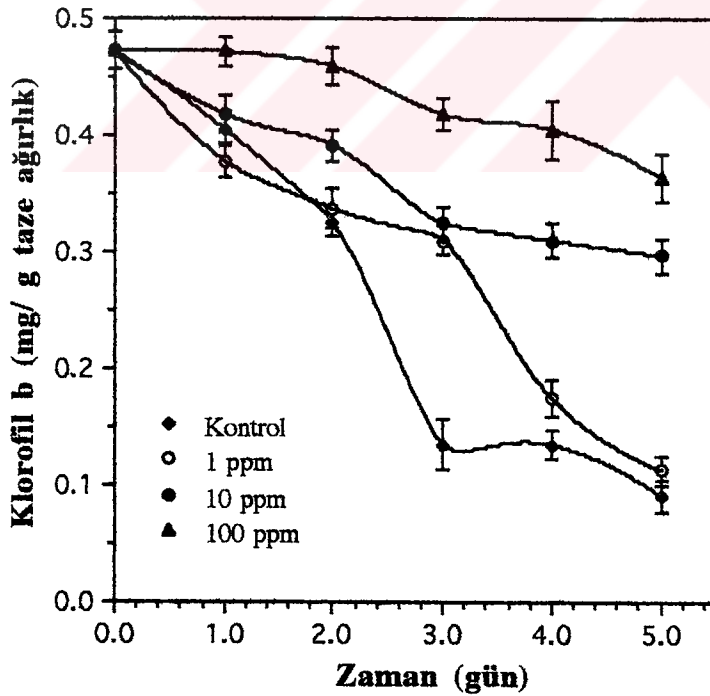
Ayrıca bu çalışmada kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince klorofil a (Şekil 8 ve 9) ve b (Şekil 10 ve 11) miktarlarında meydana gelen değişiklikler de tespit edildi.



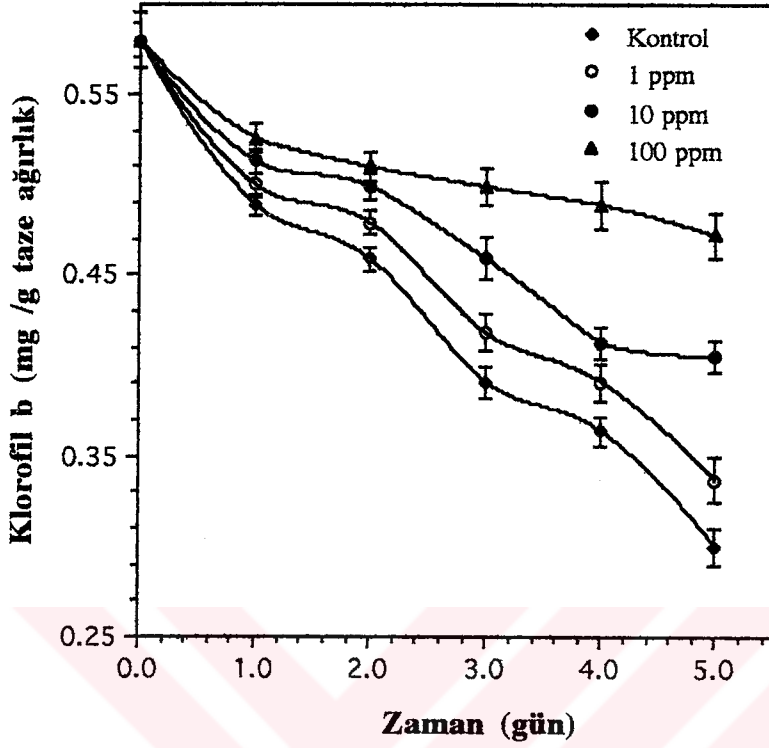
Şekil 8. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil a Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).



Şekil 9. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil a Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).



Şekil 10. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil b Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).



Şekil 11. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Klorofil b Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

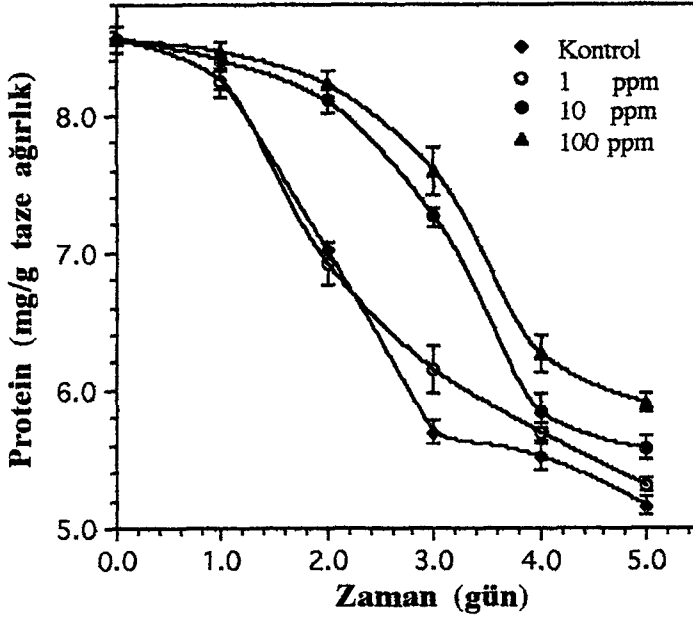
Deney süresince bu fotosentetik pigment miktarlarının da azaldığı görüldü. Aynı zamanda kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince klorofil a'nın klorofil b'den biraz daha hızlı parçalandığı tespit edildi. Deney sonunda kabak kotiledonlarının klorofil a miktarında g başına 0,901 mg'lık azalma tespit edilmesine karşın klorofil b miktarında 0,381 mg'lık bir azalma bulundu. Benzer olarak ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince klorofil a miktarında 0,705 mg/g, klorofil b miktarında ise 0,28 mg/g'lık bir azalma tespit edildi. Benziladeninin bütün konsantrasyonlarının ayçiçeği ve kabak kotiledonlarının klorofil a ve b miktarlarındaki azalmayı geciktirdiği ve en etkili konsantrasyonun 100 ppm olduğu belirlendi. Kabak kotiledonlarının senesensi süresince kontrol grubunun klorofil a miktarında %87,8'lik bir azalma görülmesine karşın 100 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %42,1'lik bir azalma bulundu.

Klorofil b miktarında ise kontrol grubunda %80,7'lik olan azalmanın 100 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %22,8 olduğu belirlendi. Ayçiçeği kotiledonlarının kontrol grubunda %51,19 olan klorofil a miktarındaki azalmanın 100 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %27,4 olduğu, klorofil b miktarında ise %48,2 olan azalmanın 100 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %18,6 olduğu tespit edildi.

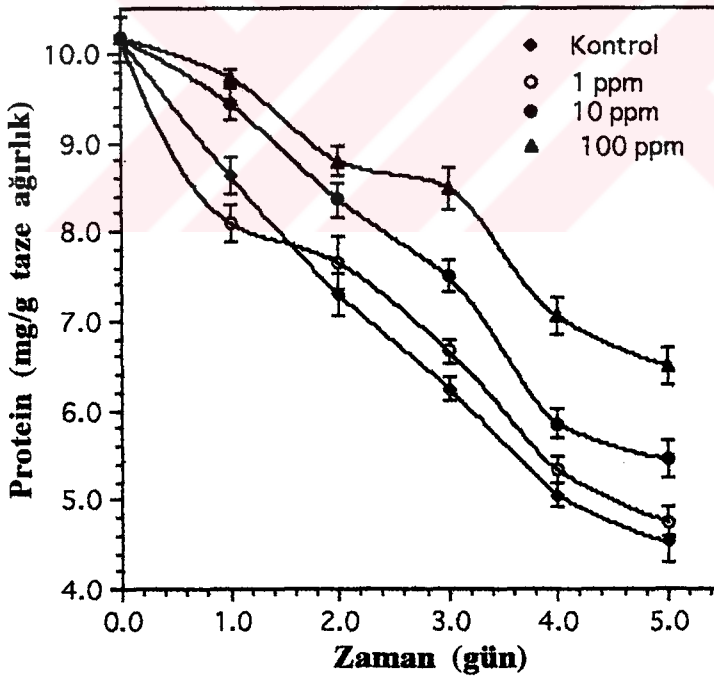
Bu sonuçlardan BA'nın klorofil b miktarındaki azalmayı klorofil a'dan daha etkili bir şekilde geciktirdiği görülmektedir. 100 ppm BA uygulanan kabak kotiledonlarındaki klorofil b miktarının %77,2'si aynen muhafaza edilmesine karşın klorofil a'nın %57,9'u kalmıştır. Ayçiçeği kotiledonlarında ise 100 ppm BA uygulanan disklerdeki klorofil b'nin %81,4'ü muhafaza edilmesine karşın klorofil a'nın %72,6'sının kaldığı belirlendi.

3.2. Benziladeninin Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince çözünebilir protein miktarındaki değişiklikler ve farklı BA konsantrasyonlarının bu değişiklikler üzerine olan etkilerinin benzer olduğu tespit edildi (Şekil 12 ve 13). Fotosentetik pigment miktarlarındaki değişime benzer olarak kotiledonların senesensi süresince çözünebilir protein miktarında da kademeli bir azalmanın meydana geldiği belirlendi. Kontrolle karşılaştırıldığında farklı konsantrasyonlarda BA uygulanan kotiledonlardaki çözünebilir protein miktarının daha yüksek olduğu görüldü. Beş günlük peryot sonunda kabak kotiledonlarının kontrol grubundaki başlangıç çözünebilir protein miktarının g başına 3,39 mg azaldığı, oysa farklı konsantrasyonlarda BA ile muamele edilen kotiledon disklerinde bu kaybın daha az olduğu belirlendi. Şöyleki, 1ppm BA uygulanan disklerde bu değer g başına 3,24 mg, 10 ppm BA uygulananlarda 2,97 mg ve 100 ppm BA uygulananlarda 2,64 mg olarak kaydedildi.



Şekil 12. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

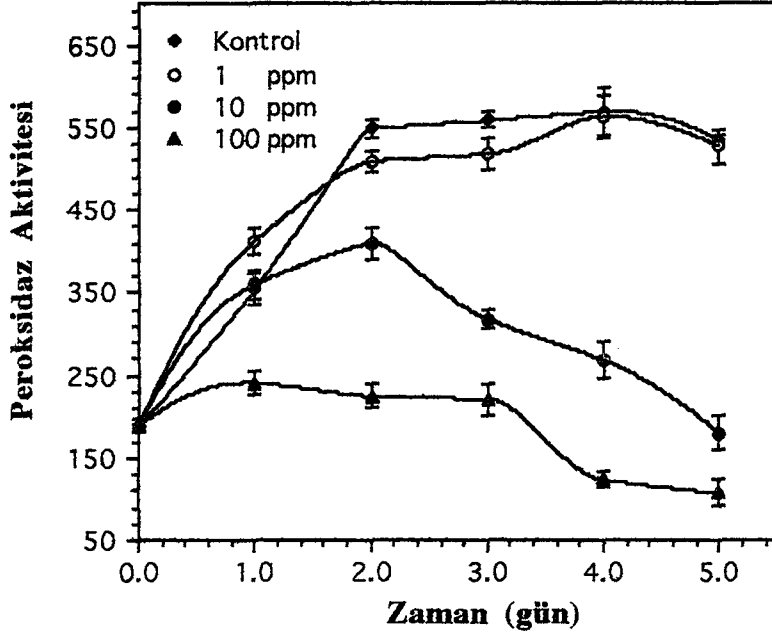


Şekil 13. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Çözünebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

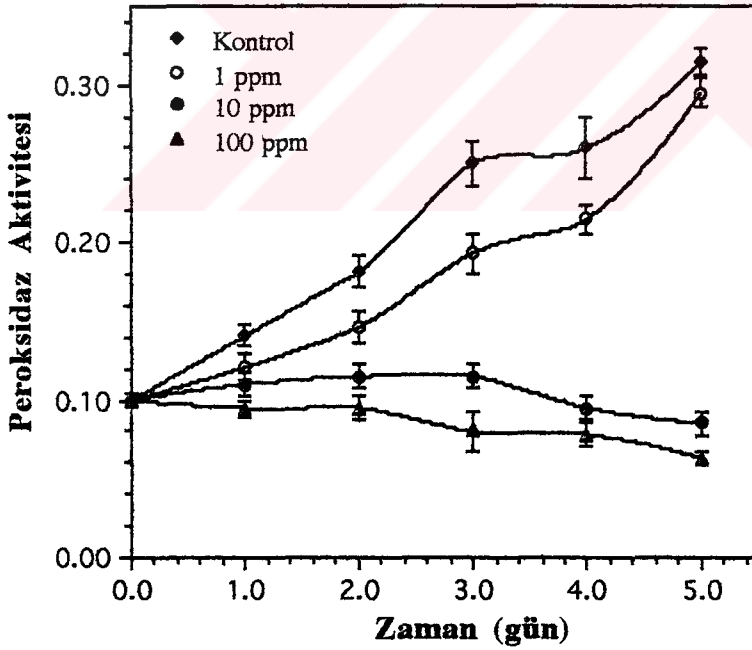
Ayçiçeği kotiledonlarında ise 10.16 mg/g olan başlangıç çözünebilir protein miktarının 5 günlük peryot sonunda kontrolde 5,64 mg/ g azaldığı tespit edildi. Bir ppm BA uygulanan ayçiçeği kotiledonlarında bu değer 5,44 mg/g, 10 ppm BA uygulananlarda 4,71 mg/g ve 100 ppm BA uygulananlarda 3,66 mg/g olarak kaydedildi. Her iki bitkide de kotiledonların senesensi süresince çözünebilir protein miktarındaki azalmanın geciktirilmesi üzerine en etkili BA konsantrasyonlarının 10 ve 100 ppm olduğu görülmektedir. Şöyleki kabak kotiledonlarının senesensi süresince kontrol grubunda başlangıç protein miktarının %60,3'ü kalmasına rağmen 10 ppm BA uygulananlarda %65,2'si, 100 ppm BA uygulananlarda ise %69,1'i kalmıştır. Benzer olarak ayçiçeği kotiledonlarının kontrol grubunda başlangıç çözünebilir protein miktarının %44'ünün, 10 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %53,64'ünün, 100 ppm BA uygulananlarda ise %63,9'unun kaldığı tespit edildi.

3.3. Benziladeninin Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince klorofil a, b, karotenoid ve çözünebilir protein miktarlarında kademeli bir azalma meydana gelmesine karşın peroksidaz aktivitesinin arttığı tespit edildi (Şekil 14, 15). Deney süresince kabak kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin ayçiçeği kotiledonlarından daha yüksek olduğu belirlendi. Kabak kotiledonlarında ilk gün 188,1 olan peroksidaz aktivitesinin ayçiçeği kotiledonlarında 0,1 olduğu bulundu. Bu fark daha sonraki günlerde yapılan ölçümlerde de bariz bir şekilde görüldü ve peroksidaz aktivitesi bakımından bu iki bitki arasında yaklaşık 1000 katlık bir fark olduğu tespit edildi. Buna karşın her iki bitkide de 5 günlük peryot sonunda yaklaşık 3 katlık bir artış elde edildi. Kabak kotiledonlarında bu artışa 2. gün sonunda ulaşılırken ayçiçeği kotiledonlarında 5. gün sonunda ulaşıldı.



Şekil 14. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

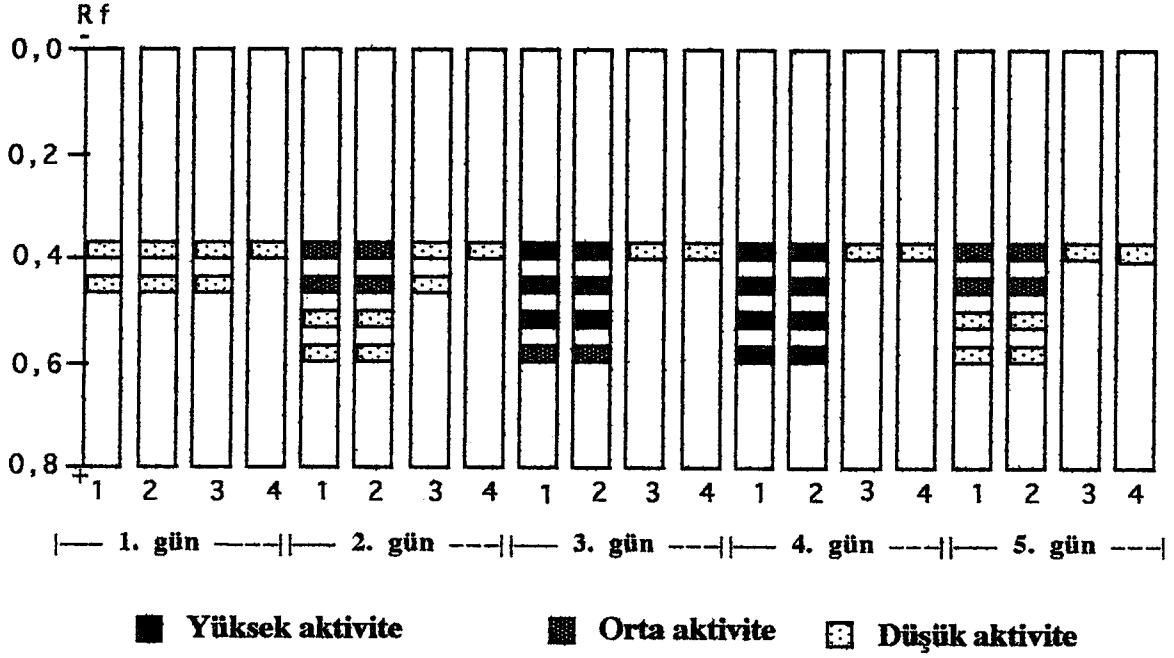


Şekil 15. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi (Barlar 3 Ölçümün Standart Sapmalarını Göstermektedir).

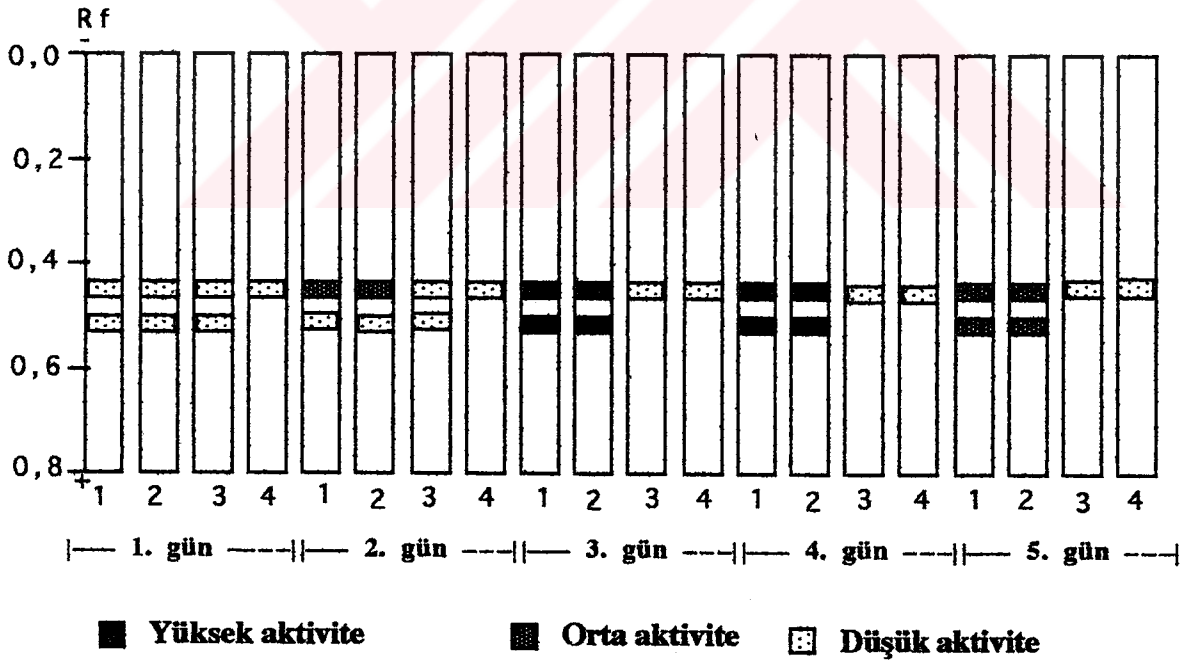
Farklı konsantrasyonlarda BA uygulanan kotiledon disklerinde peroksidaz aktivitesi bakımından önemli derecede farklılıkların olduğu görüldü. Deney süresince 1 ppm BA uygulanan kotiledon disklerindeki peroksidaz aktivitesi kontrolle hemen hemen aynı oranda artış göstermesine rağmen 10 ve 100 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinin gittikçe azaldığı belirlendi. Kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince kontrol ve 1 ppm BA uygulanan disklerin peroksidaz aktivitesinin sürekli arttığı, 10 ppm BA uygulanan kabak kotiledonlarında ikinci, 100 ppm BA uygulananlarda ise birinci günden sonra peroksidaz aktivitesinin azalmaya başladığı tespit edildi. Ayçiçeği kotiledonlarında ise 10 ppm BA uygulanan disklerde üçüncü, 100 ppm BA uygulanan disklerde ise ikinci günden sonra peroksidaz aktivitesinde azalma olduğu kaydedildi. Özellikle 100 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı tespit edildi.

3.4. Benziladeninin Peroksidaz İzoenzimleri Üzerine Etkisi

Peroksidaz izoenzim sayısı bakımından sözkonusu bu iki bitki arasında farklılık olduğu ve benziladeninin yüksek konsantrasyonlarda izoenzim sayısı üzerine etkili olduğu tespit edildi (Şekil 16, 17). Ayrıca kotiledonların senesensi süresince izoenzim sayısı ve aktifliğinin de değiştiği belirlendi. Kabak kotiledonlarının kontrol grubunda birinci günde 2 tane olan izoenzim bant sayısının daha sonraki günlerde 4 tane olduğu görüldü. Ayçiçeği kotiledonlarının kontrol grubunda ise deney süresince 2 tane izoenzim bandının olduğu belirlendi. Benziladeninin yalnızca 10 ve 100 ppm 'lik konsantrasyonlarının uygulandığı kotiledonlarda izoenzim sayısı bakımından kontrole göre farklılıkların olduğu tespit edildi. Kabak kotiledonlarında 10 ppm BA uygulanan disklerde birinci ve ikinci günlerde 2 tane olan izoenzim bant sayısının daha sonraki günlerde 1 tane olduğu, 100 ppm BA uygulanan kotiledonlarda ise deney süresince sadece bir izoenzim bandının olduğu tespit edildi. Ayçiçeği kotiledonlarında ise 10 ppm BA uygulanan kotiledonlarda birinci ve ikinci günlerde 2 tane, diğer günlerde ise 1 tane izoenzim bandının olduğu, 100 ppm BA uygulananlarda ise deney süresince yalnızca bir zayıf izoenzim bandının olduğu görüldü.



Şekil 16. Kabak Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz İzoenzimleri Üzerine Etkisi. 1: Kontrol; 2: 1 ppm; 3: 10 ppm; 4: 100 ppm.



Şekil 17. Ayçiçeği Kotiledonlarının Senesensi Süresince BA'nın Peroksidaz İzoenzimleri Üzerine Etkisi. 1: Kontrol; 2: 1 ppm; 3: 10 ppm; 4: 100 ppm.

4. TARTIŞMA

Senesensin en açık belirtisi toplam klorofil miktarındaki azalma (37) olduğu için, bu çalışmada kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi toplam klorofil miktarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Ayrıca klorofil a, b, karotenoid ve çözünebilir protein miktarlarında meydana gelen değişimler de kaydedilmiştir. Bu parametrelerin senesensi takip etmek için önemli olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (10, 37, 86). Kao ve Yang (87) koparılmış pirinç yaprak segmentlerinin, Satler ve Thimann (88) ise yulaf yapraklarının senesensini klorofil miktarındaki azalmanın ölçülmesiyle takip etmişlerdir. Yine pirinç yapraklarıyla yapılan başka bir çalışmada Chen ve Kao (89), pirinç yapraklarının senesensini klorofil ve protein miktarlarındaki azalmanın ölçülmesiyle belirlemişlerdir.

Çalışmamızda ayçiçeği ve kabak kotiledonlarının senesensi süresince fotosentetik pigment miktarlarının kademeli bir şekilde azaldığı, klorofillerin karotenoidlerden daha hızlı parçalandığı tespit edilmiştir. Kabak kotiledonlarının senesensi süresince toplam klorofil miktarında %85,5'lik bir azalma kaydedilmesine rağmen karotenoid miktarında %60,6'lık; ayçiçeği kotiledonlarında ise toplam klorofil miktarında %52'lik karotenoid miktarında ise %37,5'lik azalma olduğu tayin edilmiştir. Bu sonuçlar daha önce senesens konusunda yapılmış olan çeşitli araştırma verileriyle uyumluluk göstermektedir (10, 90, 91). Yine araştırmamız sırasında fotosentetik pigmentlerden klorofil a'nın klorofil b'den daha hızlı parçalandığı anlaşılmıştır. Deney sonunda kabak kotiledonlarının klorofil a miktarında %87,8'lik, klorofil b miktarında ise % 80,7'lik bir azalma bulunmuştur. Benzer olarak ayçiçeği kotiledonlarında da klorofil a miktarında %51,1'lik bir azalma meydana gelmesine karşın klorofil b miktarında %48,2'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir. Nitekim *Avena sativum* ve *Hordeum vulgare* (7) ile yapılan çalışmada da söz konusu bu bitkilerin yapraklarının senesensi süresince klorofillerin karotenoidlerden, klorofil a'nın ise klorofil b'den daha hızlı parçalandığı kaydedilmiştir. Kabak kotiledonlarının senesensiyle ilgili Lolit ve Nakul (92)'un yaptıkları başka bir çalışmada da kotiledonların senesensi süresince pigment miktarlarının hızlı bir şekilde azaldığı, karotenoidlerin azalma oranının klorofille mukayese edildiğinde nispeten daha yavaş olduğu tespit edilmiştir.

Bu bulgunun çoğu yüksek bitkilerin fotosentetik dokularının senesensi boyunca görülen karakteristik bir durum olduğu ve senesensin ilerleyen safhalarında dokuların sararmasıyla sonuçlandığı belirlenmiştir(7).

Öte yandan, farklı konsantrasyonlarda BA uyguladığımız kotiledonlardaki fotosentetik pigment miktarlarının kontrolden daha yüksek olduğu görülmüştür. Her iki bitkide de fotosentetik pigment miktarlarındaki azalmanın geciktirilmesi üzerine en etkili BA konsantrasyonlarının 10 ve 100 ppm olduğu belirlenmiştir. Şöyleki, kabak kotiledonlarının senesensi süresince kontrol grubundaki başlangıç toplam klorofil miktarının %14,4'ü kalmasına rağmen 10 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %47,7'si 100 ppm BA uygulananlarda ise %64,8'i kalmıştır. Benzer olarak ayçiçeği kotiledonlarının kontrol grubunda başlangıç toplam klorofil miktarının %47,9'unun, 10 ppm BA uygulananlarda %69,8'inin, 100 ppm BA uygulananlarda ise %73,9'unun kaldığı tespit edilmiştir. Her iki bitki kotiledonlarının karotenoid miktarlarında da klorofil miktarındaki değişime benzer sonuçlar elde edilmiştir. Nitekim, BA 'nın karanlıkta koparılmış pirinç yapraklarındaki klorofil parçalanmasını geciktirdiği kaydedilmiştir (93). Trevor ve arkadaşları (20) da soya fasülyesi kotiledon disklerinin senesensi üzerinde yaptıkları bir çalışmada, BA uygulanan disklerdeki klorofil ve karotenoid miktarlarının kontrolden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Başka çalışmalarda da dışardan uygulanan sitokinlerin senesens boyunca yaprak ve kotiledon pigmentlerinin kaybını geciktirdiği kaydedilmiştir (11, 88, 89, 94).

Ayrıca, çalışmamızda kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi süresince çözünebilir protein miktarlarında da sürekli bir azalmanın olduğu tayin edilmiştir. Deney sonunda farklı konsantrasyonlarda BA uygulanan kotiledonlardaki çözünebilir protein miktarlarının kontrolden daha fazla olduğu ve çözünebilir protein miktarındaki azalmanın geciktirilmesi üzerine en etkili BA konsantrasyonunun 100 ppm olduğu belirlenmiştir. Şöyleki, kabak kotiledonlarının senesensi süresince kontrol grubundaki çözünebilir protein miktarında %39,6'lık bir azalma olmasına karşın, 100 ppm BA uygulanan kotiledonlarda %30,8'lik bir azalma kaydedilmiştir. Ayçiçeği kotiledonlarında ise kontrol grubundaki disklerde %55,5 olan çözünebilir protein miktarındaki azalmanın 100 ppm BA uygulanan disklerde %36 olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu Chen ve Kao (86)'nın pirinç yapraklarında yaptıkları çalışma ile desteklenmektedir. Bu araştırmacılar BA'nın pirinç

yaprak segmentlerinin senesensi sırasında protein miktarındaki azalmayı önemli miktarda geciktirdiğini rapor etmişlerdir. Trevor ve arkadaşları (20) da BA uygulanan soya fasüyesi kotiledon disklerindeki protein miktarının kontrolden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Başka bilim adamları da yaptıkları çalışmalarda sitokin grubu hormonların protein parçalanmasını azaltıcı etki ettiğini kaydetmişlerdir (95,96).

Araştırmamızdaki sonuçlar, kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi boyunca çözünebilir protein ve fotosentetik pigment miktarlarındaki azalmanın ve bu azalma üzerine farklı konsantrasyonlardaki BA'nın etkisinin benzer olduğunu göstermektedir. Trevor ve arkadaşları da (20) soya fasüyesinin kotiledon disklerinde yaptıkları çalışmada, disklerin senesensi boyunca protein miktarındaki kaybın klorofil miktarındaki kayba paralel olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer gözlemler daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (97).

Daha öncede ifade edildiği gibi senesens sırasında fotosentetik pigmentler ve çözünebilir protein miktarının azalması doku veya organların senesense uğradığının belirtisidir. BA uygulanan kotiledonlarda bu parametrelerin miktarlarının kontrolden daha fazla olması BA'nın senesensi geciktirici etki ettiğinin göstergesidir. Nitekim, Chen ve Kao (86) yaptıkları bir çalışmada pirinç yaprak disklerinin senesensini BA'nın önemli ölçüde geciktirdiğini tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise Huang ve Kao (98) 0,01 mM BA'nın ışıkta pirinç yapraklarının senesensini geciktirdiğini belirlemişlerdir. Aynı zamanda, BA uygulanan fasülye kotiledonlarındaki klorofil, RNA ve protein miktarlarındaki azalmanın önlendiği ve BA'nın kotiledonların senesensini geciktirdiği de tespit edilmiştir (91).

Senesens sırasında toplam klorofil, karotenoid ve çözünebilir protein miktarlarındaki azalmanın aksine bazı enzimlerin aktivitelerinde genel bir artışın olduğu kaydedilmiştir (10, 11). Çeşitli bitki dokularının senesensi sırasında peroksidaz aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (13, 14, 15, 16). Mukherjee ve Rao (16), *Cajanus cajan* yapraklarının olgunlaşması boyunca peroksidaz aktivitesinin sürekli arttığını ve senesens sırasında bu artışın daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Senesens aşamasındaki bu bitkiye ait olgunlaşmış yaprakların genç olan yapraklardan yaklaşık 23 kat daha fazla peroksidaz aktivitesine sahip olduğunu kaydetmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise, Bortoli ve arkadaşları (99) *Chrysanthemum morifolium*'un petallerinin senesensi sırasında peroksidaz aktivitesinde 5 katlık bir artış olduğunu tespit

etmişlerdir. Çalışmamızda da kabak ve ayçiçeği kotiledonlarının senesensi sırasında peroksidaz aktivitesinin önemli ölçüde arttığı kaydedilmiştir. Bu bulgular senesens olayıyla peroksidaz aktivitesi arasında bir ilişkinin varolabileceği fikrini desteklemektedir. Aynı zamanda kabak kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin ayçiçeği kotiledonlarından daha yüksek olduğu ve peroksidaz aktivitesi bakımından bu iki bitki arasında yaklaşık 1000 katlık bir farkın olduğu tayin edilmiştir. Buna karşın her iki bitkide de deney sonunda peroksidaz aktivitesinde yaklaşık 3 katlık bir artışın olduğu ve peroksidaz aktivitesi bakımından bu iki bitki arasındaki farkın deney süresince aynen korunduğu belirlendi. Nitekim, elektroforez sonuçları spektrofotometrik ölçüm sonuçlarımızı desteklemektedir. Ayçiçeği kotiledonlarında deney süresince 2 tane izoenzim bandı belirlenmesine karşın kabak kotiledonlarında 4 tane izoenzim bandının olduğu tespit edilmiştir. Peroksidaz aktivitesi bakımından bu iki bitki arasında belirlenen farkın izoenzim sayısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Aynı zamanda bu çalışmamızda kontrolle karşılaştırıldığında 10 ve 100 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinin gittikçe azaldığı bulunmuştur. Deney sonunda 10 ppm BA uygulanan kabak kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin %4,8, 100 ppm BA uygulananlarda ise %43,5 oranında azaldığı, ayçiçeği kotiledonlarında ise 10 ppm BA uygulanan disklerde %15, 100 ppm BA uygulananlarda ise %37'lik bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Venkatarayappa ve arkadaşlarının (58) fasülye yaprakları üzerinde yaptıkları çalışma sonuçlarımızla uyumluluk göstermektedir. Bu çalışmada 50 ppm BA uygulanan disklerdeki peroksidaz aktivitesinin kontrole oranla azaldığı kaydedilmiştir. Yapılan literatür çalışmasında senesens süresince peroksidaz aktivitesi üzerine BA'nın etkisi ile ilgili pek fazla çalışmaya raslanılmamakla beraber, BA'nın pirinç yapraklarının senesensi esnasında arginin dekarboksilaz (86) ve soya fasülyesi kotiledonlarının senesensi sırasında lipoksigenaz aktivitesini (28) azalttığı kaydedilmiştir.

Sitokininlerin yapısal olarak adeninden kaynaklanması ve bir sitokin grubu hormon olan izopentiladeninin bazı taşıyıcı RNA'ların yapısında yer alması sitokininlerin etki mekanizmasının nükleik asit metabolizmasıyla ilişkili olabileceğini göstermiştir (100). Bu nedenle çalışmamızda BA'nın bazı peroksidaz izoenzimlerinin sentezini engelleyerek peroksidaz aktivitesini azalttığı düşünülebilir. Nitekim, elektroforez sonucu 10 ve 100

ppm BA uygulanan numunelerdeki izoenzim bant sayısının kontrole göre az olması bu fikrimizi desteklemektedir. Diğer taraftan sitokinlerin proteaz, RNaz ve klorofillaz gibi katabolik enzimleri kodlayan özel mRNA'ların sentezini engelleyerek senesensi geciktirdikleri ortaya konulmuştur (101). Çalışmamızda BA uygulanan kotiledonlarda peroksidaz aktivitesinin ve izoenzim sayısının kontrole göre daha az olması, söz konusu hormonun peroksidaz izoenzim sentezini engelleyerek enzimin aktivitesini azalttığını ve bunun sonucu olarak senesensi geciktirdiğini göstermektedir.



5. SONUÇLAR

1) Yapmış olduğumuz bu çalışma ve literatür taramaları sonucunda senesense uğrayan doku veya organların senesenslerinin, fotosentetik pigment ve çözünebilir protein miktarlarındaki azalmaların ölçülmesiyle takip edilebileceği ve bu parametrelerin senesens kriteri olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

2) Farklı konsantrasyonlarda BA uygulanan kotiledonlardaki fotosentetik pigment ve çözünebilir protein miktarlarının kontrolden daha fazla olduğu ve bu parametrelerdeki azalmanın geciktirilmesi üzerine en etkili BA konsantrasyonlarının 10 ve 100 ppm olduğu belirlendi. Senesens kriteri olarak ifade ettiğimiz bu parametrelerin miktarlarındaki azalmanın BA'nın etkisiyle geciktirilmesi, sözkonusu bu hormonun senesensi geciktirici etki ettiğini göstermektedir.

3) Aynı zamanda, bu çalışmada kotiledonların senesensi süresince fotosentetik pigment ve çözünebilir protein miktarlarındaki azalmanın aksine peroksidaz enzim aktivitesinin önemli ölçüde arttığı tespit edildi. Bir ppm BA uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinde kontrole yakın oranda bir artış olmasına karşın 10 ve 100 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinin azaldığı kaydedildi. Senesensin geciktirilmesi üzerine en etkili BA konsantrasyonları olarak belirlenen 10 ve 100 ppm'lik hormon uygulanan kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesinin kontrole göre azalması, BA'nın senesensi geciktirici etki mekanizmasının peroksidaz enzimiyle alakalı olabileceğini göstermektedir. Nitekim 10 ve 100 ppm BA uygulanan kotiledonlardaki izoenzim sayısının kontrole göre az olması sözkonusu bu hormonun peroksidaz izoenzim sentezini engelleyerek enzimin aktivitesini azalttığını ve bunun sonucu olarak senesensi geciktirdiğini düşündürmektedir. Bununla beraber sitokinin grubu diğer hormonlarla yapılan başka çalışmalarda çeşitli bitkilerde farklı sonuçlar elde edildiği için peroksidaz aktivitesinin senesens göstergesi olarak kullanılabileceğini ifade etmemiz sakıncalı olmaktadır.

4) Kısaca bu çalışmada BA'nın antisenesens etki mekanizmasının peroksidaz aktivitesi ile de ilgili olabileceği ve azalan peroksidaz aktivitesinin BA'nın antisenesens rolüne katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

6. ÖNERİLER

Son zamanlarda bitkilerden daha kaliteli ve daha fazla ürün elde edebilmek için bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmakta fakat bu maddelerin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada sitokin grubu bir hormon olan BA'nın bitkilerdeki önemli bir fizyolojik olay olan senesensle ilişkisi araştırılmış ve bu çerçevede sözkonusu bu hormonun etki mekanizmasının bir bölümü tespit edilmiştir.

Ayrıca bu çalışma, bitkilerdeki büyüme ve gelişmeyi düzenleyen hormonlar ile metabolik olayları kontrol eden enzimler arasında bir ilişkinin var olup olmadığının tespit edilmesi bakımından bilimsel açıdan önem arz etmektedir. Nitekim yapılan çalışmada BA'nın senesensi geciktirici etki mekanizmasının peroksidaz enzimiyle alakalı olduğu tespit edilmiş ve hormonların etki mekanizmalarının büyük ölçüde enzimlerle alakalı olabileceği sonucuna varılmıştır. Bitki büyüme ve gelişmesindeki fizyolojik olaylarda, peroksidaz enziminin rolünü tayin etmek için, ileride yapılacak olan araştırmalarda BA'nın kullanılabilirdiğini önermek mümkündür. BA uygulanan bitkilerdeki peroksidaz aktivitesindeki artış engellenebileceği için bitki metabolizmasında peroksidazın rolü tayin edilebilecektir.

Aynı zamanda, BA uygulanan bitkilerin senesensi geciktirilerek vejetatif safhaları uzatılabileceği için, bitkilerin besin ekonomisinde önemli rol oynayan olayların (fotosentez gibi) devamı sağlanabilecek ve bunun sonucunda bitkilerden alınacak olan ürünlerin besin miktarları artırılabilir. Kısaca, bitkilerden daha kaliteli ürünler elde edebilmek için söz konusu bu hormonun ziraatte kullanılabilirliği düşünülebilir.

Öte yandan, diğer bitki büyüme düzenleyicilerinin senesens olayıyla ve enzimlerle olan ilişkisini tayin edebilmek için bu çalışmanın temel oluşturacağı kanısındayım.

7. KAYNAKLAR

1. Ford, D.M. ve Shiples, R., Photosynthesis and other Traits in Relation to Chloroplast Number during Soybean Leaf Senescence, Plant Physiol., 86 (1988) 108-111.
2. Amir- Shapira, D., Goldschmidt E.E. ve Altman A., Chlorophyll Catabolism in Senescing Tissues: *In vitro* Breakdown Intermediates Suggest Different Degradative Pathways for Citrus Fruit and Parsley Leaves, Proc. Natl. Acad. Sci., 84 (1987) 1901-1905.
3. Kasemir, H., Rosemann, D. ve Oelmüller, R., Changes in Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase Small Subunit during Senescence of Mustard (*Sinapis alba*) Cotyledons, Physiol. Plant., 73 (1988) 257-264.
4. Martin, M. ve Sabater, B., Translational Control of Chloroplast Protein Synthesis during Senescence of Barley Leaves, Physiol. Plant., 75 (1989) 374-381.
5. Watanabe, A. ve Imaseki, H., Changes in Translatable Messenger RNA in Senescing Wheat (*Triticum aestivum*) Leaves, Plant Cell Physiol., 23 (1982) 207-210.
6. Woolhouse, H.W. ve Jenkins, G.I., The Growth and Functioning of Leaves, Dale, J. ve Milthorpe, F.L., C.U.P., Cambridge, 1983.
7. Young, A.J., Wellings, R. ve Britton, G., The Fate of Chloroplast Pigments during Senescence of Primary Leaves of *Hordeum vulgare* and *Avena sativum* , J. Plant Physiol., 137 (1991) 701-705.
8. Jenkins, G.I., Backer, N.R. ve Woolhouse, H.W., Changes in Chlorophyll Content and Organisation during Senescence of the Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris* L. in Relation to Photosynthetic Electron Transport, J. Exp. Bot., 32 (1981) 1009-1020.
9. Gut, H., Rutz, C., Matile, R. ve Thomas, H., Leaf Senescence in A Non-yellowing Mutant of *Festuca pratensis* :Degradation of Carotenoids, Physiol. Plant., 70 (1987) 659- 663.
10. Thimann, K.V., Senescence in Plants, Thimann, K.V., CRC Press, Florida, 1980.

11. Stoddart, J.L. ve Thomas, H., Encyclopedia of Plant Physiology, Boulter, D. ve Thier, P.P., New series, Springer-Verlag, Berlin, 1982.

12. Arda, N. ve Kuru, A., Soya Fasülyesinde Yaşlanma ile İlişkili Olarak Peroksidaz Aktivitesi Üzerine İncelemeler, XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Temmuz 1994, Edirne, Bildiriler Kitabı, Cilt 1,1-6.

13. Farkas, G.L., Dezsi, L., Horvath, M., Kisban, K. ve Udvardy, J., Common Pattern of Enzymatic Changes in Detached Leaves and Tissues Attacked by Parasites, Phytopathol. Zeit., 49 (1964) 343- 354.

14. Kisban, M. ve Mishra, D., Inorganic Pyrophosphatase Activity during Rice Leaf Senescence, Can. J. Bot., 53 (1975) 503- 510.

15. Parish, R.W., Studies on Senescing Tobacco Leaf Disks with Special Reference to Peroxidase, I. The Effects of Cutting and of Inhibition of Nucleic Acid on Protein Synthesis, Planta, 82 (1968) 1-13.

16. Mukherjee, D. ve Rao, K.V.M., Alteration Patterns of Hill Activity, Peroxidase Activity and Sugars of Pigeon Pea during Maturation and Senescence, Indian J. Plant Physiol., 36 (1993) 13-16.

17. Ford, T.W. ve Simon, E.W., Peroxidase and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Levels in Cotyledons of *Cucumis sativus* L., J. Exp. Bot., 23 (1972) 423- 431.

18. Maraitte, H., Changes in Polyphenol Oxidases and Peroxidases in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) Infected by *Fusarium oxysporum f.sp. melonis*, Physiol. Plant. Pathol., 3 (1973) 29- 49.

19. Srivastava, S.K., Vashi, D.J. ve Naik, B.L., Control of Senescence by Polyamines and Guanidines in Young and Mature Barley Leaves, Phytochem., 22 (1983) 2151-2154.

20. Kraus, T.E., Hofstra, G. ve Fletcher, R.A., Regulation of Senescence by Benzylaminopürine and Uniconazole in Intact and Excised Soybean Cotyledons, Plant Physiol. Biochem., 31 (1993) 827-834.

21. Gilbert, M.L., Thompson, J.E. ve Dumbroff, E.B., Delayed Cotyledon Senescence Following Treatment with A Cytokinin; An Effected the Level of Membranes, Can. J. Bot., 58 (1980) 1797- 1803.

22. Nooden, L.D. ve Leopold, A.C., Phytohormones and Related Compounds, Letham, D.S., Goodwin, T.W. ve Higgins, T.J., Biomedical Press, Amsterdam, 1978.

23. Richmond, A.E. ve Lang, A., Effect of Kinetin on Protein Content and Survival of Detached *Xanthium* leaves, Science, 125 (1957) 650-651.

24. Kulaeva, O.N., The Effect of Roots on Leaf Metabolism in Relation to the Action of Kinetin on Leaves, Fiziol. Rast., 9 (1962) 182-189.

25. Moore, A.E. ve Stone, B.A., Plant Growth Substances, Carr, D.J., Springer-Verlag, Berlin, 1970.

26. Muller, K. ve Leopold, A.C., Correlative Aging and Transport of ^{32}P in Corn Leaves Under the Influence of Kinetin, Planta, 68 (1966) 167-185.

27. Naito, K., Tsuji, H. ve Hatakeyama, I., Effect of Benzyladenine on DNA, RNA, Protein and Chlorophyll Contents in Intact Bean Leaves: Differential Responses to Benzyladenine According to Leaf Age, Physiol. Plant., 43 (1978) 367- 371.

28. Grossman, S. ve Leshem, Y.Y., Lowering of Endogenous Lipoxygenase Activity in *Pisum sativum* Foliage by Cytokinin as Related to Senescence, Physiol. Plant., 43 (1978) 359-362.

29. Bozcuk, S., Genel Botanik, İnönü Üniversitesi Basımevi, Malatya, 1988.

30. Wilkings, M.B., Advanced Plant Physiology, ELBS with Longman, England, 1992.

31. Woolhouse, H.W., Senescence Processes In The Life Cycle of Flowering Plants, Bioscience, 28 (1978) 25-31.

32. Wang, T.L. ve Woolhouse, H.W., Growth Regulators in Plant Senescence, Jackson, M.B., Grout, B. ve Mackenzie, I.A., British Plant Growth Reg. Group, Wantage, 1982.

33. Arditti, J., Aspects of the Physiology of Orchids, Adv. Bot. Res., 7 (1979) 421- 655.

34. Woolhouse, H.W., The Nature of Senescence in Plants, Symp. Soc. Exp. Biol., 21 (1967) 179- 213.

35. Woolhouse, H.W., Longevity and Senescence in Plants. Sci. Prog., 61 (1974) 223- 247.

36. Hardwick, K. ve Woolhouse, H.W., Foliar Senescence in *Perilla frutescens* L., Britt. New Phytol., 66 (1967) 545- 552.

37. Thomas, H., Regulation of Alanine Aminotransferase in Leaves of *Lolium temulentum* during Senescence, Z. Pflanzenphysiol., 74 (1975) 208- 218.

38. Thomas, H. ve Stoddart, J.L., Biochemistry of Leaf Senescence in Grasses, Ann. Appl. Biol., 85 (1977) 461- 463.

39. Wollgiehn, R., Nucleic Acid and Protein Metabolism of Excised Leaves, Symp. Soc. Exp. Biol., 21 (1967) 231- 246.

40. Davies, D.D., The Measurement of Protein Turnover in Plants, Adv. Bot. Res., 8 (1980) 66- 126.

41. Woolhouse, H.W., Molecular Biology of Plant Development, Smith, H. ve Grierson, D., Blackwells, Oxford, 1982.

42. Peterson, L.W. ve Huffaker, R.C., Loss of Ribulose 1,5-Diphosphate Carboxylase and Increase in Proteolytic Activity during Senescence of Detached Primary Barley Leaves, Plant Physiol., 55 (1975) 1009- 1015.

43. Simpson, E., Cooke, R.J. and Davies, D.D., Measurement of Protein in Leaves of *Zea mays* Using [³H] Acetic Anhydride and Tritiated Water, Plant Physiol., 67 (1981) 1214- 1219.

44. Barrett, D.H.P. ve Woolhouse, H.W., Protein Turnover in the Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris*, J. Exp. Bot., 32 (1981) 443- 452.

45. Butler, R.D. ve Simon, E.W., Ultrastructural Aspects of Senescence in Plants, Adv. Gerontol. Res., 3 (1972) 73- 129.

46. Spiers, J. ve Brady, C.J., A Coordinated Decline in the Synthesis of Subunits of Ribulose Bisphosphate Carboxylase in Aging Wheat Leaves,

II. Abundance of Messenger RNA, Aust. J. Plant Physiol., 8 (1981) 608-618.

47. Ochoa, S. ve de Haro, C., Regulation of Protein Synthesis in Eukaryotes, Ann. Rev. Biochem., 48 (1979) 549- 580.

48. Callow, J.A., Callow, M.E. ve Woolhouse, H.W., *In vitro* Protein Synthesis, Ribosomal RNA Synthesis and Polyribosomes in Senescing Leaves of *Perilla*, Cell Differentiation, 1 (1972) 79- 90.

49. Callow, M.E. ve Woolhouse, H.W., Changes in Nucleic Acid Metabolism in Regreening Leaves of *Perilla*, J. Exp. Bot., 24 (1973) 285-294.

50. Ness, P.J. ve Woolhouse, H.W., RNA Synthesis in *Phaseolus* Chloroplasts, II. Ribonucleic Acid Synthesis in Chloroplasts from Developing and Senescing Leaves, J. Exp. Bot., 31 (1980) 235- 245.

51. Yoshida, Y., Nuclear Control of Chloroplast Activity in *Elodea* Leaf Cells, Protoplasma, 54 (1961) 476-492.

52. Hardwick, K., Wood, M.E. ve Woolhouse, H.W., Photosynthesis and Respiration in Relation to Leaf Age in *Perilla frutescens* L., Britt. New Phytol., 67 (1968) 79- 86.

53. Yemm, E.W., Respiration of Barley Plants, IV. Protein Catabolism and the Formation of Amides in Starving Leaves, Proc. Roy. Soc. Lond., 136 (1950) 632- 649.

54. Farkas, G.L. ve Stahmann, M.A., On the Nature of Changes in Peroxidase Isoenzymes in Bean Leaves Infected by Bean Mosaic Virus, Phytopathology, 56 (1966) 669- 677.

55. Osborne, D.J., Hormonal Regulation of Leaf Senescence, Symp. Soc. Exp. Biol., 21 (1967) 305- 322.

56. Takegami, T. ve Yoshida, K., Remarkable Retardation of the Senescence of Tobacco Leaf Discs by Cordycepin, An Inhibitor RNA Polyadenylation, Plant Cell Physiol., 16 (1975) 1163- 1166.

57. Thomas, H., Delayed Senescence in Leaves Treated with the Protein Synthesis Inhibitor MDMP, Plant Sci. Lett., 6 (1976) 369- 377.

58. Venkatarayappa, T., Fletcher, R.A. ve Thompson, J.E., Retardation and Reversal of Senescence in Bean Leaves by Benzyladenine and Decapitation, Plant Cell Physiol., 25 (1984) 407- 418.

59. Van Loon, L.C., Haverkort, A.J. ve Lockhurst, G.J., Changes in Protease Activity during Leaf Growth and Senescence, F.E.S.P.P. Abstr., 280 (1978) 544- 545.

60. Simon, E.W., Types of Leaf Senescence, Symp. Soc. Exp. Biol., 21 (1967) 215- 230.

61. Chibnall, A.C., Protein Metabolism in the Plant, Yale Univ., New Haven, 1939.

62. Whyte, P. ve Luckwill, L.C., Sensitive Bioassays for Gibberellins Based upon Retardation of Leaf Senescence in *Rumex obtusifolius* , Nature, 210 (1966) 1360.

63. Beevers, L., Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances, Wightman, F. ve Setterfield, G., Runge, Ottawa, 1968.

64. Paranjothy, K. ve Wareing, P.F., The Effect of Abscisic Acid, Kinetin and 5- Fluorouracil on Ribonucleic Acid and Protein Synthesis in Senescing Radish Leaf Discs, Planta, 99 (1971) 112- 119.

65. Colquhoun, A.J. ve Hillman, J.R., Endogenous Abscisic Acid and the Senescence of Leaves of *Phaseolus vulgaris*, Z. Pflanzenphysiol., 76 (1975) 326- 332.

66. Gepstein, S. ve Thimann, K.V., Changes in the Abscisic Acid Content of Oat Leaves During Senescence, Proc. Nat. Acad. Sci., 77 (1980) 2050- 2053.

67. Tepfer, D.A. ve Fosket, D.E., Hormone-mediated Translational Control of Protein Synthesis in *Elodea* Leaf Cells, Develop. Biol., 62 (1978) 486- 497.

68. Adams, D.O. ve Yang, S.F., Ethylene Biosynthesis: Identification of 1- Aminocyclopropane-1- Carboxylic Acid as An Intermediate in the Conversion of Methionine to Ethylene, Proc. Natn. Acad. Sci., 76 (1979) 160- 174.

69. Aharoni, N., Lieberman, M. ve Sisler, H.D., Patterns of Ethylene Production in Senescing Leaves, Plant Physiol., 64 (1979) 796- 800.
70. Abeles, F.B., Ethylene in Plant Biology, Academic Press, New York, 1973.
71. Aharoni, N. ve Lieberman, M., Ethylene as a Regulator of Senescence in Tobacco Leaf Discs, Plant Physiol., 64 (1979) 801- 804.
72. Beyer, E.M., A Potent Inhibitor of Ethylene Action in Plants, Plant Physiol., 58 (1976) 268- 271.
73. Molisch, H., The Longevity of Plants, Science Press, Lancaster Pa, 1938.
74. Murneek, A.C., Effect of Correlation between Vegetative and Reproductive Functions in the Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.), Plant Physiol., 1 (1926) 3- 56.
75. Nooden, L.D., Rupp, D.C. ve Derman, B.D., Separation of Seed Development from Monocarpic Senescence in Soybeans, Nature, 271 (1978) 354- 356.
76. Murray, B.J. ve Nooden, L.D., Testing the Role of Nutrient Drain in Monocarpic Senescence, Plant Physiol., 67 (1981) 375.
77. Nooden, L.D. ve Obermeyer, W.R., Changes in Abscisic Acid Translocation during Pod Development and Senescence in Soybeans, Biochem. Physiol. Pflanzen., 176 (1981) 859- 868.
78. Everse, J., Everse, K.E. ve Grisham, M.B., Peroxidases in Chemistry and Biology, Raton, B. ve Arbor, A., Vol. II, CRC Press, Boston, 1991.
79. Arnon, D.I., Copper Enzymes in Chloroplasts, Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, Plant Physiol., 24 (1949) 1-15.
80. Jaspars, E.M.J., Pigmentation of Tobacco Crown-gall Tissues Cultured *in vitro* in Dependence of the Composition of the Medium, Physiol. Plant., 18 (1965) 933-940.

81. Caral, M.J., Tames, R.S. ve Ferrandez, B., Peroxidase and Polyphenol Oxidase Activities in *Cyperus esculentus* Leaves Following Glyphosate Applications, Physiol. Plant. 74 (1988) 125- 130.
82. Rodriguez, R. ve Sanchez, T.R., Peroxidase and IAA Oxidase in Germinating Seeds of *Cicer arietinum* L., Rev. Esp. Fisiol., 38 (1982) 183-188.
83. Van Lelyveld, I.J. ve Pretorius, W.J., Assay Method for Determination of α -Amylase, Indole 3-Acetic Acid Oxidase and Ascorbic Acid Oxidation in A Crude Extract from Avocado, Agrochemo. Physica, 5 (1973) 29-34.
84. Liu, E.H., A Simple Method for Determining the Relative Activities of Individual Peroxidase Isoenzymes in A Tissue Extract, Anal. Biochem., 56 (1973) 149-154.
85. Bradford, M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein- Dye Binding, Anal.Biochem., 72 (1976) 248-254.
86. Chen, C.T. ve Kao, C.H., Senescence of Rice Leaves XXXII, Effects of Abscisic Acid and Benzyladenine on Polyamines and Ethylene Production during Senescence, J. Plant Physiol., 139 (1992) 617- 620.
87. Kao, C.H. ve Yang, S.F., Role of Ethylene in the Senescence of Detached Rice Leaves, Plant Physiol., 73 (1983) 881- 885.
88. Satler, S.O. ve Thimann, K.V., Relation between Respiration and Senescence in Oat Leaves, Plant Physiol., 72 (1983) 540- 546.
89. Chen, C.T. ve Kao, C.H., Senescence of Rice Leaves XXX, Levels of Endogenous Polyamines and Dark- Induced Senescence of Rice Leaves, Plant Cell Physiol., 32 (1991) 935- 941.
90. Fletcher, R.A., Retardation of Leaf Senescence by Benzyladenine in Intact Bean Plants, Planta, 89 (1969) 1- 8.
91. Philips, D.R., Horton, R.F. ve Fletcher, R.A., Ribonuclease and Chlorophyllase Activities in Senescing Leaves, Physiol. Plant., 22 (1969) 764- 767.

92. Behera, L.M. ve Choudhury, N.K., Effect of Organ Excision and Kinetin Treatment on Chlorophyll Content and DCPIP Photoreduction Activity of Chloroplasts of Pumpkin Cotyledons, J. Plant Physiol., 137 (1990) 53- 57.

93. Kao, C.H., Senescence of Rice Leaves, IV. Influence of Benzyladenine on Chlorophyll Degradation, Plant Cell Physiol., 21 (1980) 1255- 1262.

94. Jordi, W., Dekhuijzen, H.M., Stoopen, G.M. ve Overbeek, J.H.M., Role of Other Plant Organs in Gibberellic Acid- Induced Delay of Leaf Senescence in Alstroemeria Cut Flowers, Physiol. Plant., 87 (1993) 426-432.

95. Lamattina, L., Anchoverri, V., Conde, R.D. ve Lezica, R.P., Quantification of the Kinetin Effect on Protein Synthesis and Degradation in Senescing Wheat Leaves, Plant Physiol., 83 (1987) 497- 499.

96. Tavares, J. ve Kende, H., The Effect of 6- Benzylaminopurine on Protein Metabolism in Senescing Wheat Leaves, Phytochem., 9 (1970) 1763 - 1770.

97. Thomas, H. ve Stoddart, J.L., Leaf Senescence, Annu. Rev. Plant Physiol., 31 (1980) 83- 111.

98. Huang, Y. ve Kao, C.H., Senescence of Rice Leaves XXVII, Regulation of Acid Phosphatase by Abscisic Acid and Benzyladenine during Senescence, Chinese Agron. J., 1 (1991) 11- 19.

99. Bortoli, C.G., Simontacchi, M., Guiamet, J.J., Montaldi, E. ve Puntarulo, S., Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation during Aging of *Chrysanthemum moritolum* Ram. Petals, Plant Science Limerick, 104 (1995) 161- 168.

100. Leshem, Y. The Molecular and Hormonal Basis of Plant Growth Regulation, Pergamon Press, New York, 1973.

101. Heinz, H. ve Bopp, M., Phytohormone: Die cytokinine, Biol. Uns. Zeit., 11 (1981) 113-120

8. ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladıktan sonra 1989-1990 öğretim yılında K.T.Ü Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğretimine başladı. 1993 yılında bu bölümden biyolog ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve şu anda Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

T.C. MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI
ULUSLARARASI İLİŞKİLER MERKEZİ