

23234

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DIŞSAL OLARAK UYGULANAN  
ABSİSİK ASİT (ABA) VE GİBBERELLİK ASİT (GA<sub>3</sub>)'İN  
SWISS-ALBİNO FARELERİN (*Mus musculus L.*) KARACİĞER,  
BÖBREK VE BEYİN DOKULARINDA ANALİZİ

AYŞE YAVAŞ


YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA


1995

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

İş bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS  
TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Aslan AKSOY..... 

Üye Doç. Dr. S. Ferit TOPCUOĞLU..... 

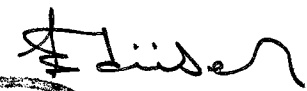
Üye Yrd. Doç. Dr. Murat ÖZMEN..... 

.....

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

02.04/1995

  
Prof. Dr. Esref YÜKSEL  
Enstitü Müdürü  


## ÖZET

Dışsal olarak uygulanan absisik asit (ABA) ve gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'in Swiss-Albino farelerin (*Mus musculus L.*) çeşitli dokularında (karaciğer, böbrek ve beyin) analizi amacı ile yapılan bu çalışmada kullanılan ABA ve GA<sub>3</sub> hayvanlara içme sularına eklenerek verilmiştir. Bunun için, hem ABA hem de GA<sub>3</sub>'ün 100 mg/L olarak kullanılan dozu 1.0 ml metanol içerisinde çözünerek hazırlanan ABA ve GA<sub>3</sub> çözeltileri kendilerine özgün deney sistemlerinde çeşme suyuna ilave edilmiştir. Kontrol grubu hayvanlar için de içme sularına 1.0 ml/L metanol konulmuştur.

Serbest ve bağlı formlarda ABA ve GA<sub>3</sub> miktarlarının tayininde spektrofotometre tekniği kullanılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre, farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında serbest ve bağlı formlarda ABA ve GA<sub>3</sub>'ün biriktiği saptanmıştır.

Çalışmamızın sonucunda, kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test gruplarında toplam-ABA bakımından hem dişi ve hem de erkek farelerde en az ABA birikiminin beyin dokusunda, daha sonra böbrek dokusunda ve en fazla ABA birikiminin ise karaciğer dokusunda olduğu anlaşılmıştır. Toplam-GA<sub>3</sub> bakımından ise, kontrol test grubu dişi farelerde en az GA<sub>3</sub> birikimi karaciğer dokusunda, daha sonra beyin dokusunda ve en fazla GA<sub>3</sub> birikimi böbrek dokusunda görülürken, kontrol test grubu erkek farelerde ve GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test gruplarının hem dişi ve hem de erkek farelerinde en az GA<sub>3</sub> birikimi beyin dokusunda, daha sonra karaciğer dokusunda ve en fazla GA<sub>3</sub> birikimi ise böbrek dokusunda belirlenmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, tüm dokularda kontrole göre, ABA-1, ABA-2, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test gruplarında toplam-ABA ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından farklılıklar önemli bulunmuştur (p < 0.001).

**Anahtar Kelimeler :** Absisik asit (ABA), Gibberellik asit (GA<sub>3</sub>), Bitki büyüme maddeleri, Swiss-Albino fare, Doku.

**ABSTRACT**

The accumulation of abscisic acid (ABA) and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) have been investigated in liver, kidney and brain tissues of Swiss-Albino mice (*Mus musculus L.*) which exogenously treated with ABA and GA<sub>3</sub>. ABA or GA<sub>3</sub> has been given to animals *ad libitum* that chemicals have been added to drinking water. Therefore, ABA or GA<sub>3</sub> was dissolved in 1 ml of methanol and 1000 ml tap water was added to mixture for special test groups of the study. A control group was also added to tests which exposed to only methanol (1 ml/liter) with tap water.

Amounts of free-and bounded-forms of ABA and GA<sub>3</sub> have been assayed using spectrophotometer technique.

It has been found that free-and bounded-forms of ABA and GA<sub>3</sub> have been accumulated in the tested tissues.

As a result of this study it was found that, total-ABA ( free-and bounded-forms together ) has been most accumulated in the liver but minimum level in the brain tissues on both female and male mice of all test groups. On the other hand, total GA<sub>3</sub> ( free-and bounded-forms of GA<sub>3</sub> ) was accumulated high concentration on the kidney tissues of female mice of the control group but it was accumulated in the liver low concentration in the brain tissue but it was found as a high level in the kidneys of control, GA<sub>3</sub>-1 and GA<sub>3</sub>-2 test groups of male mice.

Statistical analysis results are shown that, total ABA and total GA<sub>3</sub> amounts of ABA-1, ABA-2, GA<sub>3</sub>-1 and GA<sub>3</sub>-2 test animals significantly different compared with control group animals for all tissue samples ( $p < 0.001$ ).

**Key Words:** Abscisic acid (ABA), Gibberellic acid (GA<sub>3</sub>), Plant growth substance, Swiss-Albino mice, Tissue.

## TEŞEKKÜR

Büyük bir hoşgörü ve destek ile beni bu çalışmaya yönlendirerek yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer tez Hocam Sayın Doç.Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU'na (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yapılması esnasında gereken her türlü kolaylığı sağlayan İnönü Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilimleri Eğitimi Bölüm Başkanı Sayın Prof.Dr. Aslan AKSOY'a ve Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof.Dr. Eşref YÜKSEL'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın belirli aşamalarında bilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd.Doç.Dr. Murat ÖZMEN'e (İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) ve Sayın Arş.Grv. Serpil ÜNYAYAR'a (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) teşekkür ederim.

Tezimdeki istatistiksel değerlendirmelerde yardımını gördüğüm Sayın Yrd.Doç.Dr. Saim YOLOĞLU'na (İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi), tezimin yazımı esnasında büyük yardım ve ilgisini gördüğüm Sayın Aziz EKİCİ'ye ve çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışmalarım esnasında beni manevi olarak destekleyen aileme içten teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	ix
KISALTMALAR .....	x
1.GİRİŞ .....	1
2.MATERYAL VE METOD .....	10
2.1. Deney Hayvanları .....	10
2.2. Farelere ABA ve GA <sub>3</sub> Uygulaması .....	11
2.3. Doku Örneklerinin Alınması .....	12
2.4. Normal Fare Diyetinde ve Swiss-Albino Farelerin ( <i>Mus musculus L.</i> ) Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında ABA ve GA <sub>3</sub> 'ün Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması İşlemleri .....	12
2.5. Evaporasyon İşlemleri .....	17
2.6. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri .....	17
2.7. ABA ve GA <sub>3</sub> Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi. . .	18
2.8. ABA ve GA <sub>3</sub> Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri .....	18
2.9. ABA ve GA <sub>3</sub> Miktarlarının Spektrofotometre Tekniği ile Tayini . . .	19
2.10. İstatistiksel Analizler. ....	20

3.BULGULAR	25
3.1. Normal Fare Diyetinde ABA ve GA <sub>3</sub> Miktarları	25
3.2. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 Test Grupları Dişi ve Erkek F <sub>1</sub> Bireylerinin Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Miktarlarının Değişimi.	26
3.2.1. Karaciğer dokusunda	27
3.2.2. Böbrek dokusunda	29
3.2.3. Beyin dokusunda	31
3.3. Kontrol, GA <sub>3</sub> -1 ve GA <sub>3</sub> -2 Test Grupları Dişi ve Erkek F <sub>1</sub> Bireylerinin Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Serbest-, Bağlı- ve Toplam-GA <sub>3</sub> Miktarlarının Değişimi	33
3.3.1. Karaciğer dokusunda	34
3.3.2. Böbrek dokusunda	36
3.3.3. Beyin dokusunda	38
4-SONUÇ VE TARTIŞMA	40
5-KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	53

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>SAYFA</u>
Şekil 1.1. Doğal olarak oluşan (S)-absisik asitin yapısı (Topcuoğlu 1987). . . . .	2
Şekil 1.2. ABA metabolizması yolu (Gillard ve Walton 1976, Tietz vd. 1980: Walton 1980). . . . .	3
Şekil 1.3. Gibberellik asit (GA <sub>3</sub> )'in kimyasal yapısı (Palavan-Ünsal 1993). . . . .	5
Şekil 2.1. ABA ve GA <sub>3</sub> ekstraktlarının saflaştırılması işlemlerinin akış şeması . . . . .	13
Şekil 2.2. Test grubu ABA'nın absorpsiyon spektrumu . . . . .	21
Şekil 2.3. Test grubu GA <sub>3</sub> 'ün absorpsiyon spektrumu . . . . .	22
Şekil 2.4. Standart sentetik-ABA'nın standart eğrisi . . . . .	23
Şekil 2.5. Standart sentetik-GA <sub>3</sub> 'ün standart eğrisi . . . . .	24
Şekil 3.1. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dışı F1 bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi. . . . .	28
Şekil 3.2. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları erkek F1 bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi . . . . .	28
Şekil 3.3. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dışı F1 bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi. . . . .	30
Şekil 3.4. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları erkek F1 bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi. . . . .	30
Şekil 3.5. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dışı F1 bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi. . . . .	32



- Şekil 3.6. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları erkek F1 bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi. . . . . 32
- Şekil 3.7. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi F1 bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi. . . . . 35
- Şekil 3.8. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları erkek F1 bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi. . . . . 35
- Şekil 3.9. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi F1 bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi . . . . . 37
- Şekil 3.10. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları erkek F1 bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi. . . . . 37
- Şekil 3.11. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi F1 bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi. . . . . 39
- Şekil 3.12. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları erkek F1 bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi. . . . . 39

**TABLolar DİZİNİ****SAYFA**

Tablo 2.1. Araştırmada değerlendirmeye alınan dişi ve erkek F <sub>1</sub> bireylerinin sayıları . . . . .	11
Tablo 3.1. Normal fare diyetinde serbest-, bağı- ve toplam-ABA ve -GA <sub>3</sub> miktarları . . . . .	25
Tablo 3.2. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi ve erkek F <sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında serbest-, bağı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları . . . . .	26
Tablo 3.3. Kontrol, GA <sub>3</sub> -1 ve GA <sub>3</sub> -2 test grupları dişi ve erkek F <sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki serbest-, bağı- ve toplam-GA <sub>3</sub> eşdeğer miktarları . . . . .	33

**KISALTMALAR**

ABA : Absisik Asit

GA<sub>3</sub> : Gibberellik Asit

μg/ml : Mikrogram / Mililitre

ml/L : Mililitre / Litre

mg/L : Miligram / Litre

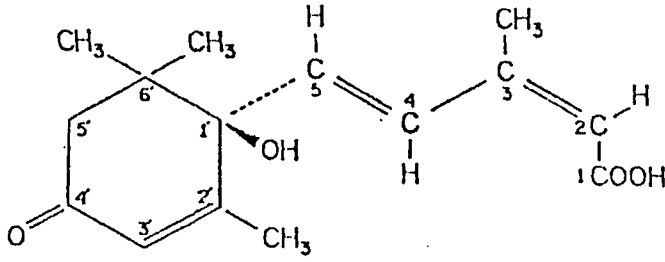


## GİRİŞ

Bitkisel ürünlere dayalı beslenmenin dünyadaki dağılımı bütün bölgelerde aynı değildir. Çünkü, tarımda bitkisel üretimi sınırlayan çeşitli faktörler bölgelere bağlı olarak değişim gösterir. Bunlar arasında verimli tarım topraklarının çoraklaşması, kuraklık, sulamada yapılan yanlışlıklar, su ve rüzgar tarafından taşınan topraklar (erozyon) nedeniyle tarım alanlarının verimsizleşmesi vs'de yer almaktadır. Öte yandan, günümüzde ekonomisi tarıma dayanan, sınırlı tarım alanlarına ve artan nüfusa sahip olan herhangi bir ülkenin refahı için de bitkisel kaynaklardan mümkün olduğu kadar çok verim elde etmek zorunlu hale gelmiştir. Dünyada artan nüfusun besin gereksinimlerini karşılamak ve uygun olmayan tarım alanlarından en verimli şekilde yararlanmak zorunluluğu araştırmacıları bu yönde çalışmalar yapmaya teşvik etmektedir. Bu çalışmalardan ümitli ve belki de çok önemli olanlardan biri, bitki büyüme maddelerinin büyüme ve gelişmedeki özel ve önemli rollerinden yararlanmak, bir bakıma hormonal tarıma yönelmektir. Bitki büyüme maddelerinin bitkiler üzerindeki fizyolojik etkilerinin çok çeşitli olması, onların tarım alanlarında yaygın biçimde kullanılmasına neden olmakta ve bu durum tarımsal çalışmalar için büyük bir ekonomik önem taşımaktadır.

Bitki büyüme maddelerinin bir kısmı bitki büyüme ve gelişmesini uyarıp hızlandırdığından stimülatör adını alır. Gibberellin, auxin ve sitokinin'ler bu gruba girmektedir. Diğer bir kısmı da büyüme ve gelişmeyi durduran, geriletken etkiye sahip olduğundan inhibitörler olarak adlandırılırlar. Örneğin, absisik asit (ABA) doğal bir bitki büyüme inhibitörüdür' (Topcuoğlu 1987).

ABA, bitki büyüme ve gelişmesinin regülasyonunda büyük önemi olan ve doğal olarak oluşan bir bitki büyüme inhibitörüdür (Dörffling 1972). ABA'nın doğal olarak oluşan formu (S)-(+)-absisik asittir (Şekil 1.1). Sentetik rasemik absisik asit ise (RS)-(±)-absisik asittir.



Şekil 1.1. Doğal olarak oluşan (S)-absisik asitin yapısı (Topcuoğlu 1987)

ABA bir sesquiterpenoid olup hem optik hem de geometrik olarak izomerizm göstermektedir (Wareing ve Phillips 1970, Phillips 1971). ABA molekülü asimetric bir karbon atomu içerdiğinden ya D(+) ya da L (-) formunda olmak üzere optik olarak izomerizm göstermektedir (Wareing ve Phillips 1970, Phillips 1972). Doğal olarak oluşan ABA daima (+) formdadır (Phillips 1971). ABA'nın cis ve trans olmak üzere iki geometrik izomeri vardır (Phillips 1972). Pek çok bitkide ABA'nın doğal olarak oluşan izomeri cis-ABA olup, literatürde sadece ABA olarak belirtilmektedir (Milborrow 1970).

Bitkilerde ABA'nın daha çok yapraklarda sentezlendiği kabul edilmekte (Kaşka 1971, Hoad 1973, Hoad 1975, Zeevaart 1977, Setter ve Brun 1981), diğer organlarda ise örneğin köklerde sentezi hususunda çelişkili görüşler ileri sürülmektedir (Bradford ve Hsiao 1982: Sakurai vd. 1985). Literatür bilgilerine göre ABA, çeşitli bitkilerin yaprak, gövde, kök, tohum, embriyo, endosperm, tohum kabuğu, tomurcuk, rizom ve tuber gibi çok değişik kısımlarında ve yüksek miktarlarda bulunmuştur (Dörffling 1972, Weaver 1972). Bundan başka, ABA'nın varlığı çeşitli bitkilerin floem (Hoad 1973, Hoad 1978, Zeevaart 1977) ve ksilem (Hoad 1975, Loveys 1977) sıvılarında da gösterilmiştir. ABA'nın bazı odunsu bitkilerin dallarında da doğal olarak bulunduğu bildirilmiştir (Anderson vd. 1978: Walton 1980).

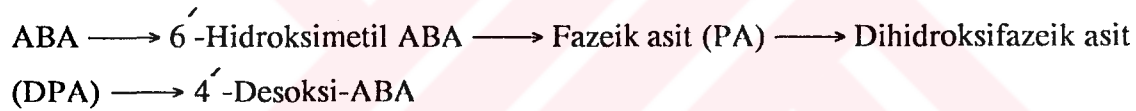
ABA biyosentezine ilişkin olarak iki yol tartışılmaktadır (Phillips 1971, Phillips 1972, Dörffling 1972, Kefeli 1978, Yücel 1986).

1-ABA, direkt olarak mevalonik asitten sentezlenmektedir.

2-ABA, karotenoid biyosentez yoluyla veya karotenoid ürünlerinin oluşumuyla ya da

başka bir deyişle violaksantin dahil ilgili ksantofillerin enzimatik veya fotooksidasyonunun bir yıkım ürünü olarak meydana gelmektedir. ABA'nın kapalı formülü  $C_{15}H_{20}O_4$  olup, organik çözücülerde ve suda çözünmektedir (Addicott ve Lyon 1969, Topcuoğlu 1987). ABA'nın maksimum absorpsiyon dalga boyu ortamın pH'sına göre değişmektedir. Asidik koşullarda maksimum absorpsiyon 252 nm ile 262 nm dalga boyları arasında (Addicott ve Lyon 1969), bazik koşullarda ise maksimum absorpsiyon 245 nm dalga boyunda (Milborrow 1974) görülmektedir.

Bugün ABA biyosentezinin karotenoid biyosentez yolu ile veya karotenoid ürününün oluşumuyla meydana geldiği iddiası önemini kaybetmiş olup, ABA'nın mevalonik asit'ten sentez edildiği fikri halen kabul edilmiş durumdadır. Bununla beraber, ABA biyosentezinde çoğu kademeler hala açıklığa kavuşmamıştır (Kefeli 1978, Topcuoğlu 1987). ABA metabolizmasının yıkım ürünleri, ABA'nın ya okside olmuş ya da bağlı formlarıdır (Walton 1980, Setter ve Brun 1981). ABA'nın metabolik yıkım yollarından birincisi Şekil 1.2' de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. ABA metabolizması yolu (Gillard ve Walton 1976, Tietz vd. 1980: Walton 1980)

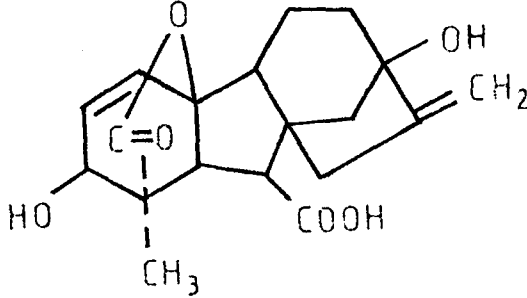
ABA'nın metabolik yıkım yollarından ikincisi, ABA'nın protein (Walton vd. 1979, Weiler 1980) ve şeker (Powell ve Seeley 1974) gibi büyük moleküllere bağlanarak alkalın-hidroliz edilebilir bağlı ABA oluşumudur. ABA bitkilerin büyümesi ve gelişmesi üzerinde çok çeşitli fizyolojik etkilere sahiptir. Literatür bilgilerimize göre ABA'nın başlıca fizyolojik etkilerini şöyle sıralayabiliriz (Topcuoğlu 1987, Palavan-Ünsal 1993).

- 1) Senesens (Yaşlanma) üzerine etkisi
- 2) Absisyon (Kopma) üzerine etkisi
- 3) Dormansi (Dinlenme) üzerine etkisi

- 4) Büyüme üzerine etkisi
- 5) Embriyo gelişimi ve tohum çimlenmesi üzerine etkisi
- 6) Meyve oluşumu ve gelişimi üzerine etkisi
- 7) Apikal dominansi (Tepe hakimiyeti yada tomurcukların korelatif inhibisyonu) üzerine etkisi
- 8) Çiçeklenme üzerine etkisi
- 9) Kökte ve diğer dokularda su ve iyon alınması ve taşınması üzerine etkisi
- 10) Kök geotropizması üzerine etkisi
- 11) Nükleik asit, protein sentezi ve enzimler üzerine etkisi
- 12) Strese adaptasyon mekanizması üzerine etkisi
- 13) Osmoregülasyonda rolü
- 14) Eşey belirlenmesine etkisi

Gibberellinler de, bitki büyüme ve gelişmesinin regülasyonunda büyük önem taşıyan bitki büyüme maddeleridir. Şimdiye kadar 72 tane gibberellin tesbit edilmiş ve GA<sub>1</sub>-GA<sub>72</sub> şeklinde ifade edilmiştir. Gibberellinler diterpenoid asitlerdir ve kimyasal yapılarında "Gibban-karbon iskeleti" bulunmaktadır. Gibberellinler asit tabiatlıdır ve yüksek bitkilerde en çok bulunan çeşidi gibberellik asittir (GA<sub>3</sub>) (Palavan-Ünsal 1993). Gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'in kapalı formülü C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub> olup, kimyasal yapısı Şekil 1.3'de gösterilmiştir. Yüksek bitki ve mantarlarda gibberellin biyosentezinde tek bir yolun olmadığı belirlenmiştir. Farklı gibberellinler farklı biyosentez yolları ile sentezlenirler ve bunların hepsi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Gibberellinlerin de ABA gibi mevalonik asitten sentezlendiği bilinmektedir. Gibberellinlerin inaktivasyonu ya gibberellin karbon iskeletinin modifikasyonu ile ya da glukozla birleşmesi (bağlı form) ile olur. Yüksek bitkilerde önemli gibberellin inaktivasyon olayı molekülün 2β-hidroksilasyonudur, yani A halkası üzerinde 2 numaralı karbona β pozisyonunda OH grubu eklenmesidir. Gibberellinlerin glukoz ile birleşmesi ya hidroksil grubu ile olur (gibberellin glukozil eterler) veya şeker 7-karboksil grubu ile bağlantı yaparak glukozil esterler meydana getirir. Yüksek bitkilerde gibberellin biyosentez yerleri gelişmekte olan meyva, tohum, uzamakta olan gövde apikal bölgesi ve köklerdir (Palavan-Ünsal 1993).

GA<sub>3</sub>'ün maksimum absorpsiyon dalga boyunun 254 nm olduğu bildirilmektedir (Cihangir ve Aksöz 1993).



Şekil 1.3. Gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'in kimyasal yapısı (Palavan-Ünsal 1993).

Gibberellinlerin fizyolojik etkileri de çok yönlü olup, fizyolojik etkilerini şu şekilde sıralayabiliriz (Vardar 1983).

- 1) Gövde büyümesi üzerine etkisi
- 2) Meyve gelişimi üzerine etkisi
- 3) Kök büyümesi üzerine etkisi
- 4) Yaprak büyümesi üzerine etkisi
- 5) Eşey belirlenmesine etkisi
- 6) Protein sentezi üzerine etkisi
- 7) Yaprak dökümü üzerine etkisi
- 8) Absisyon (Kopma) üzerine etkisi
- 9) Kambiyal bölünme üzerine etkisi
- 10) Lateral tomurcuk inhibisyonu üzerine etkisi
- 11) Tohumlarda ve tomurcuklarda dormansinin kırılması üzerine etkisi
- 12) Köklenme üzerine etkisi

Öte yandan, yüksek bitkilerden başka fungusların, bazı yosun ve yeşil alglerin de bitki büyüme maddelerini sentezledikleri bilinmektedir (Topcuoğlu 1987,



Salisbury 1992). Bunun yanısıra domuz, sıçan, sığır, koyun ve sincap gibi çeşitli gruplardan memeli hayvanların beyin dokularında da ABA'nın varlığı gösterilmiştir (Le Page-Degivry vd. 1986, Chen vd. 1988).

Günümüzde, insanlığın kullanımına sunulmuş binlerce kimyasal maddenin varlığı sözkonusudur. Bu maddelerin bir kısmı yiyecek ve içeceklerimizde ya da günlük olarak kullandığımız eşyalarımızda yaygın olarak bulunmaktadır. Genel olarak kabul edilen bir görüşe göre, kimyasal maddelerin bir bölümü canlılar üzerinde etkilerini doğrudan doğruya gösterirken, bir bölümü de sekonder metabolitlerinin etkisi nedeni ile ya da başka maddelerin etkisini artırarak göstermektedir (Devlin 1966, Bağcı 1985).

Ekonomisi tarıma dayalı diğer ülkelerde olduğu gibi, ülkemizde de son yıllarda ekonomik şartların gerekliliği olarak ve bilim dünyasının hızla ilerleyerek sunduğu değişikliklere ayak uydurabilmek için tarımda bitki büyüme maddeleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu maddeler günümüzde tarım alanlarında özellikle seracılıkta verimi arttırmak amacı ile yaygın olarak kullanılırken, bilimsel denetimden yoksun ve aşırı dozlarda kullanılması sonucunda özellikle hayvanlar ve insan üzerinde ortaya çıkacak toksik etkileri kesin olarak bilinmemektedir. Günümüzde, tarımda kullanılan sentetik-ticari bitki büyüme maddelerinin karsinojenik ve toksik etkilerinin bulunduğu bildirilirken, canlılarda (yüksek bitki, fungus, yosun, yeşil alg) doğal olarak sentezlenen bitki büyüme maddelerinin ise karsinojenik ve toksik etkilerinin bulunmadığı ileri sürülmektedir. Bu konuda çeşitli araştırmacılar tarafından yayınlanmış çok sınırlı sayıda literatür bilgisi bulunmaktadır (Darnell vd. 1986, Fairbrother vd. 1986, El-Mofty ve Sakr 1988, Üstün vd. 1992).

Yapılan bir çalışmada, bir kurbağa türü olan *Bufo regularis*'de gibberellik asit ( $GA_3$ )'in karsinojenik bir etkiye sahip olduğu ve kurbağa karaciğer dokusunda hepatoselüler karsinom oluşturduğu bildirilmektedir (El-Mofty ve Sakr 1988). Yapılan bir başka çalışmada da, farelere içme suları ile birlikte verilen  $GA_3$ 'ün karaciğer, böbrek, testis ve ovaryum dokularında herhangi bir tümör gelişimine, testis ve ovaryum dokularında hücre harabiyetlere neden olmamasına karşın, karaciğer ve böbreklerde dejenerasyon ve mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Üstün vd. 1992). Ayrıca, auxin türevlerinden bir herbisit

olan sentetik 2,4-diklorofenoksiasetik asit'in fare, sıçan, tavşan gibi deney hayvanlarında ve insanlarda neurotoksik etkisinin olduğu ve beyinde biriktiği de bildirilmektedir (Heikki ve Pauli 1979). Yine, Chen ve araştırma grubu (1988) tarafından yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre ise, sıçan ve domuz beyin dokularında saptanan ABA'nın beyinde bir mediatör olarak rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Bitki büyüme maddelerinin sıçan, kobay, kedi ve köpek gibi hayvanlar üzerinde toksik etkisinin olmadığı da rapor edilmektedir (Peck ve Mc Kenney 1957, Kimura ve Young 1959). Yapılan bir çalışmada, ABA'nın antitümör ajanı olarak kullanılabilirliği ve oral olarak verilen veya enjekte edilen ABA'nın tümör implante edilen farelerin yaşamını uzattığı da rapor edilmektedir (Visscher 1983 a). Farelere GA<sub>3</sub> ve ABA uygulamasına bağlı olarak, GA<sub>3</sub>'ün farelerde eşey farklılaşması üzerine etkili olduğu ve populasyonda erkek birey frekansını artırdığı, buna karşın ABA'nın böyle bir etkisinin olmadığı bir çalışma ile ortaya konulmuştur (Özmen vd., Yayınlanmamış sonuçlar).

Öte yandan, tütün bitkilerinde genetik tümör (neoplazma) indüksiyonu ile indol-3-asetik asit (IAA) artışı ve birikimi arasında bir ilişkinin olduğu ve crown gall tümör dokusunun büyük miktarlarda auxin ihtiva ettiği gösterilmiştir (Stonier ve Yong 1971, Atsumi ve Hayashi 1978). GA<sub>3</sub>'ün ise bitkilerde tümör oluşumunda direkt rol oynamadığı fikri ileri sürülmektedir (Ames vd. 1979). Yapılan çalışmalarda, crown gall tümör dokularının yüksek düzeylerde sitokin içerdiği (Weiler vd. 1981, Nandi vd. 1989) ve sitokinlerin tümör oluşum hızını artırdığı saptanmıştır (Ames 1972). Tümör oluşumu ve ABA ilişkisi incelendiğinde, crown gall tümörlerinde ABA artışının olmadığı tesbit edilmiştir. Tümör oluşumunda ABA'nın da direkt bir rol oynamadığı rapor edilmektedir (Ames vd. 1979).

Bitki büyüme maddelerinin bitkilerdeki miktarı sıcaklık, nem ve gün uzunluğu gibi mevsimsel değişiklikler ile belirgin bir şekilde değişmektedir (Milborrow 1974). Son yıllarda bazı araştırmacılar (Carlisle vd. 1969, Chrominski vd. 1982, Visscher 1983 a, 1983 b), spesifik konsantrasyonlardaki büyüme maddelerinin bunları yiyen canlılarda büyüme ve üremenin mevsimsel durumlarını ortaya çıkarmada önemli rol oynadığını savunmaktadırlar. Stres koşullarında bitkide ABA miktarının arttığı (Milborrow 1974, Topcuoğlu 1987) ve soğuk stresinde yetiştirilen çim bitkisi

*Agropyron smithii* ile beslenen çekirge *Aulocara elliotti*'nin yumurta üretimini ve yumurta açılma oranının büyük oranda gerilediği belirtilmektedir (Visscher 1980). Yapılan başka bir çalışmada da, 18 mg/lit GA<sub>3</sub> ve 20 mg/lit kinetin ile nemlendirilen çim bitkisini yiyen *Aulocara elliotti* dişilerinin kontrolden iki kat daha fazla yaşayabilir yumurta bıraktıkları rapor edilmektedir (Visscher 1982). Ayrıca, bazı çekirge türlerinde larva evresinde GA<sub>3</sub> uygulamasının gömlek değiştirmeyi teşvik ettiği ve buna bağlı olarak gelişimi hızlandırdığı rapor edilmiştir (Amdur vd. 1991).

Carlisle ve arkadaşları (1969) tarafından yapılan bir çalışmada ise, sentetik bir inhibitör olan 2-kloro-etil- trimetilamonyum klorid (CCC)'in çekirgelere enjeksiyon veya besin yolu ile verildiğinde mayoz bölünmeyi inhibe ettiği ve seksüel olgunlaşmayı engellediği saptanmıştır. Bitki büyüme maddelerinin memeli immün sistem hücreleri üzerindeki etkileri ve etki mekanizmasında tam olarak bilinmemektedir. Bir çalışmada GA<sub>3</sub> ile beslenen farelere virüs verildiğinde vireminin daha erken ve sık görüldüğü saptanmış ve GA<sub>3</sub>'ün immünmodülatör özelliği olduğu bildirilmiştir (Fairbrother vd. 1986).

Öte yandan, ABA bir çeşit insektisit olarak da düşünülmektedir (Yücel 1986). ABA'nın böcekler üzerindeki etkileri ile ilgili başka araştırmalarda da, *Drosophila melanogaster*'in gelişim biyolojisi, ömür uzunluğu ve resesif letalite üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu araştırmanın bulgularına göre, ABA yumurta, pupa ve ergin sayılarda azalmalara, malformlu bireylerin ortaya çıkmasına ve ömür uzunluğunun kısılmasına neden olurken, resesif letalite etkisinin bulunmadığı gösterilmiştir (Bozcuk vd. 1992). Yine aynı çalışmada, kinetinin *Drosophila melanogaster*'in yumurta, pupa ve ergin sayıları üzerindeki etkileri araştırılmış ve sonuçta kinetinin artan konsantrasyonları ile yumurta, pupa ve ergin sayılarında bir artış gözlenmiştir (Bozcuk vd. 1992).

Günümüzde ekonomisi tarıma dayanan, sınırlı tarım alanlarına ve artan nüfusa sahip ülkelerin daha fazla verim elde etmek için çok çeşitli kimyasal madde kullandıkları, bunların içinde bitki büyüme maddelerinin de son yıllarda giderek artan boyutlarda tarımda kullanıldığı bilinmektedir. Modern tarımın bir parçası haline gelen bitki büyüme maddelerinin bilimsel denetimden yoksun gelişigüzel ve aşırı dozlarda kullanılması sonucunda kalıntı etkilerinin olduğu da bilinmektedir

(Topcuoğlu vd. 1994).

Literatür bilgilerimize göre, bitki büyüme maddelerinin hayvanların çeşitli dokularındaki birikimleri konusunda çok sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Ülkemizde ise bu konuda bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bitki büyüme maddelerinin hayvanlar ve özellikle insan üzerindeki potansiyel etkilerinin tartışma konusu olduğu günümüzde, bu konuya titizlikle yaklaşılması gereğine inanılmaktadır. Tüm bu durumlar, bu maddelerin memeli sistemlerinde birikimlerinin çalışılmasını gerektirmektedir. İşte bu nedenlerle, bitki büyüme maddelerinden inhibitör olarak ABA'nın ve stimülatör olarak da GA<sub>3</sub>'ün hayvan dokusunda birikimi hususunda literatüre katkı getirmek amacıyla "Dışsal olarak uygulanan absisik asit (ABA) ve gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'in Swiss-Albino farelerin (*Mus musculus L.*) karaciğer, böbrek ve beyin dokularında analizi" Yüksek Lisans Tez konusu olarak seçilmiştir.

ABA ve GA<sub>3</sub>'ün bitki dokularında serbest ve bağlı formlarda bulunması nedeniyle, çalışmamızda da farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki ABA ve GA<sub>3</sub> miktarları serbest ve bağlı olmak üzere iki formda belirlenmiştir. Toplam-ABA ve -GA<sub>3</sub> miktarları, serbest- ve bağlı-ABA ve -GA<sub>3</sub> değerlerinin toplamını ifade etmektedir.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Swiss-Albino Fareler (*Mus musculus L.*) deney materyali olarak kullanılmıştır. Hayvanlar İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarında dişi ve erkek kardeşler arası çaprazlama ile elde edilmiş ve uzun süredir yaşatılmakta olan homojen bir popülasyondan sağlanmıştır. Deney grupları ABA ve GA<sub>3</sub> için iki farklı uygulama grubu olarak hazırlanmıştır. Ayrıca, kontrol grubu hayvanlar kullanılmıştır. Deneylerde, daha önce döllenenmemiş olan 20-25 gr ağırlığında ergin dişi ve erkek fareler kullanılmıştır. Hayvanlar her kafeste 4 dişi ve bir erkek olmak üzere çiftleşmeye bırakılmıştır. Her deney grubu ikili tekrar gruplarını içerecek şekilde düzenlenmiştir. Deney süresince hayvanlar, 20-22 °C oda sıcaklığı, % 40-60 nisbi nem ve normal gün ışığına bağlı olarak 8-10 saatlik fotoperiyot koşullarında barındırılmıştır. Gerek ABA ve gerekse GA<sub>3</sub> için hazırlanan deney sisteminde, birinci grup hayvanlarda ebeveynlerin çiftleşmeye bırakıldıkları andan itibaren madde verilerek, F<sub>1</sub> dölünün doğumuna kadar uygulama sürdürülmüştür. Bu gruplar, ABA-1 ve GA<sub>3</sub>-1 test grupları olarak adlandırılmıştır. İkinci grup hayvanlarda ise, madde uygulaması ebeveynlerin çiftleşmeye bırakıldıkları anda başlanarak, F<sub>1</sub> dölünün ergin hale geldiği 10. haftaya kadar devam edilmiştir. Bu gruplar da ABA-2 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları olarak adlandırılmıştır. Deneylerde kontrol, ABA ve GA<sub>3</sub> uygulama gruplarında miktar tayini amacı ile toplam 82 adet dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin (Tablo 2.1) karaciğer, böbrek ve beyin dokuları çalışılmıştır. F<sub>1</sub> bireylerinin doğumunu takiben, kafeslerden öncelikle erkek ebeveynler uzaklaştırılmıştır. Laktasyonun sona ermesini takiben ise, yavruların yem almaya başladıkları anda dişi ebeveynler kafeslerden alınarak, her kafeste en çok 4 birey olacak şekilde barındırılmışlardır.

Tablo 2.1. Araştırmada değerlendirmeye alınan dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin sayıları

Deney Grubu	Toplam <sub>n</sub>	♀ <sub>n</sub>	♂ <sub>n</sub>
Kontrol	20	12	8
ABA-1	14	7	7
ABA-2	19	9	10
GA <sub>3</sub> -1	15	7	8
GA <sub>3</sub> -2	14	5	9

## 2.2. Farelere ABA ve GA<sub>3</sub> Uygulaması

Dışsal olarak uygulanan ABA ve GA<sub>3</sub>'ün farenin çeşitli dokularında (karaciğer, böbrek ve beyin) analizi amacı ile yapılan bu çalışmada kullanılan ABA (Sigma, A 1049) ve GA<sub>3</sub> (Sigma, G 7645) hayvanlara içme sularına eklenerek verilmiştir. Bunun için, hem ABA hem de GA<sub>3</sub>'ün 100 mg/L olarak kullanılan dozu 1.0 ml metanol (Merck, 6008) içerisinde çözünerek hazırlanan ABA ve GA<sub>3</sub> özeltileri kendilerine özęün deney sistemlerinde eşe suyunu ilave edilmiştir. Kontrol grubu hayvanlar için de içme sularına 1.0 ml/L metanol konulmuştur. Bu uygulama için kullanılan tüm maddeler, haftalık olarak kahverengi şişelerde hazırlanarak farelere verilmiştir. Deney süresince hayvanlar normal fare diyeti ile beslenmiştir. Normal fare diyetinin (yem) içeriğinde mısır, buğday, arpa, fındık küsbesi, kepek, razmol, ayçiçeği tohumu küsbesi, pamuk tohumu küsbesi, soya küsbesi, et-kemik unu, balık unu, tuz, kireç taşi, melas, mangan, çinko, demir, bakır, iyot, selenyum, vitamin A, vitamin D3, vitamin B2, Ca-D Pentothenate, vitamin B12, niacin, vitamin K3, vitamin E, choline cholorida, vitamin B1, folic asit ve antioksidan bulunmaktadır. (Aksu Yem Sanayii).

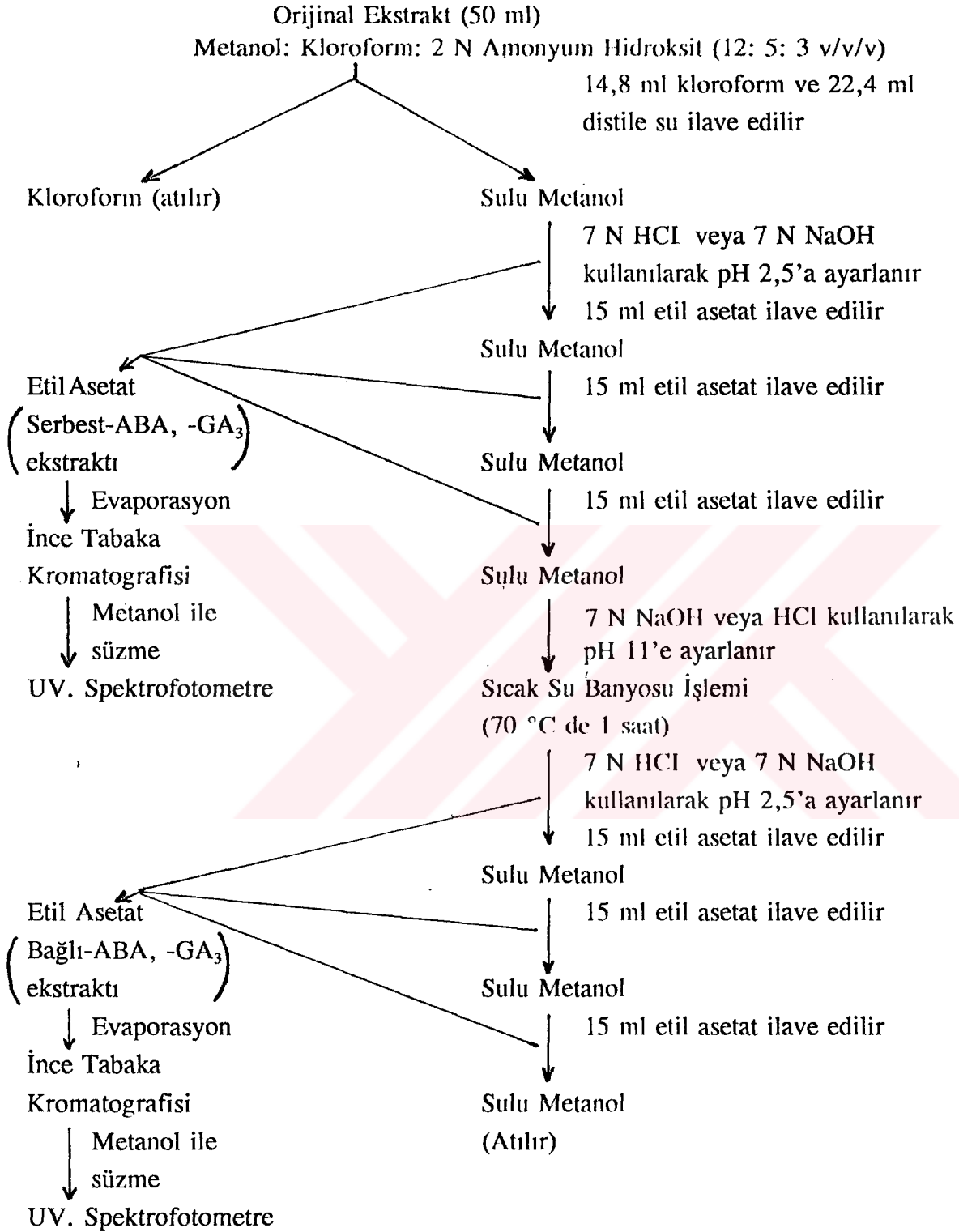
### 2.3. Doku Örneklerinin Alınması

Fareler boyunları kırılarak (cervikal dislocation) öldürülmüş ve dissekte edilmişlerdir. Hayvanlardan alınan karaciğer, böbrek ve beyin dokuları 2-3 kez 0,15 M KCl çözeltisi içinde yıkandıktan sonra, ayrı ayrı beherlere konularak 30 saniye süre ile %70'lik 5 ml etanol içinde, polithron homojenizatörde (Status Corp., USA) homojenize edilmiştir. Homojenize edilen doku örnekleri -80 °C'de derin dondurucuda bitki büyüme maddelerinin ekstraksiyonu ve saflaştırılması işlemlerine kadar saklanmıştır.

### 2.4. Normal Fare Diyetinde ve Swiss-Albino Farelerin (*Mus musculus L.*) Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında ABA ve GA<sub>3</sub>'ün Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması İşlemleri

ABA ve GA<sub>3</sub>'ün ekstraksiyonu ve saflaştırılması Ames ve ark. (1979), Topcuoğlu (1987), Zieslin ve Geller (1983), Staden ve Nicholson (1989) ve Prakash ve Prathapasanan (1990)'nın çalışmalarından yararlanarak yapılmıştır. Normal fare diyetinde ve Swiss-Albino Farelerin (*Mus musculus L.*) karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ABA ve GA<sub>3</sub>'ün ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında kullanılan yöntem sırasıyla aşağıda olduğu gibi uygulanmıştır (Şekil 2.1).

1- Normal fare diyeti ve homojenize edilen doku örnekleri, içinde 45 ml ekstraksiyon solventi (metanol: kloroform: 2N amonyum hidroksit, 12:5:3 v/v/v) bulunan 100 ml'lik kapaklı kahverengi renkli şişelere konularak etiketlenmiştir. Her bir numune şişesinin içine antioksidant olarak 1 mg/100 ml BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) (Elkinawy 1984) konulmuştur. Bitki büyüme maddelerinin ışıktan ve pH değişimlerinden etkilenmemesi için, şişelerin dış tarafı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Daha sonra bu şişeler -80 °C'de derin dondurucuda bir hafta süreyle



Şekil 2.1. ABA ve GA<sub>3</sub> ekstraktlarının saflaştırılması için uygulanan işlemlerin akış şeması (Topcuoğlu 1987, değiştirilerek)



saklanmıştır (Weiler vd. 1981).

2- Bir hafta sonra şişeler derin dondurucudan çıkarılmıştır. İçlerindeki orijinal ekstrakt (solvent) 250 ml'lik ayırma hunilerine filtre kağıdı vasıtasıyla süzülmüştür. Böylece saflaştırma işlemine hazır orijinal ekstraktlar (50 ml) elde edilmiştir.

3- 250 ml'lik ayırma hunilerinde bulunan orijinal ekstraktların üzerine 14.8 ml kloroform ve 22.4 ml distile su konmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak kloroform ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde karıştırılıp dinlenme sırasında birbirinden net olarak ayrılması sağlanmıştır. İki fazın birbirinden net olarak ayrılmadığı durumlarda, güçlü bir akvaryum pompası ile kloroform fazı içine hava üflenerek ayırma işi çabuklaştırılmıştır. Altta kalan kloroform fazları ayırma hunilerindeki musluklar yardımıyla atılmıştır.

4- Ayırma hunilerindeki kloroform fazlarının tamamıyla atılması için numuneler, 100 ml'lik ekstraksiyon balonlarına alınarak kısa bir süre 45 °C'de su banyosunda evapore (Rotaevaporatör IKA-WERK) edilmiştir.

5- Ekstraksiyon balonlarında kalan sulu metanol fazlarının pH'sı 7N HCl veya 7N NaOH kullanılarak 2,5'a ayarlanmıştır.

6- 100 ml'lik cam ekstraksiyon balonları hazırlanmıştır. Bunun için ekstraksiyon balonları etil asetat ile çalkalanarak temizlenmiş ve ağızları açık kalacak şekilde dış tarafı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Dik durabilmesi için de uygun plastik kaplara yerleştirilmiştir.

7- pH'sı 2,5'a ayarlanarak 250 ml'lik ayırma hunilerine alınan sulu metanol fazlarının üzerlerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle sulu metanol fazlarındaki ABA ve GA<sub>1</sub>'ün etil asetat fazlarına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra dinlenme sırasında etil asetat ve

sulu metanol fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunilerindeki musluk yardımıyla altta kalan sulu metanol fazları dışı alüminyum folyo ile sarılmış ve etiketlenmiş 100 ml'lik beherlere, üstteki etil asetat fazları ise daha önceden hazırlanan etiketli ekstraksiyon balonlarına alınmıştır.

**8-** Beherlere alınan sulu metanol fazları tekrar ayırma hunilerine alınmış ve üzerlerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Ayırma hunileri tekrar kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle sulu metanol fazlarındaki ABA ve GA<sub>3</sub>'ün etil asetat fazlarına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve sulu metanol fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunilerindeki musluk yardımıyla, altta kalan sulu metanol fazları aynı beherlere, üstteki etil asetat fazları ise aynı ekstraksiyon balonlarına alınmıştır.

**9-** 8 no'lu işlem tekrar edilmiştir. Böylece, 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonlarına alınan bu etil asetat fazları içindeki ABA ve GA<sub>3</sub> serbest-ABA ve -GA<sub>3</sub>'tür. Daha sonra, içinde serbest-ABA ve -GA<sub>3</sub> bulunan bu ekstraksiyon balonlarının ağızları alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra -80°C'de derin dondurucuda evaporasyon işlemine kadar saklanmıştır.

**10-** Beherlerde kalan sulu metanol fazlarının pH'sı 7N NaOH veya 7N HCl kullanılarak 11'e ayarlanmıştır.

**11-** Beherlerin ağızları alüminyum folyo ile kapatılarak 1 saat, 70 °C'de su banyosunda bırakılmıştır. Ancak beherler bu süre içinde her 10 dakikada bir çalkalanmıştır.

**12-** Bir saat sonra, beherler sıcak su banyosundan çıkarılmış ve oda sıcaklığında iken içlerindeki sulu metanol fazlarının pH'sı 7 N HCl veya 7 N NaOH kullanılarak 2.5'a ayarlanmıştır.

13- pH'sı 2,5'a ayarlanmış ve 250 ml'lik ayırma hunilerine alınmış olan sulu metanol fazlarının üzerlerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle sulu metanol fazlarındaki ABA ve GA<sub>3</sub>'ün etil asetat fazlarına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve sulu metanol fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunilerindeki musluk yardımıyla altta kalan sulu metanol fazları dışı alüminyum folyo ile sarılmış ve etiketlenmiş 100 ml'lik beherlere, üstteki etil asetat fazları ise daha önceden hazırlanan etiketli ekstraksiyon balonlarına alınmıştır.

14- Beherlere alınan sulu metanol fazları tekrar ayırma hunilerine alınmış ve üzerlerine 15 ml etil asetat konulmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak tekrar 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle sulu metanol fazlarındaki ABA ve GA<sub>3</sub>'ün etil asetat fazlarına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve sulu metanol fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunilerindeki musluk yardımıyla altta kalan sulu metanol fazları aynı beherlere, üstteki etil asetat fazları ise aynı ekstraksiyon balonlarına alınmıştır.

15- 14 no'lu işlem tekrar edilmiştir. Böylece 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonlarına alınan bu etil asetat fazları içindeki ABA ve GA<sub>3</sub> bağlı-ABA ve -GA<sub>3</sub>'tür. Daha sonra, içinde bağlı-ABA ve -GA<sub>3</sub> bulunan bu ekstraksiyon balonlarının ağızları alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra -80 °C'de derin dondurucuda evaporasyon işlemine kadar saklanmıştır.

16- Beherlerde kalan sulu metanol fazları atılmıştır.

## 2.5. Evaporasyon İşlemleri

Ekstraksiyon balonlarında bulunan hem serbest- hem de bağlı-ABA ve -GA<sub>3</sub>'ün kombine etil asetat fazları, Rota-Evaporatör aleti ile 45 °C' de su banyosu içinde tamamen kuruyuncaya kadar evapore edilmiştir. Evapore işlemleri sonunda numunelerin ince tabaka kromatografisi işlemleri yapılmıştır.

## 2.6. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri

1. İnce tabaka kromatografisi cam plakaları (20x20 cm.) inorganik bir floresans bileşik içeren silikajel GF<sub>254</sub> (Merck) ile 0.25 mm kalınlığında kaplanmıştır. Daha sonra, bu cam plakalar etüvde 100 °C'de 60 dakika kurutulmuştur.

2. Cam plakalar, kenarlarından 2 mm kazınarak plakanın sağ tarafından 2 cm'lik bir bölüm ayrıldıktan sonra geri kalan kısım 2 eşit bölüme ayrılmıştır. Bu eşit 2 bölüme ABA ve GA<sub>3</sub>'ün serbest- ve bağlı- ekstraktları, 2 cm'lik diğer bölüme ise 10<sup>-2</sup> M standart sentetik-ABA (Sigma, A 1049) ve -GA<sub>3</sub> (Sigma, G 7645) tatbik edilmiştir.

3. Ekstraksiyon balonlarında bulunan ABA ve GA<sub>3</sub> ekstraktları her defasında 0.5 ml metanol ile çözülerek 2 defa ince uçlu pastör pipeti yardımı ile etiketlerine göre cam plakalar üzerine bant oluşturularak tatbik edilmiştir. Ayrıca, her cam plaka üzerine nokta halinde aynı yere sırasıyla ikişer damla 10<sup>-2</sup> M standart sentetik-ABA ve -GA<sub>3</sub> tatbik edilmiştir.

4. Bu cam plakalar, içerisinde isopropil alkol-amonyak -distile su (10:1:1 v/v/v) (Mace 1965, Mizrahi vd. 1971, Tillberg 1974, Martinez-Toledo vd. 1988) karışımı solvent bulunan ince tabaka kromatografisi tankı içine yerleştirilmiştir. Cam plakalar,

solvent sistemi tatbik noktasından itibaren 11 cm yükselene kadar tankın içinde bekletilmiştir. Solvent sisteminin yükselmesi tamamlandığında cam plakalar tanktan çıkarılmış ve bir vantilatör karşısında kurutulmuştur.

## **2.7. ABA ve GA<sub>3</sub> Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi**

ABA ve GA<sub>3</sub> bölgelerinin belirlenebilmesi için plakalar karanlık labarotuvarda 254 nm dalga boyundaki UV ışığında incelenmiştir. Plaka üzerinde mor floresans renk veren ekstrakte ait ABA bölgesi standart sentetik-ABA bölgesi ile kıyaslanmış ve her iki ABA bölgelerinin aynı Rf değerini verdiği gözlenmiştir (Koshimizu vd. 1967, Percival 1976, Topcuoğlu 1987). Numunelerdeki GA<sub>3</sub> bölgelerinin UV ışığında belirlenebilmesi için plaka üzerinde standart sentetik-GA<sub>3</sub>'ün tatbik edildiği bölüme %5 konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içeren etanol çözeltisi (Martinez-Toledo vd. 1988) püskürtülerek standart sentetik-GA<sub>3</sub> bölgesi görünür hale getirilmiştir. Mavi-yeşil floresans renk veren standart sentetik-GA<sub>3</sub> bölgesi tayin edilerek, elde edilen Rf değerine göre ekstrakte ait GA<sub>3</sub> bölgesi saptanmıştır.

## **2.8. ABA ve GA<sub>3</sub> Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri**

1. UV ışığında tayin edilen ekstrakte ait ABA ve GA<sub>3</sub> bölgeleri standart sentetik-ABA ve -GA<sub>3</sub> bölgelerinin altından ve üstünden geçen birer çizgi ile işaretlenmiştir.
2. Cam plakalar üzerindeki işaretli ABA ve GA<sub>3</sub> bölgelerini içeren silikajel uygun bir kazıyıcı yardımıyla kazınarak herbiri ayrı ayrı temiz bir kağıt üzerine alınmıştır.

3. Kağıt üzerine alınan silikajel boğaz kısımlarına cam pamuğu yerleştirilmiş pastör pipetlerine boşaltılmıştır.

4. Pastör pipetlerindeki silikajelden 2 ml metanol geçirilerek ABA ve GA<sub>3</sub> 10 ml'lik cam tüplere alınmıştır.

5. Cam tüpler içindeki metanol bir vantilatör karşısında uçurularak serbest- ve bağlı-ABA ve -GA<sub>3</sub> saf olarak elde edilmiştir.

6. İçinde kuru ve saf halde ABA ve GA<sub>3</sub> ekstraktı bulunan cam tüpler etiketlenip alimünyum folyo ile sarılarak, UV-VIS spektrofotometre aletinde okununcaya kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

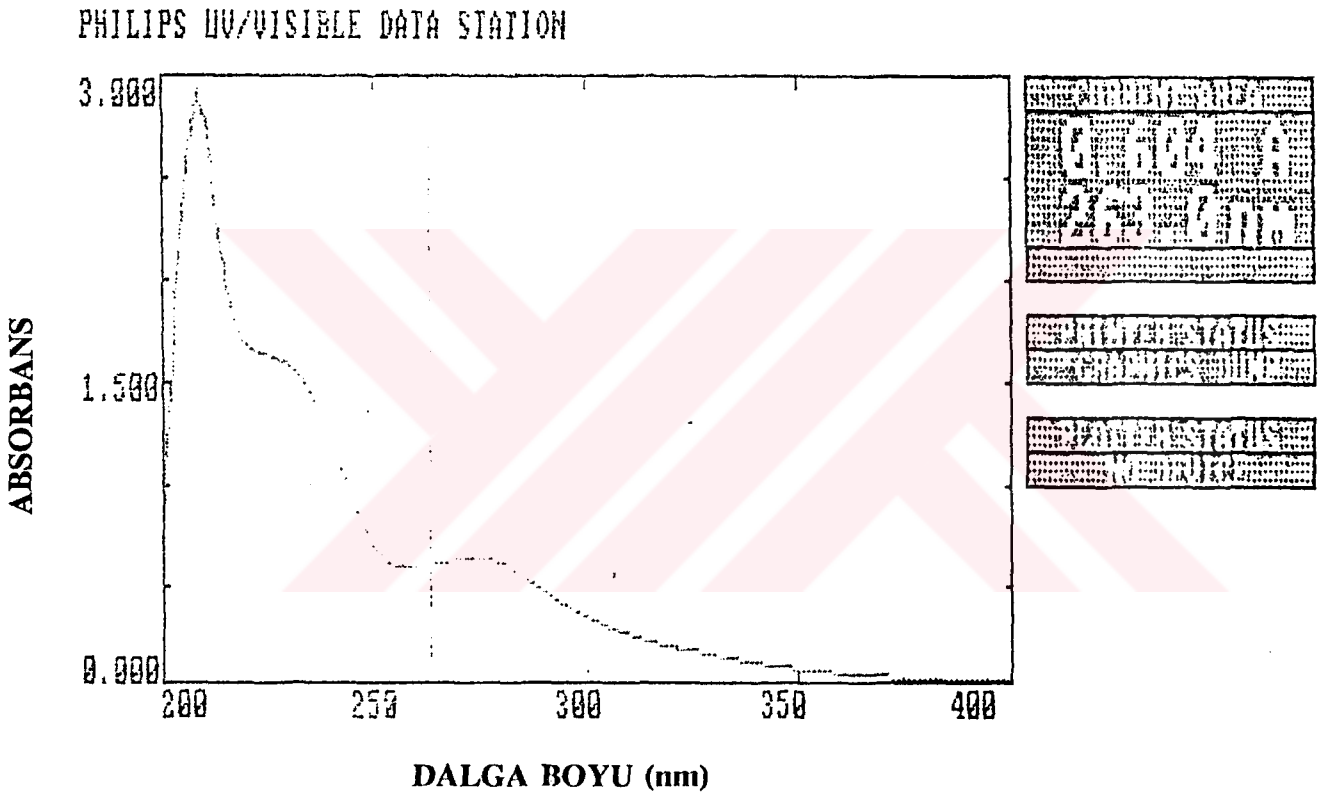
## 2.9. ABA ve GA<sub>3</sub> Miktarlarının Spektrofotometre Tekniği İle Tayini

Normal fare diyetinde ve Swiss-Albino Farelerin (*Mus musculus L.*) karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ABA ve GA<sub>3</sub>'ün ekstraksiyonu ve saflaştırılması sonucunda elde edilen ABA ekstraktı 263 nm dalga boyunda (Mert 1993), GA<sub>3</sub> ekstraktı ise 254 nm dalga boyunda (Cihangir ve Aksöz 1993) UV-VIS spektrofotometre (Phillips PU 8715) aletinde köre karşı (kör=metanol) okunmuştur (Şekil 2.2 ve 2.3). ABA ve GA<sub>3</sub> ekstraktlarının her biri 5'er ml metanolde çözülmüştür. ABA ve GA<sub>3</sub> miktarları, herbiri için ayrı ayrı hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır (Şekil 2.4 ve 2.5). Test grupları ABA ve GA<sub>3</sub> miktarları, standart sentetik-ABA ve -GA<sub>3</sub> eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

## 2.10. İstatistiksel Analizler

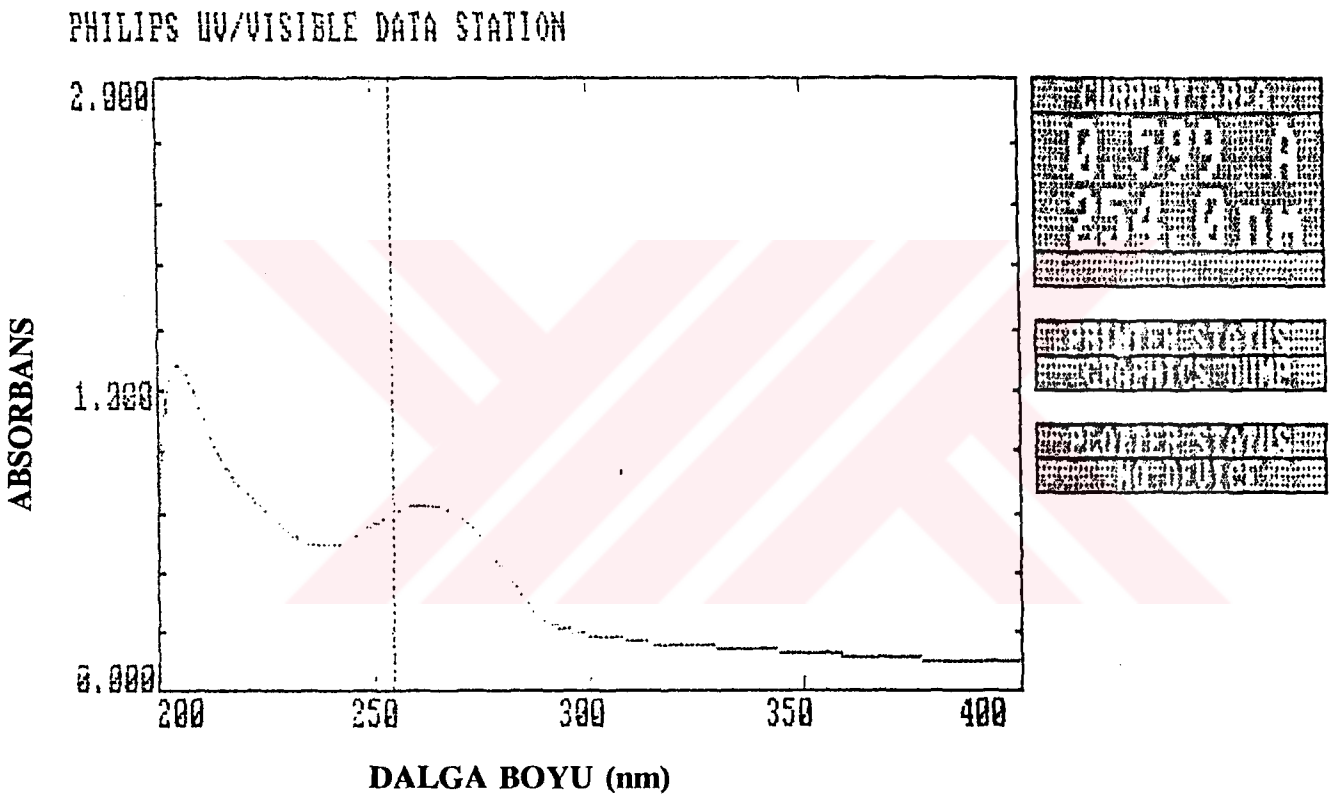
Verilerin ortalamaları ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S_x$ ) değerleri hesaplandı. Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri için, SPSS for Windows istatistik paketi kullanılmıştır. Araştırmada, test gruplarının karşılaştırılması Kruskal-Wallis Varyans Analizi yöntemi ile yapılmıştır. Bunun için kontrol grubu ile uygulama gruplarından gelen veriler ayrı ayrı kullanılarak, dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireyleri için birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ile uygulama grupları arasındaki varyans analizi sonuçlarına göre saptanan istatistiksel farklılıklar, Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır (Daniel 1987).



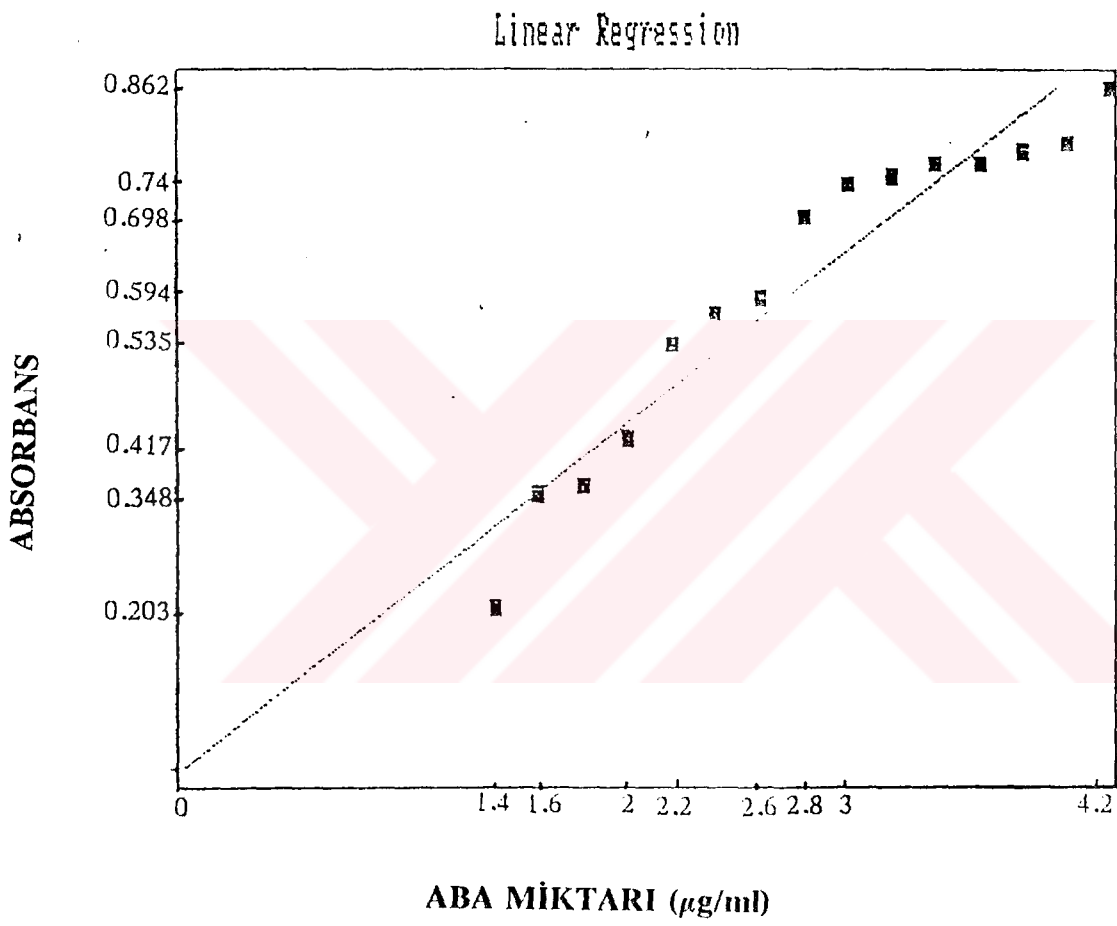


Şekil 2.2. Test grubu ABA'nın absorpsiyon spektrumu

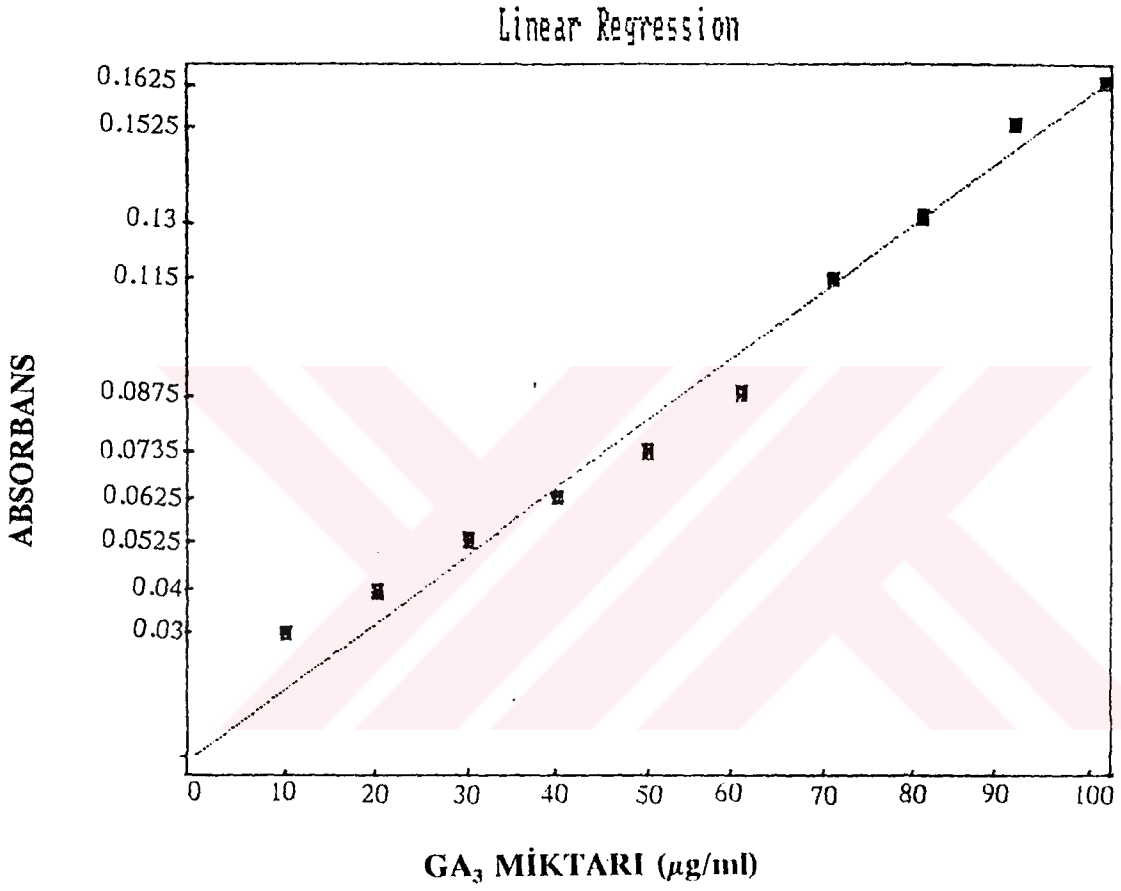




Şekil 2.3. Test grubu GA<sub>3</sub>' ün absorpsiyon spektrumu



Şekil 2.4. Standart sentetik-ABA'nın standart eğrisi



Şekil 2.5. Standart sentetik-GA<sub>3</sub> ün standart eğrisi

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Normal Fare Diyetinde ABA ve GA<sub>3</sub> Miktarları

Normal fare diyetinde serbest-, bağı- ve toplam-ABA ve -GA<sub>3</sub> miktarları, Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Normal fare diyetinde serbest-, bağı-, toplam- ABA ve -GA<sub>3</sub> miktarları (Değerler üç tekrarın ortalaması  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir).

Bitki Büyüme Maddesi	ABA ve GA <sub>3</sub> İşdeğer Miktarı (µg/ml)		
	Serbest		Bağı
	$\bar{x}$	S <sub>e</sub>	$\bar{x}$ S <sub>e</sub>
ABA	9.79	±1.07	0.78 ±0.13
GA <sub>3</sub>	1312.57	±66.52	14.52 ± 3.53
			1327.09 ± 67.39

$\bar{x}$  : Aritmetik Ortalama S<sub>e</sub> : Standart Hata

Tablo 3.1'den görüldüğü gibi, normal fare diyetinde serbest-, bağı- ve toplam-ABA miktarları, sırasıyla 9.79 µg/ml, 0.78 µg/ml ve 10.57 µg/ml olarak saptanmıştır. Serbest-, bağı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları ise, sırasıyla 1312.57 µg/ml, 14.52 µg/ml ve 1327.09 µg/ml olarak bulunmuştur. Her iki bitki büyüme maddesinin serbest, bağı ve toplam değerleri karşılaştırıldığında, GA<sub>3</sub> miktarlarının ABA miktarlarından oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 3.1).

### 3.2. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 Test Grupları Dişi ve Erkek F<sub>1</sub> Bireylerinin Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Miktarlarının Değişimi

Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki serbest-, bağlı- ve toplam -ABA miktarları, Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları (Ortalama  $\pm$  Standart Hata)

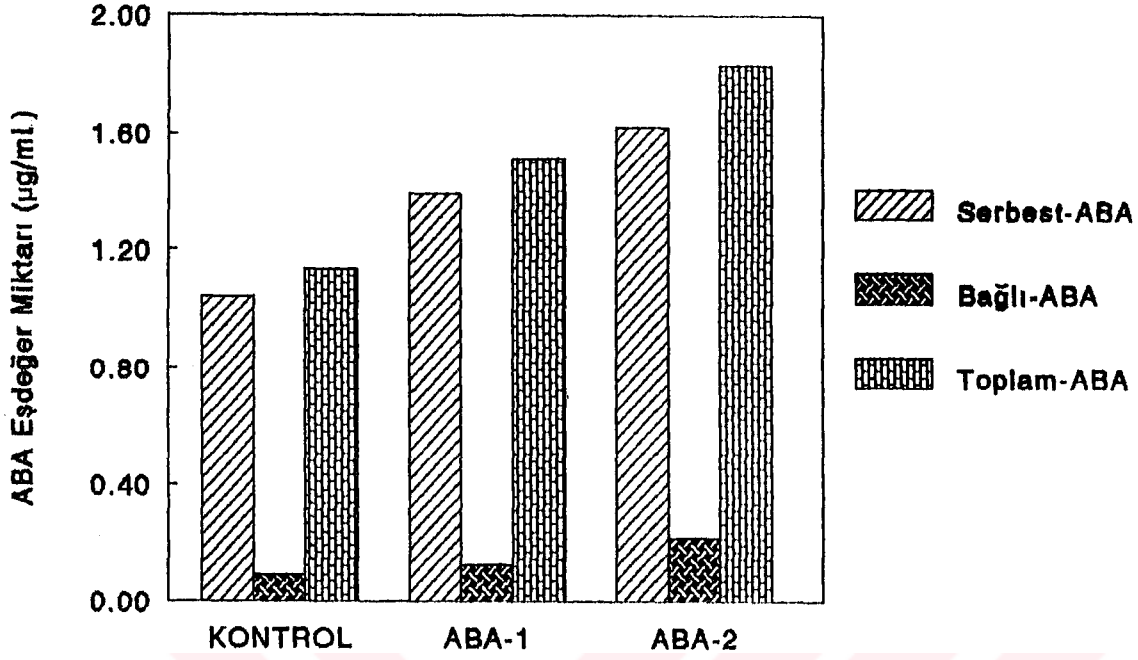
Test Grupları	ABA Formu	Birey	ABA Eşdeğer Miktarı ( $\mu\text{g/ml}$ )		
			DOKULAR		
			Karaciğer $\bar{x}$ S <sub>e</sub>	Böbrek $\bar{x}$ S <sub>e</sub>	Beyin $\bar{x}$ S <sub>e</sub>
Kontrol  ♀ <sub>n</sub> 12  ♂ <sub>n</sub> 8	Serbest-ABA	♀	1.04 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.02
		♂	0.99 $\pm$ 0.02	0.46 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.01
	Bağlı-ABA	♀	0.09 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01
		♂	0.11 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.02
	Toplam-ABA	♀	1.13 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.01	0.36 $\pm$ 0.01
		♂	1.10 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.02	0.32 $\pm$ 0.02
ABA-1  ♀ <sub>n</sub> 7  ♂ <sub>n</sub> 7	Serbest-ABA	♀	1.39 $\pm$ 0.01	0.88 $\pm$ 0.01	0.62 $\pm$ 0.01
		♂	1.34 $\pm$ 0.01	0.96 $\pm$ 0.01	0.60 $\pm$ 0.01
	Bağlı-ABA	♀	0.12 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.03	0.29 $\pm$ 0.01
		♂	0.11 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.01
	Toplam-ABA	♀	1.51 $\pm$ 0.01	0.95 $\pm$ 0.01	0.91 $\pm$ 0.01
		♂	1.45 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.01	0.85 $\pm$ 0.01
ABA-2  ♀ <sub>n</sub> 9  ♂ <sub>n</sub> 10	Serbest-ABA	♀	1.62 $\pm$ 0.01	1.49 $\pm$ 0.01	0.81 $\pm$ 0.01
		♂	1.57 $\pm$ 0.01	1.44 $\pm$ 0.08	0.83 $\pm$ 0.01
	Bağlı-ABA	♀	0.21 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.01
		♂	0.21 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.08	0.50 $\pm$ 0.02
	Toplam-ABA	♀	1.83 $\pm$ 0.01	1.58 $\pm$ 0.01	1.27 $\pm$ 0.01
		♂	1.78 $\pm$ 0.01	1.63 $\pm$ 0.01	1.33 $\pm$ 0.02

$\bar{x}$  : Aritmetik Ortalama S<sub>e</sub> : Standart Hata n : F<sub>1</sub> Birey Sayısı

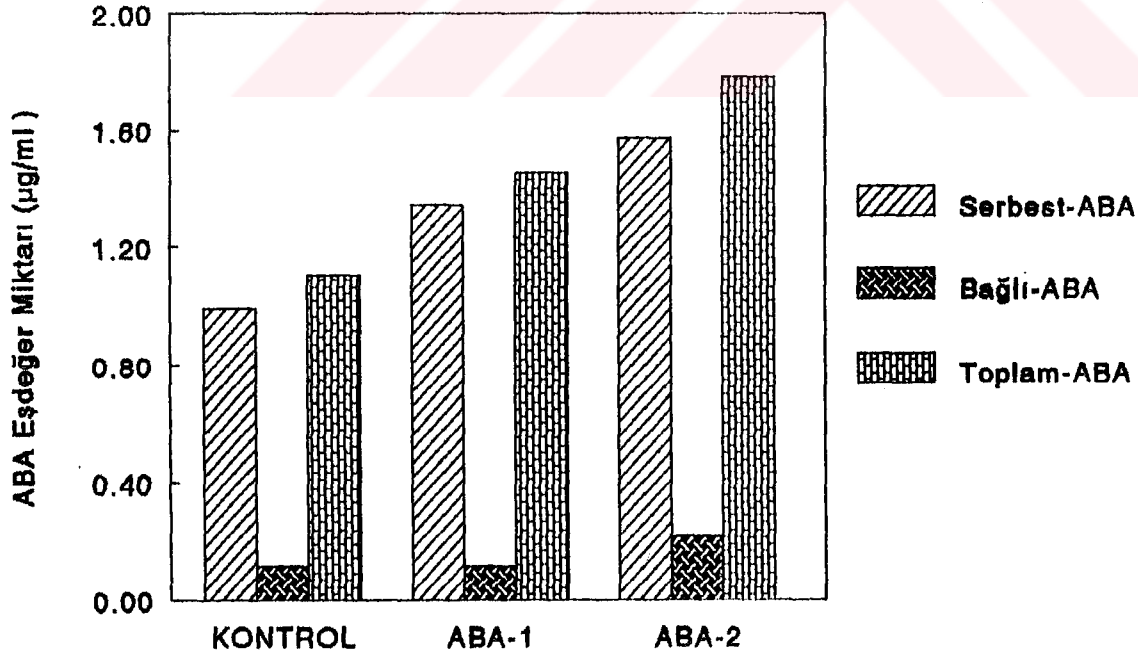
### 3.2.1. Karaciğer dokusunda

Tablo 3.2 ve Şekil 3.1 ve 3.2'den görüldüğü gibi, kontrol test grubu F<sub>1</sub> dölü dişi farelerde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları, sırasıyla 1,04 µg/ml, 0,09 µg/ml ve 1,13 µg/ml, erkeklerde ise sırasıyla 0,99 µg/ml, 0,11 µg/ml ve 1,10 µg/ml olarak saptanmıştır. ABA-1 test grubunda her üç formdaki ABA değerleri kontrole göre bir artma göstererek, dişiler için sırasıyla 1,39 µg/ml, 0,12 µg/ml ve 1,51 µg/ml'ye ulaşırken, erkekler için sırasıyla 1,34 µg/ml, 0,11 µg/ml ve 1,45 µg/ml'ye ulaşmıştır. ABA-2 test grubunda ise, serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları hem dişilerde ve hem de erkeklerde kontrol ve ABA-1 test gruplarındaki değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Dişilerde serbest-ABA miktarı 1,62 µg/ml, bağlı-ABA miktarı 0,21 µg/ml ve toplam -ABA miktarı 1,83 µg/ml iken, erkeklerde ise sırasıyla 1,57 µg/ml, 0,21 µg/ml ve 1,78 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları bakımından kontrol test grubu ile ABA-1 ve ABA-2 test grupları ve ABA-1 ile ABA-2 test grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.001). Grup içi dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının karşılaştırılması yapıldığında, kontrol test grubu bireylerinde farklılıklar önemli bulunmamıştır. ABA-1 ve ABA-2 test gruplarında ise bağlı-ABA değerleri arasındaki farklılık önemli bulunmazken, serbest- ve toplam-ABA değerleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.02).



Şekil 3.1. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.



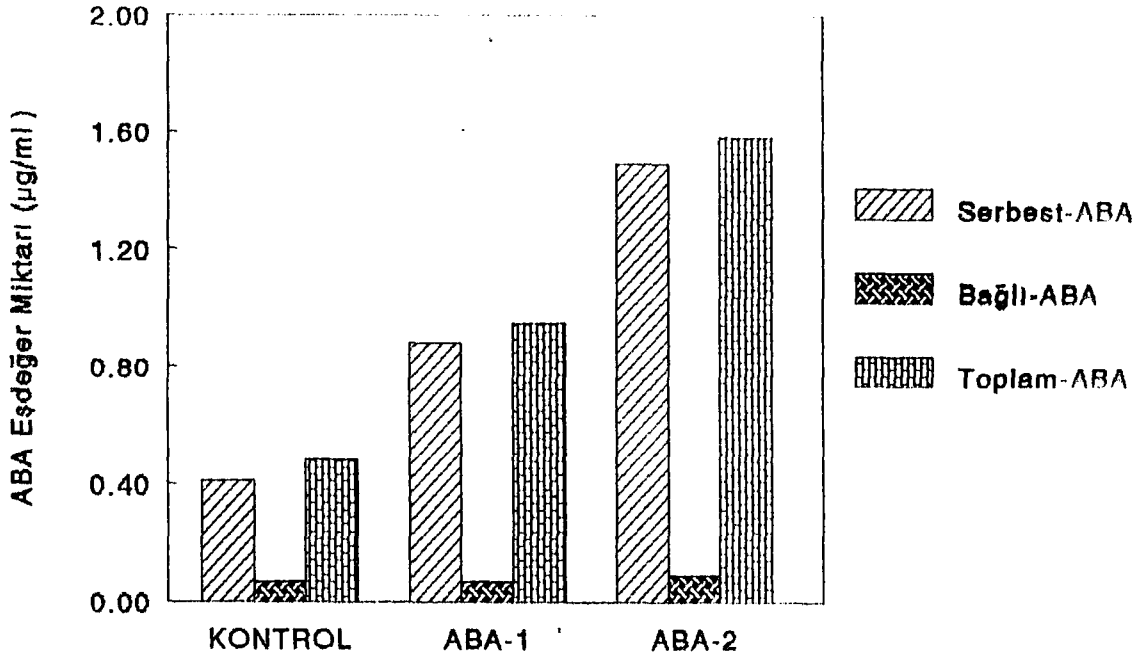
Şekil 3.2. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.

### 3.2.2. Böbrek dokusunda

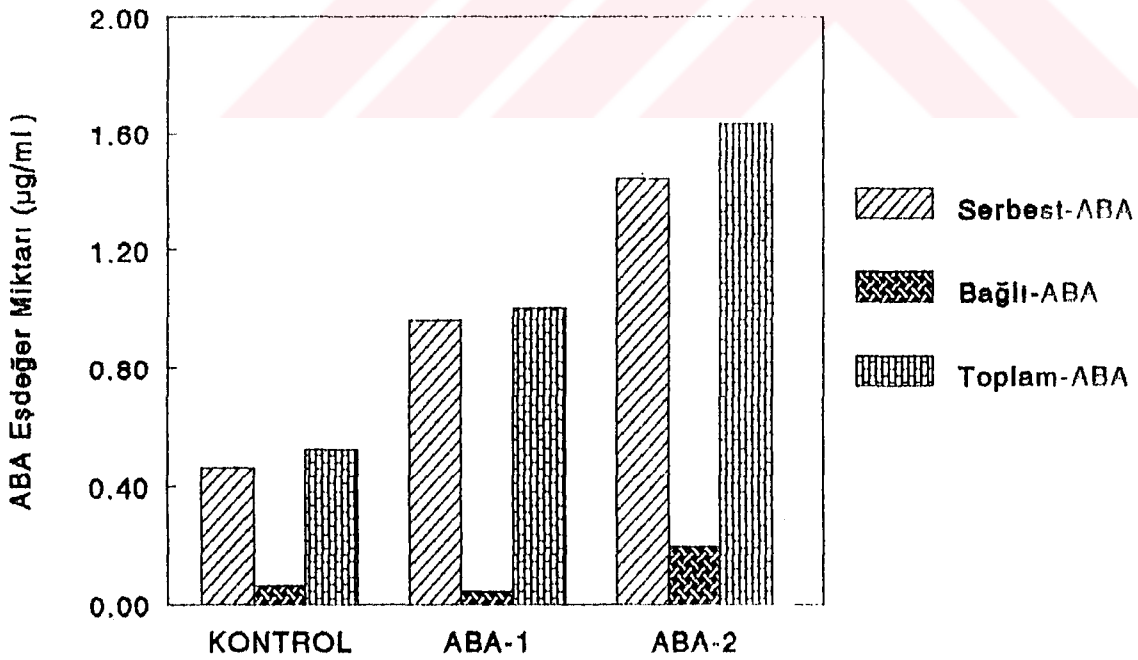
Tablo 3.2 ve Şekil 3.3 ve 3.4 incelendiğinde, kontrol test grubu dişi F<sub>1</sub> bireylerinde serbest-ABA miktarı 0,41 µg/ml, bağlı-ABA miktarı 0.07 µg/ml ve toplam-ABA miktarı 0,48 µg/ml iken, erkek F<sub>1</sub> bireylerinde her üç formdaki ABA değerlerinin sırasıyla 0,46 µg/ml, 0,06 µg/ml ve 0,52 µg/ml olduğu görülmektedir. ABA-1 test grubunun dişi ve erkeklerinde hem serbest-ABA ve hem de toplam-ABA miktarları kontrole göre bir artma gösterirken, bağlı-ABA miktarı dişilerde sabit kalmış erkeklerde ise oldukça az miktarda azalma göstermiştir (Tablo 3.2). ABA-2 test grubunda ise hem dişi ve hem de erkek farelerde her üç formdaki ABA miktarları, kontrol ve ABA-1 test gruplarındaki değerlerinin oldukça üzerinde bulunmuştur. Bu grubun dişilerinde serbest-ABA miktarı 1,49 µg/ml, bağlı-ABA miktarı 0,09 µg/ml ve toplam-ABA miktarı 1,58 µg/ml iken, erkeklerinde ise sırasıyla 1,44 µg/ml, 0,19 µg/ml ve 1,63 µg/ml olarak saptanmıştır (Tablo 3.2).

Bu verilere dayanılarak yapılan istatistiksel analiz sonuçlarında, serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları bakımından, kontrol test grubu ile ABA-1 ve ABA-2 test grupları ve ABA-1 ile ABA-2 test grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Grup içi dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, kontrol test grubunda bağlı- ve toplam-ABA değerleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmazken, serbest-ABA değerleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ( $p < 0.02$ ). ABA-1 test grubunda dişi ve erkek bireyler arasında bağlı-ABA değerleri bakımından fark önemli bulunmazken, serbest- ve toplam-ABA değerleri bakımından farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). ABA-2 test grubunda ise, serbest-ABA değerleri arasındaki fark önemli bulunmazken, bağlı- ve toplam-ABA değerleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ).





Şekil 3.3. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi F<sub>1</sub> bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.

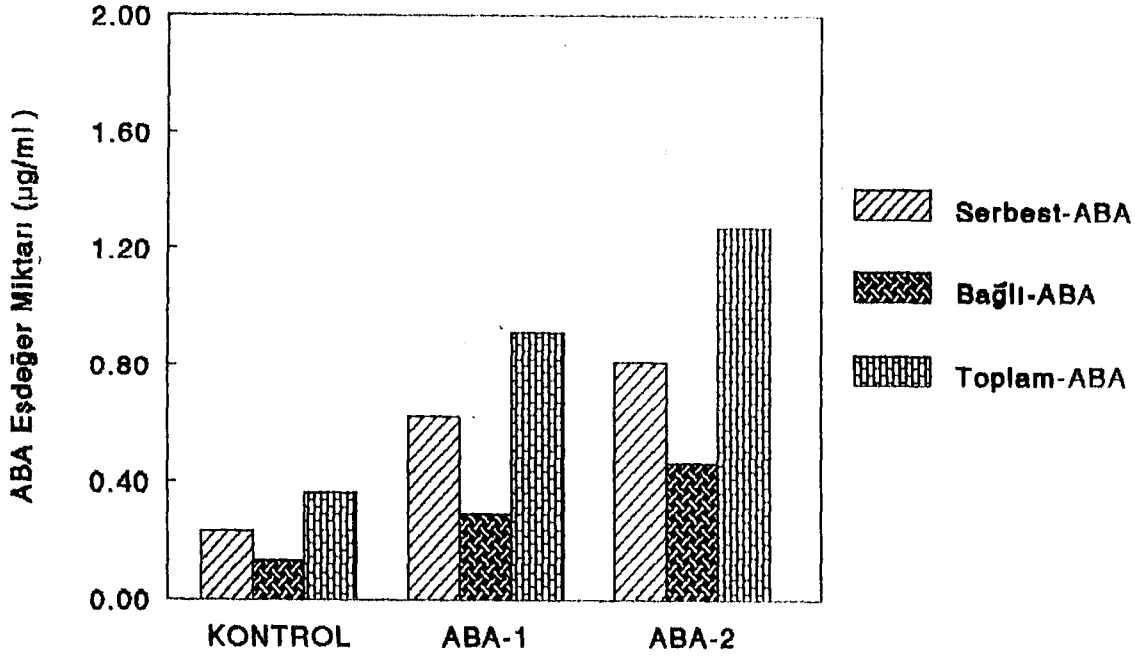


Şekil 3.4. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları erkek F<sub>1</sub> bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.

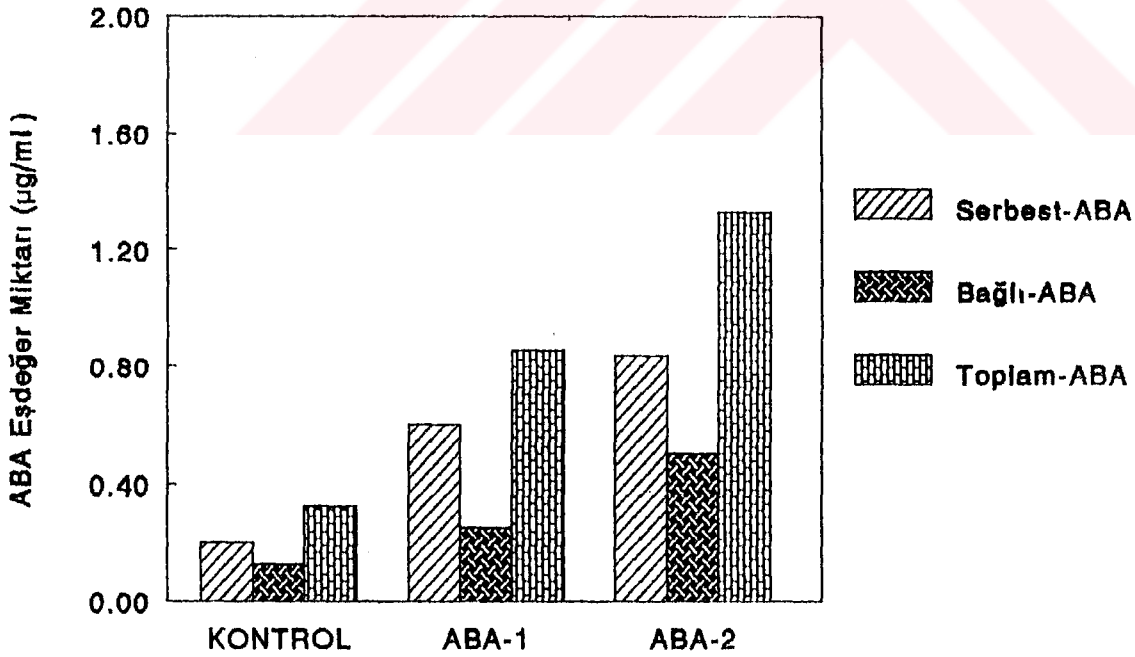
### 3.2.3. Beyin dokusunda

Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin beyin dokusunda serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları incelendiğinde (Tablo 3.2 ve Şekil 3.5 ve 3.6), her üç formdaki ABA miktarlarının ABA-1 test grubunda kontrole göre, ABA-2 test grubunda ise hem kontrole ve hem de ABA-1 test grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğu gürmektedir. En yüksek ABA değerlerinin bulunduğu ABA-2 test grubu dişilerinde serbest-, bağlı- ve toplam- ABA miktarları sırasıyla 0,81 µg/ml, 0,46 µg/ml ve 1,27 µg/ml erkeklerinde ise sırasıyla 0,83 µg/ml, 0,50 µg/ml ve 1,33 µg/ml'dir (Tablo 3.2).

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, serbest-, bağlı ve toplam- ABA miktarları bakımından, kontrol test grubu ile ABA-1 ve ABA-2 test grupları ve ABA-1 ile ABA-2 test grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Grup içi dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireyleri kendi aralarında her üç formdaki ABA değerleri bakımından karşılaştırıldığında, kontrol test grubundaki farklılıklar önemli bulunmamıştır. ABA-1 test grubunda bağlı- ve toplam-ABA değerleri arasındaki farklılıklar önemli bulunurken ( $p < 0.01$ ), serbest-ABA değerleri bakımından farklılık önemli bulunmamıştır. ABA-2 test grubunda ise, toplam-ABA değerleri arasındaki farklılık önemli bulunurken ( $p < 0.01$ ), serbest- ve bağlı-ABA değerleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmamıştır.



Şekil 3.5. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları dişi  $F_1$  bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.



Şekil 3.6. Kontrol, ABA-1 ve ABA-2 test grupları erkek  $F_1$  bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.

### 3.3. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 Test Grupları Dişi ve Erkek F<sub>1</sub> Bireylerinin Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Serbest-, Bağlı- ve Toplam-GA<sub>3</sub> Miktarlarının Değişimi

Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları, Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> eşdeğer miktarları (Ortalama  $\pm$  Standart Hata)

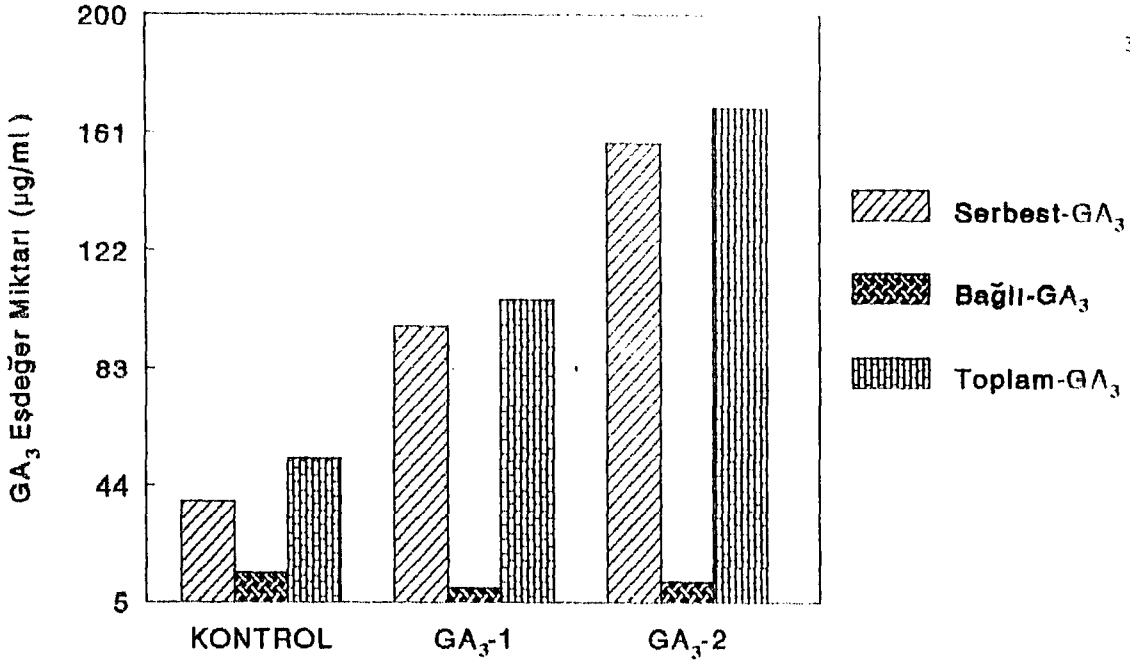
Test Grupları	GA <sub>3</sub> Formu	Eşey	GA <sub>3</sub> Eşdeğer Miktarı (µg/ml)		
			DOKULAR		
			Karaciğer $\bar{x}$ S <sub>x</sub>	Böbrek $\bar{x}$ S <sub>x</sub>	Beyin $\bar{x}$ S <sub>x</sub>
Kontrol ♀ <sub>n</sub> 12 ♂ <sub>n</sub> 8	Serbest-GA <sub>3</sub>	♀	38.38 $\pm$ 0.63	84.61 $\pm$ 1.48	43.11 $\pm$ 0.49
		♂	40.28 $\pm$ 0.89	84.83 $\pm$ 2.50	42.03 $\pm$ 0.78
	Bağlı-GA <sub>3</sub>	♀	14.34 $\pm$ 0.72	25.20 $\pm$ 0.49	10.35 $\pm$ 0.42
		♂	18.57 $\pm$ 0.42	26.08 $\pm$ 3.66	7.56 $\pm$ 0.50
	Toplam-GA <sub>3</sub>	♀	52.72 $\pm$ 0.52	109.81 $\pm$ 1.25	53.46 $\pm$ 0.39
		♂	58.85 $\pm$ 0.79	110.91 $\pm$ 5.55	49.59 $\pm$ 0.87
GA <sub>3</sub> -1 ♀ <sub>n</sub> 7 ♂ <sub>n</sub> 8	Serbest-GA <sub>3</sub>	♀	95.94 $\pm$ 1.05	135.68 $\pm$ 1.34	47.07 $\pm$ 0.94
		♂	100.01 $\pm$ 0.60	118.19 $\pm$ 1.35	68.58 $\pm$ 1.63
	Bağlı-GA <sub>3</sub>	♀	9.31 $\pm$ 0.35	36.64 $\pm$ 0.75	37.55 $\pm$ 0.45
		♂	11.18 $\pm$ 0.50	47.60 $\pm$ 0.89	18.47 $\pm$ 0.45
	Toplam-GA <sub>3</sub>	♀	105.25 $\pm$ 0.89	172.32 $\pm$ 1.79	84.62 $\pm$ 0.96
		♂	111.19 $\pm$ 1.03	165.79 $\pm$ 1.46	87.05 $\pm$ 1.71
GA <sub>3</sub> -2 ♀ <sub>n</sub> 5 ♂ <sub>n</sub> 9	Serbest-GA <sub>3</sub>	♀	157.39 $\pm$ 1.39	255.18 $\pm$ 2.68	80.51 $\pm$ 1.15
		♂	159.75 $\pm$ 1.28	266.08 $\pm$ 3.95	66.46 $\pm$ 1.27
	Bağlı-GA <sub>3</sub>	♀	11.68 $\pm$ 0.71	48.54 $\pm$ 1.66	30.00 $\pm$ 0.77
		♂	14.47 $\pm$ 0.48	41.76 $\pm$ 0.97	47.43 $\pm$ 0.44
	Toplam-GA <sub>3</sub>	♀	169.07 $\pm$ 2.05	303.72 $\pm$ 3.25	110.51 $\pm$ 1.55
		♂	174.22 $\pm$ 1.09	307.83 $\pm$ 3.96	113.89 $\pm$ 1.18

$\bar{x}$ : Aritmetik Ortalama S<sub>x</sub>: Standart Hata n: F<sub>1</sub> Birey Sayısı

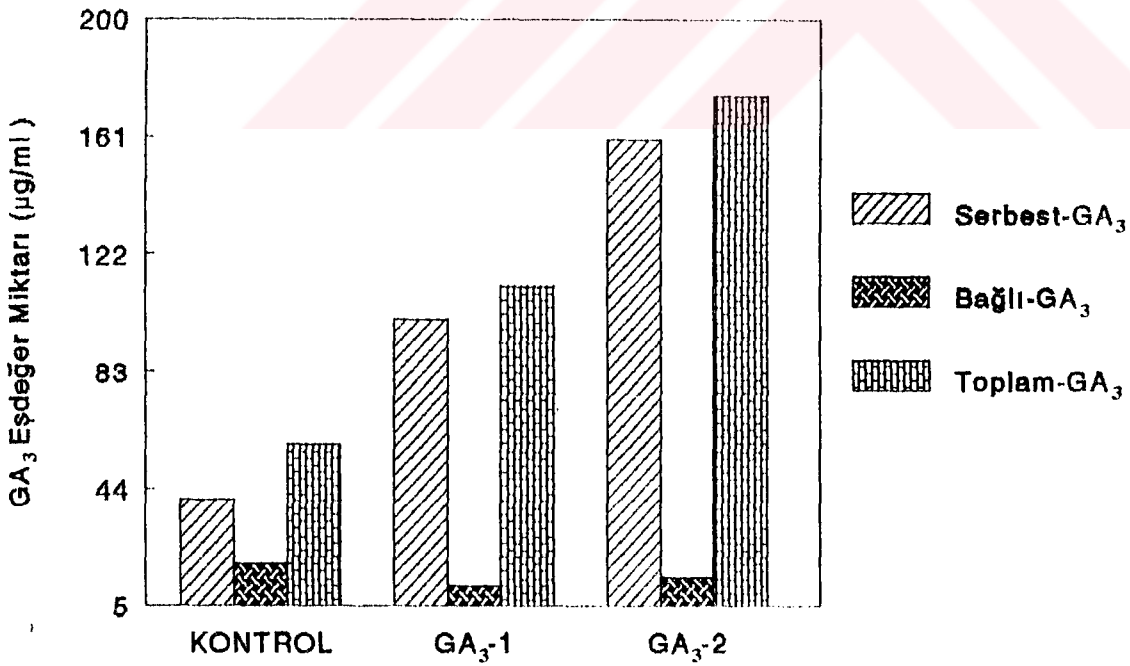
### 3.3.1. Karaciğer dokusunda

Tablo 3.3 ve Şekil 3.7 ve 3.8’de görüldüğü gibi, kontrol test grubu F<sub>1</sub> dölü dişi farelerde serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları, sırasıyla 38,38 µg/ml, 14,34 µg/ml ve 52,72 µg/ml, erkeklerde ise sırasıyla 40,28 µg/ml, 18,57 µg/ml ve 58,85 µg/ml olarak saptanmıştır. GA<sub>3</sub>-1 test grubu dişi ve erkeklerinde hem serbest-GA<sub>3</sub> ve hem de toplam-GA<sub>3</sub> miktarları kontroldaki değerlerine göre belirgin bir artış gösterirken, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarında bir azalma gözlenmiştir. GA<sub>3</sub>-1 test grubu dişilerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları sırasıyla, 95,94 µg/ml, 9,31 µg/ml ve 105,25 µg/ml iken, erkeklerinde bu değerler yine sırasıyla 100,01 µg/ml, 11,18 µg/ml ve 111,19 µg/ml olarak belirlenmiştir. GA<sub>3</sub>-2 test grubunun dişi ve erkeklerinde ise serbest- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları hem kontrol ve hem de GA<sub>3</sub>-1 test gruplarına göre belirgin bir artış gösterirken, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarları GA<sub>3</sub>-1 test grubuna göre bir artma göstermiş ancak, kontrol test grubundaki düzeylerine ulaşamamıştır (Tablo 3.3). GA<sub>3</sub>-2 test grubunun dişilerinde serbest-GA<sub>3</sub> miktarı 157,39 µg/ml, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarı 11,68 µg/ml ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarı 169,07 µg/ml iken, erkeklerinde bu değerler sırasıyla 159,75 µg/ml, 14,47 µg/ml ve 174,22 µg/ml olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, gruplar arasında dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından, kontrol test grubu ile GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları ve GA<sub>3</sub>-1 ile GA<sub>3</sub>-2 test grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.001). Grup içi dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireyleri karşılaştırıldığında; kontrol test grubunda serbest-GA<sub>3</sub> miktarındaki farklılık önemli bulunmazken, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.01). GA<sub>3</sub>-1 test grubunda serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.02). GA<sub>3</sub>-2 test grubunda serbest-GA<sub>3</sub> miktarındaki farklılık önemli bulunmazken, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.01).



Şekil 3.7. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi.

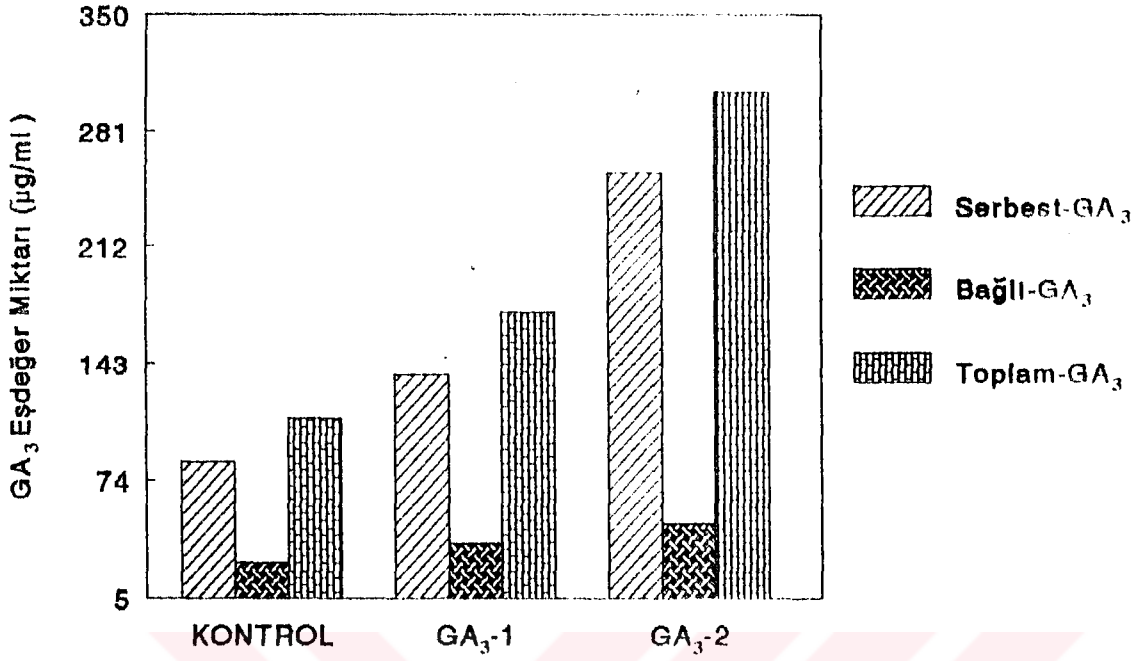


Şekil 3.8. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi.

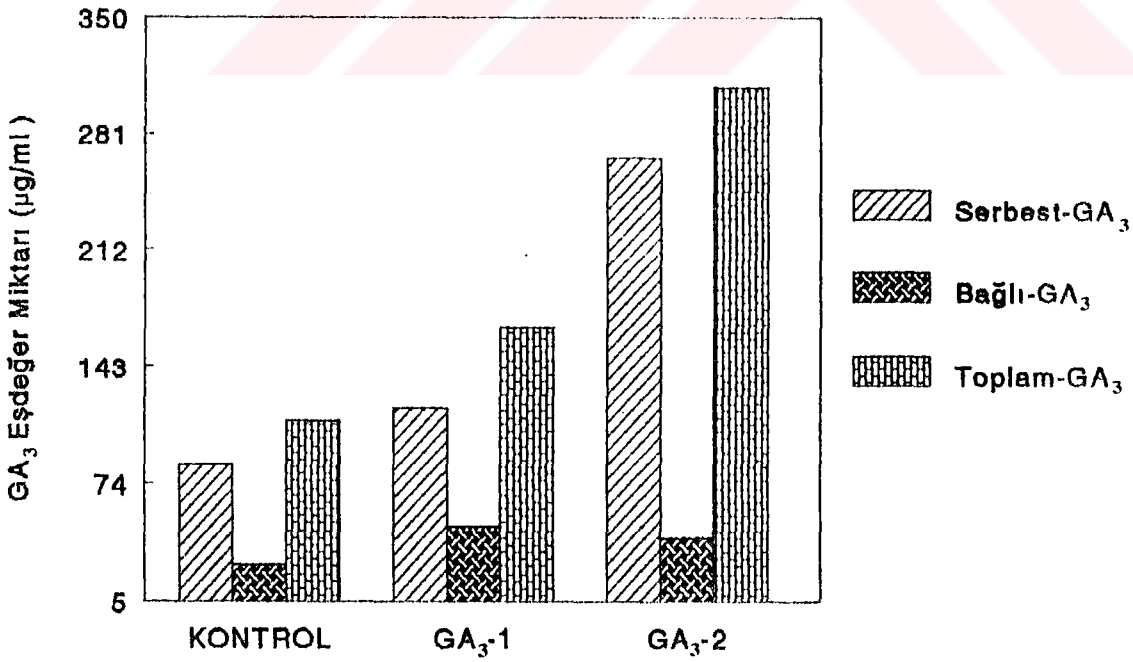
### 3.3.2. Böbrek dokusunda

Tablo 3.3 ve Şekil 3.9 ve 3.10 incelendiğinde, kontrol test grubu dişi F<sub>1</sub> bireylerinde serbest-GA<sub>3</sub> miktarı 84,61 µg/ml, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarı 25,20 µg/ml ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarı 109,81 µg/ml iken, erkek F<sub>1</sub> bireylerinde GA<sub>3</sub> miktarlarının sırasıyla 84,83 µg/ml, 26,08 µg/ml ve 110,91 µg/ml olduğu görülmektedir. GA<sub>3-1</sub> test grubunun dişi ve erkeklerinde her üç formdaki GA<sub>3</sub> miktarlarında kontrol test grubuna göre belirgin bir artış gözlenmiş ve elde edilen değerler dişilerde sırasıyla 135,68 µg/ml, 36,64 µg/ml ve 172,32 µg/ml, erkeklerde ise 118,19 µg/ml, 47,6 µg/ml ve 165,79 µg/ml olarak bulunmuştur. GA<sub>3-2</sub> test grubunun erkek ve dişilerinde serbest-GA<sub>3</sub> ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları GA<sub>3-1</sub> test grubuna göre artma gösterirken, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarları dişilerde artma, erkeklerde ise azalma göstermiştir. Ancak, yine de erkeklerdeki bağlı-GA<sub>3</sub> düzeyi kontroldaki değerinden yüksek bulunmuştur (Tablo 3.3). GA<sub>3-2</sub> test grubunun dişilerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları sırasıyla 255,18 µg/ml, 48,54 µg/ml ve 303,72 µg/ml, erkeklerde ise 266,08 µg/ml, 41,76 µg/ml ve 307,83 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Bu verilere dayanarak yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, gruplar arası dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından, kontrol test grubu ile GA<sub>3-1</sub> ve GA<sub>3-2</sub> test grupları ve GA<sub>3-1</sub> ile GA<sub>3-2</sub> test grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.001). Grup içi dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireyleri karşılaştırıldığında, GA<sub>3-1</sub> test grubunda serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.03). Kontrol ve GA<sub>3-2</sub> test gruplarında ise serbest- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından farklılıklar önemli bulunmazken, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarı bakımından farklılık önemli bulunmuştur (p<0.04).



Şekil 3.9. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi F<sub>1</sub> bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi.



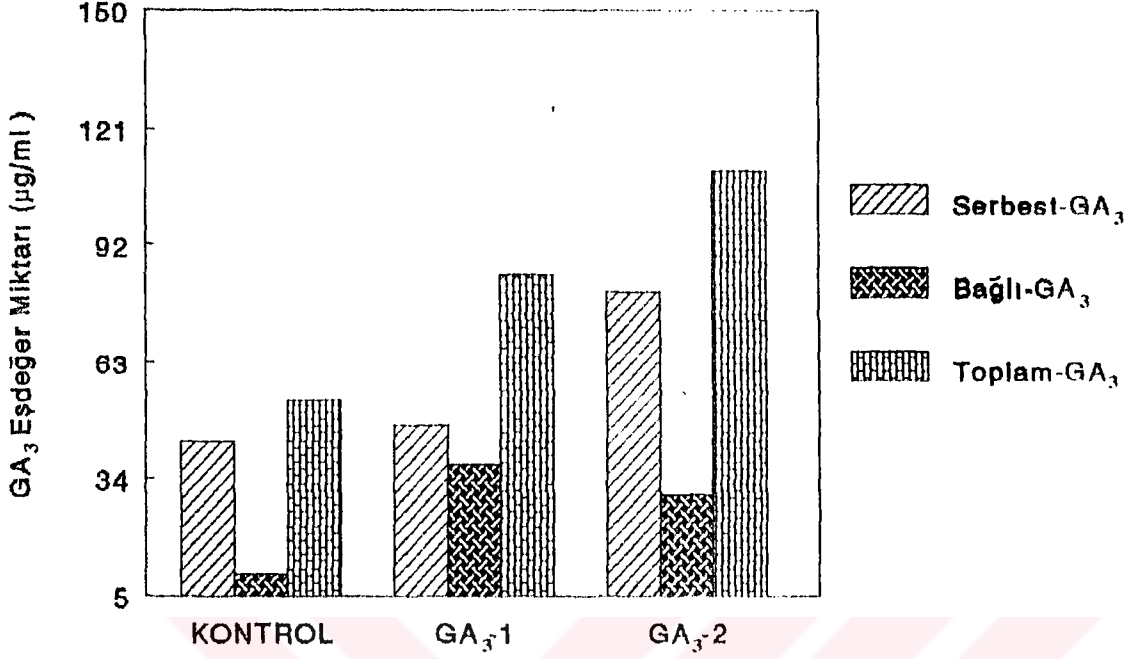
Şekil 3.10. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları erkek F<sub>1</sub> bireylerinin böbrek dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi.



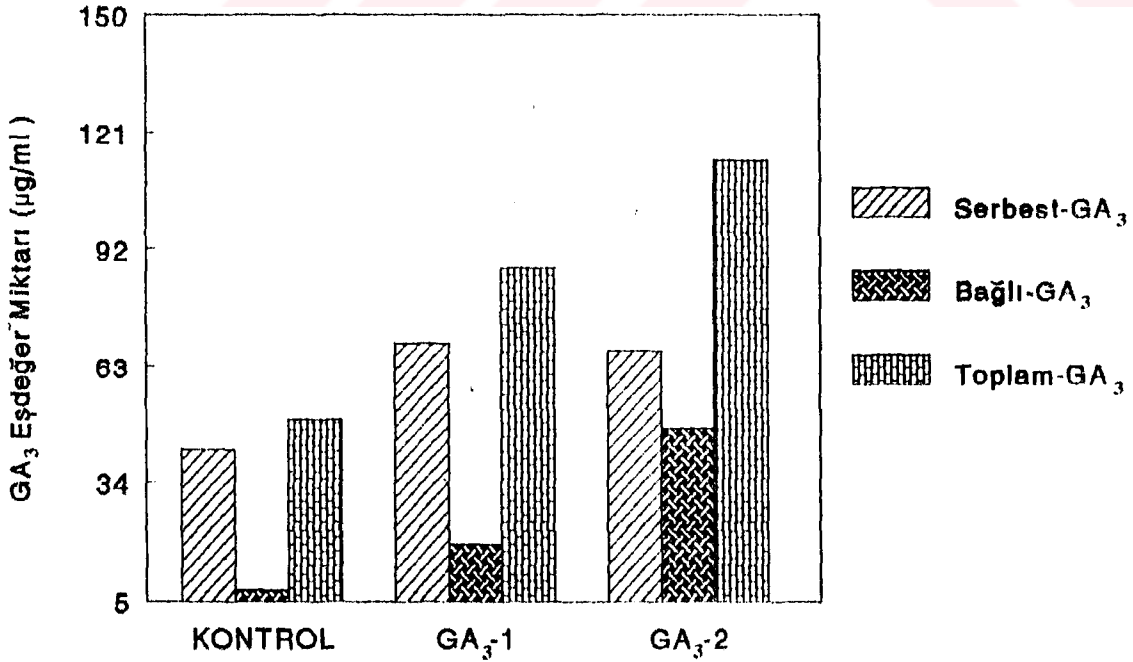
### 3.3.3. Beyin dokusunda

Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin beyin dokusunda serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları incelendiğinde (Tablo 3.3 ve Şekil 3.11 ve 3.12), kontrol test grubu dişi farelerde her üç formdaki GA<sub>3</sub> miktarları sırasıyla 43,11 µg/ml, 10,35 µg/ml ve 53,46 µg/ml bulunurken, erkek farelerde sırasıyla 42,03 µg/ml, 7,56 µg/ml ve 49,59 µg/ml'dir. GA<sub>3</sub>-1 test grubu dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinde her üç formdaki GA<sub>3</sub> miktarlarının kontroldaki değerlerine göre arttığı, GA<sub>3</sub>-2 test grubu bireylerinde ise GA<sub>3</sub>-1'e göre dişilerde serbest- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları artarken, bağlı-GA<sub>3</sub> miktarının azaldığı saptanmıştır. Ancak, yine de bağlı-GA<sub>3</sub> miktarı kontrol değerinin üzerinde bulunmuştur. Erkeklerde ise serbest-GA<sub>3</sub> miktarı, kontrol değerinin üzerinde olacak şekilde azda olsa bir azalma gösterirken, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarında belirgin bir artma gözlenmiştir (Tablo 3.3 ve Şekil 3.11 ve 3.12).

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, gruplar arası dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinde serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından, kontrol test grubu ile GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları ve GA<sub>3</sub>-1 ile GA<sub>3</sub>-2 test grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0,001). Grup içi dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireyleri karşılaştırıldığında, kontrol test grubunda serbest-GA<sub>3</sub> miktarı bakımından farklılık önemli bulunmazken, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından farklılıklar önemli bulunmuştur (p<0.01). GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test gruplarında, serbest- ve bağlı-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından farklılıklar önemli bulunurken (p<0.01), toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından farklılıklar önemli bulunmamıştır.



Şekil 3.11. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi F<sub>1</sub> bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi.



Şekil 3.12. Kontrol, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları erkek F<sub>1</sub> bireylerinin beyin dokularında serbest-, bağlı- ve toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının değişimi.

#### 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Kontrol, ABA-1, ABA-2, GA<sub>3</sub>-1 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ABA ve GA<sub>3</sub> birikimine ilişkin bu çalışmada, bulgularımıza göre (Tablo 3.2 ve 3.3), kontrol test grubuna ait hem dişi hem de erkek farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ABA ve GA<sub>3</sub> birikiminin olduğu anlaşılmaktadır. Bunun nedeninin farelerin beslendiği normal diyetin ABA ve GA<sub>3</sub> (Tablo 3.1) içermesinden dolayı olabileceğini söyleyebiliriz. Çünkü, ABA ve GA<sub>3</sub>'ün yüksek bitkilerde sentezlendiği, çok sayıda çeşitli bitkilerin yaprakları, gövdeleri, tohum kabukları, tomurcukları, endospermeleri, rizomları, tuberleri ve meyvelerinde yüksek miktarlarda bulunduğu bilinmektedir (Topcuoğlu 1987, Palavan-Ünsal 1993). Tablo 3.1'den görülebileceği gibi, normal fare diyetinde serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları sırasıyla 9,78 µg/ml, 0,78 µg/ml ve 10,58 µg/ml iken, her üç formdaki GA<sub>3</sub> miktarları ise sırasıyla 1312,57 µg/ml, 14,52 µg/ml ve 1327,09 µg/ml'dir.

Kontrol test grubunda dişi farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında toplam-ABA miktarları sırasıyla 1,13 µg/ml, 0,48 µg/ml ve 0,36 µg/ml iken, erkek farelerde ise toplam-ABA miktarları sırasıyla 1,10 µg/ml, 0,52 µg/ml ve 0,32 µg/ml olarak bulunmuştur. Toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından, dişi farelerin dokularında sırasıyla 52,72 µg/ml, 109,81 µg/ml ve 53,46 µg/ml, erkek farelerde ise sırasıyla 58,85 µg/ml, 110,91 µg/ml ve 49,59 µg/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 3.2 ve 3.3). Bu değerlere göre, kontrol test grubu karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki toplam-ABA miktarları bakımından dişi ve erkek fareler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bulgularımıza göre kontrol grubunda toplam-ABA bakımından hem dişi ve hem de erkek farelerde en az ABA birikiminin beyin dokusunda, en fazla ABA birikiminin ise karaciğer dokusunda olduğu anlaşılmaktadır. Dokularda GA<sub>3</sub> birikimi ele alındığında (Tablo 3.3), kontrol test grubu hem dişi ve hem de erkek farelerde toplam-GA<sub>3</sub> değerleri bakımından karaciğer ve

beyin dokularında farklılıkların önemli olduğu saptanırken ( $p < 0.01$ ), böbrek dokusundaki farklılığın önemli olmadığı belirlenmiştir. Bulgularımıza göre kontrol test grubunda toplam- $GA_3$  bakımından dişi farelerde en az  $GA_3$  birikimi karaciğer dokusunda, en yüksek  $GA_3$  birikimi böbrek dokusunda, erkek farelerde ise en az  $GA_3$  birikimi beyin dokusunda, en yüksek  $GA_3$  birikimi dişilerde olduğu gibi yine böbrek dokusunda saptanmıştır.

Kontrol grubu fare dokularında ABA birikimi ile ilgili bulgumuz, Le Page-Degivry ve ark. (1986) ve Chen ve ark. (1988) tarafından da desteklenmektedir. Bu araştırmacılar tarafından domuz, sıçan, sığır, koyun ve sincap'da ABA'nın varlığı gösterilmiştir. Le Page-Degivry ve ark. (1986) tarafından yapılan çalışmada, tahıl bitkilerine ait diyetle beslenen sıçanların beyin dokusunda ABA miktarı 248 ng/100g taze ağırlık olarak saptanırken, sentetik diyetle beslenen sıçanların beyin dokusunda ABA miktarı 429 ng/100 g taze ağırlık olarak bulunmuştur. Bu da bize, hayvan dokularında ABA ve diğer bitki büyüme maddeleri miktarlarının beslenme çeşidine bağlı olarak değişebileceği fikrini vermektedir. Yine bu çalışmada, domuzlarda ABA miktarları beyin dokusunda 180 ng/100 g taze ağırlık, karaciğer dokusunda 57 ng/100 g taze ağırlık, böbrek dokusunda 37 ng/100 g taze ağırlık, çalışmamızdan farklı olarak akciğer dokusunda 27 ng/100 g taze ağırlık, kalp dokusunda ise 13,00 ng/100 g taze ağırlık olarak belirlenmiştir. Domuz dokularındaki ABA değerleri incelendiğinde, ABA miktarı en yüksek beyin dokusunda saptanırken, daha sonra sırasıyla karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp dokularında belirlenmiştir. Çalışmamızda ise, kontrol test grubu farelerin dişi ve erkek  $F_1$  bireylerinde toplam-ABA miktarı en yüksek karaciğer, daha sonra böbrek ve en az beyin dokularında bulunmuştur. Bu iki çalışmanın bulgularına göre, ABA birikimi bakımından doku sıralamasındaki farklılığın çalışmalarda kullanılan materyal çeşitliliğinden ve deneysel metodlardan dolayı olduğunu söyleyebiliriz. Bu düşüncemiz Chen ve ark. (1988) tarafından da desteklenmektedir. Konuyla ilgili olarak, Chen ve arkadaşlarının (1988) yapmış oldukları çalışmada sığır, koyun, sıçan ve domuzların beyin dokularında ABA miktarları incelendiğinde, sırasıyla 13,3 ng/100 g taze ağırlık, 15,4 ng/100 g taze ağırlık, 617 ng/100 g taze ağırlık ve 429 ng/100 g taze ağırlık, 180 ng/100 g taze ağırlık'tır. Ayrıca, bu çalışmada kış uykusundaki sincapların ve yaz dönemindeki

aktif sincapların beyin dokularında da ABA miktar tayini yapılmış ve sırasıyla 230 ng/100g taze ağırlık, 237 ng/100 g taze ağırlık olarak önemli olmayan farklılıklar saptanmıştır. Bu da bize, hayvanların dokularında önemli olmasada ABA ve diğer bitki büyüme maddeleri miktarlarının farklı yaşam dönemlerine bağlı olarak değişebileceğini ifade etmektedir. Memelilerin merkezi sinir sisteminde ABA'nın orijini halâ belirsiz iken, Le Page-Degivry ve ark. (1986) tarafından domuz ve sıçanların merkezi sinir sisteminde ABA'nın varlığı gösterilmiştir. Diğer taraftan, Mann (1978)'e göre (Chen 1988), hayvanlardaki terpenoid moleküllerin varlığı genellikle onların besinlerindeki doğal ürünlere bağlanmaktadır. Bununla ilgili olarak, ABA'nın bir sesquiterpenoid olduğu akla getirilmelidir. Bu da, besinlerdeki ABA'nın hayvan dokularında birikebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, ABA hem serbest ve hem de bağlı formlarda tayin edilmiştir (Tablo 3.1 ve 3.2). ABA'nın yüksek bitkilerde ve mantarlarda olduğu gibi, fare dokularında bağlı formlarda bulunuşu başka araştırmacılar (Le Page-Degivry vd. 1986) tarafından da desteklenmektedir. Bu araştırmacılar, domuz ve sıçanların merkezi sinir sisteminde ABA'nın varlığını gösterdikleri çalışmalarında, beyinde bağlı-ABA'nın varlığını belirlemişlerdir.

Yine bulgularımıza göre (Tablo 3.2 ve 3.3), ABA-1 ve GA<sub>3</sub>-1 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında toplam-ABA ve -GA<sub>3</sub> miktarları kontroldaki değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu durum, hayvanların içme sularına eklenerek uygulanan ABA ve GA<sub>3</sub>'ün de (100 µg/L) çok düşük düzeylerde de olsa farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında birikimini akla getirmektedir. Tablo 3.2 incelendiğinde, ABA-1 test grubu dişi farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında toplam-ABA miktarlarının sırasıyla 1,51 µg/ml, 0,95 µg/ml ve 0,91 µg/ml, erkek farelerde ise sırasıyla 1,45 µg/ml, 1,00 µg/ml ve 0,85 µg/ml olduğu görülmektedir. Bu değerlere göre, bu test grubu dişi ve erkeklerinde de kontrol test grubunda olduğu gibi, ABA birikiminin en az beyinde, daha sonra böbrekte ve en fazla karaciğerde olduğu anlaşılmıştır. Yine, her üç dokuda da toplam-ABA miktarları bakımından dişi ve erkek fareler arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p < 0.02$ ). GA<sub>3</sub>-1 test grubu dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında toplam-GA<sub>3</sub> miktarları incelendiğinde (Tablo 3.3), dişi farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında

toplam-GA<sub>3</sub> miktarlarının sırasıyla 105,25 µg/ml, 172,32 µg/ml ve 84,62 µg/ml, erkek farelerde ise sırasıyla 111,19 µg/ml, 165,79 µg/ml ve 87,05 µg/ml olduğu görülmektedir. Bu değerlere göre, bu test grubu dişi ve erkeklerinde GA<sub>3</sub> birikiminin en az beyinde, daha sonra karaciğerde ve en fazla böbrekte olduğu anlaşılmaktadır. Karaciğer ve böbrek dokularında toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından dişi ve erkek fareler arasındaki farklılıklar önemli bulunurken ( $p < 0.03$ ), beyin dokularındaki farklılık önemli bulunmamıştır.

Araştırmanın sonuçlarına göre, ABA-2 ve GA<sub>3</sub>-2 test grupları dişi ve erkek F<sub>1</sub> bireylerinin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında toplam-ABA ve -GA<sub>3</sub> miktarlarının, kontrol, ABA-1 ve GA<sub>3</sub>-1 test gruplarındaki değerlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.001$ ) (Tablo 3.2 ve 3.3). Bu da, ABA-1 ve GA<sub>3</sub>-1 test gruplarında olduğu gibi, bu test gruplarında da hayvanlara uygulanan ABA ve GA<sub>3</sub>'ün yine çok düşük düzeylerde de olsa farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında birikimini düşündürmektedir. Tablo 3.2 incelendiğinde bu test grubunda da ABA birikiminin kontrol ve ABA-1 test gruplarında olduğu gibi yine en az beyinde daha sonra böbrekte ve en fazla karaciğerde olduğu görülmektedir. Her üç dokuda da toplam-ABA miktarları bakımından, dişi ve erkek fareler arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$  ve  $p < 0.02$ ). GA<sub>3</sub>-2 test grubu dişi ve erkeklerinde ise, GA<sub>3</sub> birikiminin GA<sub>3</sub>-1 test grubunda olduğu gibi yine en az beyinde daha sonra karaciğerde ve en fazla böbrekte olduğu saptanmıştır (Tablo 3.3). Toplam-GA<sub>3</sub> miktarları bakımından, karaciğer dokusunda dişi ve erkek fareler arasındaki farklılık önemli bulunurken ( $p < 0.01$ ), beyin ve böbrek dokularındaki farklılıklar önemsiz bulunmuştur. Hem ABA ve hem de GA<sub>3</sub> miktarlarının beyin dokusunda en az seviyede bulunmasına, beyin dokusundaki kan-beyin seddinin etkili olabileceği düşünülmektedir. Çünkü lipidlerde eriyen maddeler ve asit (H<sup>+</sup>) ve baz (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) iyonları kan-beyin seddini kolayca geçemezler. Fakat beyinde bazı küçük bölgelerde bu sed mevcut değildir (Örneğin, hipofiz bezinde, pineal bezde, hipotalamusun bazı bölgelerinde). Buralardan kandaki hormonlar beyin dokusuna geçebilmektedir (Noyan 1989).

Günümüze kadar hayvan dokularında ABA birikimi rapor edilmesine karşın, GA<sub>3</sub>'ün birikimi konusunda daha önce yayınlanmış ve bulgularımızla

karşılaştırabileceğimiz bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz bulgular, Swiss-Albino farelerin (*Mus musculus L.*) karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ABA ve GA<sub>3</sub>'ün biriktiği inancını vermektedir. Yüksek bitki ve mantarlarda olduğu gibi, farelerin karaciğer, böbrek ve beyin dokularında ABA ve GA<sub>3</sub>'ün serbest formlarından başka bağlı formlarının varlığından da bahsedebiliriz.

Ayrıca, bitki büyüme maddelerinin tarımda yaygın olarak kullanıldığı ve hayvanlar özellikle insan üzerindeki potansiyel etkilerinin tartışma konusu olduğu günümüzde, canlılar üzerindeki etkilerinin açığa çıkarılmasına katkı getireceğine inandığımız birikimlerinin değişik deney hayvan gruplarında da çalışılması gereğine inanmaktayız.



**KAYNAKLAR**

Addicott, F.T.; and Lyon, J.L.: Physiology of Abscisic Acid and Related Substances, Ann. Rev. Plant Physiol, 20, 139-164 (1969).

Aksu Yem Sanayii Ltd. Şti., Piliç Geliştirme Yemi Analizi, Malatya Asfaltı Üzeri, Pazarcık.

Amdur, M.O.; Doull, J.; Klaassen, C.D.: Toxicology: The Basic Science of Poisons, Pergamon Press, New York, 1033 pp. (1991).

Ames, I.H.: The Influence of Cytokinins on Genetic Tumor Formation, Can. J. Bot., 50, 2235-2238 (1972).

Ames, I.H.; Hill, C.A.; Walton, D.C., Dashek, V., Hormonal Regulation of Genetic Tumor Induction; Cytokinin and Abscisic Acid, Plant Cell Physiol., 20 (6), 1055-1061, (1979).

Atsumi, S.; Hayashi, T.: The Relationship Between Auxin Concentration Auxin Protection and Auxin Destruction in Crown Gall Cells in Vitro Plant Cell Physiol., 19, 1391-1397, (1978).

Bağcı, H.: Tübitak Moleküler Biyoloji Yaz Okulu Kitabı, ODTÜ Basımevi, Sayfa 10-21,(1985).

Bozcuk, A.N.; Bozcuk. S.; Topcuoğlu, Ş.F.; Yeşilada, E.: Bitki Büyüme Regülatörlerinden Kinetin ve Absisik Asit'in *Drosophila melanogaster*'de Gelişme ve Yumurta Verimi Üzerine Etkisi, Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, TAEK 89/2, Ankara,(1992).



Carlisle, D.B.; Ellis, P.E.; Osborne, D.J.: Effects of Plant Growth Regulators on Locusts and Cotton Stainer Bugs. J. Sci. Fd. Agric. 20: 391-393,(1969).

Chen, F.S.C.; Mac Taggart, J.M.; Wang, L.C.H.; Westly, J.C.: Analysis of Abscisic Acid in The Brains of Rodents and Ruminants, Agric. Biol. Chem., 52 (5): 1273-1274,(1988).

Chilton, L.D.: Integration and Transcription of Ti Plasmid Fragments, In Molecular Biology of Plant Tumors, Academic Press. New York, 299-319, (1982).

Chrominski, A.; Visscher, S.N.; Jurenka, R.: Exposure to Ethylene Changes Nymphal Growth Rate and Female Longevity in The Grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. Naturwissenschaften, 69: 45-46 (1982).

Cihangir, N. ve Aksöz, N.: "*Aspergillus niger* Kültür Ortamından Elde Edilen Gibberellik Asitin Biyoaktifliğinin Saptanması" 17:4, 303-309,(1993).

Daniel W.Wayne: Biostatistics A Foundation For Analysis in The Health Sciences Fourth Edition. John Wiley and Sons p: 583-636 New York (1987).

Darnell, J.; Lodish, H.; Baltimore, D.: Molecular Cell Biology, W.H. Freeman Pub.; New York, pp. 797-710, (1986).

Devlin, M.M.: Plant Physiology, Ranhold Pub., New York, pp. 320-336,(1966).

Dörffling, K.: Recent Advances in Abscisic Acid Research, H. Kaldewey and Y. Vardar (Eds), Hormonal Regulation in Plant Growth and Development", Proc. Adv. Study Inst., İzmir, 1971, Verlag Chemie, Weinheim, 281-295 (1972).

Elkinawy, M.: "Hormonal Changes Associated With Leaf Senescence in Cotton (*Gossypium barbadense*), Physiol Plant., 62: 593-598, (1984).

El-Mofty, M.M.; Sakr, S.A.: Induction of Neoplasm in The Egyptian Toad by Gibberellin A3, *Oncology*, 45: 61-64, (1988)

Fairbrother, A., Yuill, T.M.; Olson, L.J.: Effects of Three Plant Growth Regulatots on The İmmune System of Young and Eged Deer Mice (*Peromyscus Maniculatus*), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 15: 265-275, (1986).

Gillard, D.F. and Walton, D.C.: Abscisic Acid Metabolism by a Cell-Free Preparation From *Echinocystis Lobsta* Liquid Endosperm, *Plant Physiol.*, 58, 790-795 (1976).

Heikki A. Elo and Pauli Ylitalo: Distribution of 2-Methyl-4-Chlorophenoxyacetic Acid and 2,4 Dichlophenoxyacetic Acid in Male Rats: Evidence For The Involvement of The Central Nervous System in The Toxicity, Toxicology and Applied Pharmacology 51, 439-446 (1979).

Hoad, G.V.: "Effect of Moisture Stress on Abscisic Acid Levels in (*Ricinus Communis L.*) With Porticular Reference to Phloem Exudate, *Planta*, 113, 367-372 (1973).

Hoad, G.V.: "Effect of Osmotic Stress on Abscisic Acid Levels in Xylem Sap of Sunflower (*Helianthus Annuus L.*)", *Planta*, 124, 25-29 (1975).

Hoad, G.V.: "Effects of Water Stress on Abscisic Acid Levels in White Lupin (*Lupinus Albus L.*)", Fruit, Leaves and Phloem Exudate" *Planto*, 142, 287-290, (1978).

Kaşka, N.: "Vişnelerde Büyümeyi Düzenleyici Maddeler Üzerine Araştırmalar", Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı", 1970, 20, Fasikül 3'den Ayrı Basım, 580-596 (1971).

- Kefeli, V.I.: Natural Plant Growth İnhibitörs and Phytohormones, Dr. W. Funkb. V. Publishers, The Hague, Boston, 7-263 (1978).
- Kimura, E.T.; Young, P.R.: Gibberellic Acid: Toxicological and Pharmacological Studies, J. Am. Pharm. Assoc., 41: 127-129,(1959).
- Koshimizu, K.; Kusaki, T. and Mitsu, T.: "Isolation of a Cytokinin, (-)-Dihydrozeatin, From İmmature Seeds of *Lupinus Luteus*, Tetrahedron Letters No: 14, 1317-1320 (1967).
- Le Page-Degivry, M.T.H.; Bidard, J.N.; Rouvier, E.; Bulard, C.; Lazdunski, M.: Presence of Abscisic Acid, A Phytohormone, In the Mammalian Brain, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83: 1155-1158,(1986).
- Loveys, B.R.: "The İntracellular Location of Abscisic Acid in Stressed and Non-Stressed Leaf Tissue", Physiol. Plant., 40, 6-10 (1977).
- Mace, M.E.: "Isolation and Identification of 3-Indole Acetic Acid From *Fusarium Oxysporum Fcubense*, Phytopathology, 55, 240-241 (1965).
- Martinez-Toledo, M.V.; Moreno, T.R.J. and Gonzalez-Lopez, J.: "Root Exudates of *Zea mays* and Production of Auxins, Gibberellins and Cytokinins by *Azotobacter Chroococcum*, Plant and Soil, 110, 149-152 (1988).
- Mert, H.H.: Tuzlu Koşullarda Pamuk Kùltürleri Tohumlarının İçsel ABA Seviyelerinin Araştırılması, 17:4, 201-205 (1993).
- Milborrow, B.V.: "The Metabolism of Abscisic Acid", J. Exp. Bot., 21, 17-29 (1970).

Milborrow, B.V.: The Chemistry and Physiol. of Absciscic Acid Ann. Rev. Plant. Physiol. 25, 259-307 (1974).

Mizrahi, Y., Blumenfeld, A., Bittner, S. and Richmond, A.E., "Absciscic Acid and Cytokinin Contentes of Leaves in Relation to Salinity and Realive Humidity", Plant Physiol., 48, 752-755 (1971).

Nandi, S.K.; Plan, L.M.S.; Letham, D.S.; Wong, O.C.: Identification of Cytokinins in Primary Crown Pall Tumours of Tomato, Plant. Cell and ,Environment, 12, 273-283, (1989).

Noyan, A.; Fizioloji Ders Kitabı, 6. Bask, 575-577 (1989), Ankara.

Palavan-Ünsal, N.: Bitki Büyüme Maddeleri, İ.Ü. Yayın No : 3677, Enstitü Yayın No: 4, İstanbul (1993).

Peck, H.M.; Mc Kenney, S.E.: Toxicologic Evolution of Gibberellic Acid, Science, 126: 1064-1065,(1957).

Percival, F.W. and Bandurski, R.S.:"Esters of Indole-3-Acetic Acid From Avena Seeds, Plant Physiol, 58, 60-67 (1976).

Phillips, I.D.J.: Introduction to The Biochemistry and Physiology of Plant Growth Hormones, Hill Book Company, 173 s. (1971).

Phillips, I.D.J.: A Rewiew on Theprinciples of Promotion and İnhibition of Growth in Plants, H. Kaldawey and Y. Vardar (Eds.), Hormonal Regulation in Plant Growth and Development, Proc. Adv. Study Inst., İzmir, 1971, Verlag Chemie, Weinheim, 1-17 (1972).

Powell, L.E. and Seeley, S.D.: The Metabolism of Absciscic Acid to a Water

Soluble Complex in Apple, J. Am. Soc. Hort. Sci., 99, 439-441 (1974).

Prakash, L. ve Prathapasenan, G.: "NaCl-and Gibberellic Acid-Induced Changes in The Content of Auxin and The Activities of Cellulase and Pectin Lyase During Leaf Growth in Rice (*Oryza Sativa*), Annals of Botany 65, 251-257 (1990).

Sakurai, N.; Akiyama, M. and Kuraishi, S.: "Roles of Absciscic Acid and İndolacetic Acid in The Stunted Growth of Water-Stressed, Etiolated Squash Hypocotyls", Plant Cell Physiol., 26, 1, 15-24 (1985)

Salisbury, F.B.; Ross, C.W.: Plant Physiology, Wadsworth Pub. Belmont, CA,(1992).

Setter, T.L.; Brun, W.A.: Absciscic Acid Translocation and Metabolism in Soybeans Following Depodding and Petiole Girdling Treatment, Plant Physiol., 67, 774-779 (1981).

Staden, J. V. and Nicholson, R.I.D.: "Cytokinins and Mango Flower Malformation II. The Cytokinin Complement Produced by Fusarium Moniliforme and The Ability of The Fungus to İncorporatu [ $8-^{14}\text{C}$ ] Adenine İnto Cytokinins, Physiological and Molecular Plant Pathology 35, 423-431 (1989).

Stonier, T.; Yong, H.: Studies on Auxin Protectors X. Protector Levels and Lignification in Sunflower Crown Gall Tissue, Physiol. Plant., 25, 474-481, (1971).

Tillberg, E.: "Levels of Indol-3yl-Acetic Acid and Acid Inhibitors in Green and Etiolated Bean Seedlings (*Phaseolus Vulgaris*), Physiol. Plant. 31: 106-111 (1974).

Topcuoğlu, Ő.F.: Tuz Stresi Koşulunda Büyütülen Ayçiçeği (*Helianthus Annuus L.*) Bitkisinde Yaşa Bağlı Olarak Absisik Asit (ABA) Seviyelerinin Değişimi, Doktora

Tezi, H.Ü. Fen Bil.Enst., Beytepe, Ankara,(1987).

Topcuoğlu, Ş.F.; Özmen, M.; Bozcuk, A.N.; Bozcuk, S.: Bitki Büyüme Maddelerinden Absisik asit (ABA) ve Gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'in Fare (*Mus musculus*) 'de Etkileri Üzerine Biyolojik Çalışmalar (Proje Raporu) Malatya (1994).

Ünyayar, S.: Bazı Funguslarda (*Phanerochaete Chrysosporium* ME 446 ve *Pleurotus Florida*) Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Absisik Asit Üretimi ve Büyüme ile İlişkisi, Yüksek Lisans Tezi İnönü Üniv. Fen Bil. Enst. Malatya (1990).

Üstün, H.; Tecimer, T.; Özmen, M.; Topcuoğlu, F.; Bozcuk, A.N.: Gibberellik Asit ve Benzpiren'in Fareler Üzerine Etkileri: Histopatolojik Değerlendirme, Ank., Patol., Bült., 9(1): 36-40,(1992).

Vardar, Y.: Bitki Fizyolojisi Dersleri II. E.Ü.Fen Fak. Kitaplar Serisi, No:69 Bornova, İzmir. (1983).

Visscher, S.N.: Regulation of Grasshopper Fecundity, Longevity and Egg Viability by Plant Growth Hormones. *Experientia*, 36: 130-131 (1980)

Visscher, S.N.: Plant Growth Hormones Affect Grasshopper Growth and Reproduction Proc. Sch. Int. symp. Insect-Plant Relationships. Wageningen. pp. 57-62 (1982)

Visscher, S.N.: Effects of Abscisic Acid in Animal Growth and Reproduction. In *Abscisic Acid*. P.T., Addicott (Ed.). Praeger Scientific. pp. 553-579. New York (1983 a).

Visscher, S.N.: Special Report Dietary Plant Growth Hormones Affects Insect Growth and Reproduction. In : Bull. Plant Growth Regulator Soc. of America, 4: 4-6 (1983 b).

Walton, D.C.; Dashek, W. and Galson, E.: A Radioimmunoassay For Abscisic Acid, *Planta*, 146, 139-145 (1979).

Walton, D.C.: Biochemistry and Physiology of Abscisic Acid, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31, 453-484 (1980).

Wareing, P.F and Phillips, I.D.J.: The Control of Growth and Differentiation in Plants, Pergamon Press, 232-254 (1970).

Weaver, R.J.: Plant Growth Substances in Agriculture, W.H., Freeman and Company, San Francisco, USA (1972).

Weiler, E.W.: Radioimmunoassay For The Differential and Direct Analysis of Free and Conjugated Abscisic Acid in Plant Extracts, *Planta*, 148, 262-272 (1980).

Weiler, E.W.; Jourdan, P.S. and Conrad, W.: "Levels of Indole-3-Acetic Acid in Intact and Decapitated Coleoptiles as Determined by a Specific and Highly Sensitive Solid-Phase Enzyme Immunoassay, *Planta* 153: 561-571 (1981).

Weiler, E.W.; Spanier, K.: Phytohormones in The Formation of Crown Gall Tumors, *Planta*, 153, 326-337, (1981).

Yücel, F.: Bitki Büyüme Regülatörü ABA'nın Karaçekirgede'de Gelişme, Fekondite ve Yumurta Açılımı Üzerine Etkileri, Y. Lisans Tezi, E.Ü. Fen. Bil. Enst., Bornova, İzmir,(1986).

Zeevaart, J.A.D.: Sites of Abscisic Acid Synthesis and Metabolism in *Ricinus Communis L.*, *Plant Physiol.*, 59, 788-791 (1977).

Zieslin, N.; Geller, Z.: "Studies With *Liatris Spicata* Willd. 1. Effect of Temperature on Sproutins, Flowering and Gibberellin Content, *Annals of Botany* 52, 849-853 (1983).

## ÖZGEÇMİŞ

01.04.1971 Kavaklıdere (Muğla) doğumluyum. İlk ve Orta Öğrenimimi İncirliova'da (Aydın) tamamladım. 1988 yılında İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girmeye hak kazandım, 1992 yılında Biyoloji Bölümünden mezun oldum. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsünün açmış olduğu yüksek lisans sınavını kazanarak yüksek lisans yapmaya başladım. 1993 yılından beri Eğitim Fakültesi Fen Bilimleri Eğitimi Biyoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

