

Eşim Ali ve oğlum Özel Göze'ye



29452

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Phanerochaete chrysosporium ME446'DA KÜLTÜR PERİYODUNA
BAĞLI OLARAK İNDOL-3-ASETİK ASİT (IAA), GİBBERELLİK ASİT
(GA₃), ABSİSİK ASİT (ABA) VE ZEATİN ÜRETİMİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ

SERPİL ÜNYAYAR

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA
1995

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

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

Başkan... Prof.Dr. Suna BOZCUK

Üye..... Doç.Dr. Hüsnü ÇAKIRLAR

Üye..... Doç.Dr. S.Fatih TOPCUOĞLU

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..05/07./ 1995

Prof. Dr. Eşref YÜKSEL

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın başından sonuna kadar planlanmasında, yürütülmesinde ve gerçekleşmesinde yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Danışman Hocam sayın Doç.Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU'na (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın başlangıcından itibaren bölüm olanaklarını sunan Sayın Prof. Dr. Eşref YÜKSEL'e (İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) teşekkür ederim. Çalışmam sırasında bilgi ve önerileri ile desteğini esirgemeyen Hocam Sayın Prof.Dr. Suna BOZCUK'a (Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi) ve Sayın Prof.Dr. Şener BALTEPE'ye (Fırat Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) teşekkür ederim.

Deney sonuçlarının istatistik analizlerinin yapılması sırasında büyük yardımlarını gördüğüm Sayın Dr. Çağatay ERTEN'e (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) ve Sayın Saygun KARBELAZ'a (Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi) teşekkür ederim. Çalışmam boyunca zaman zaman bilgilerinden yararlandığım Sayın Doç.Dr. Kayahan FIŞKIN'a ve Sayın Doç.Dr. Bayram YILDIZ'a (İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi) ve İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü elemanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca, Doktora çalışmamı destekleyen TÜBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu'na ve İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu Yönetim Kurulu'na teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında bana sabırla katlanan ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Ali ÜNYAYAR'a ve oğlum Özel Göze ÜNYAYAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Bu çalışmada, çalkalamalı inkübasyon ortamında stok bazal mineral (SBM) besiyerinde üretilen beyaz-çürükçül fungus **Phanerochaete chrysosporium ME446**'nın hem kültür ortamında ve hem de miselinde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- formlarda içsel indol-3-asetik asit (IAA), gibberellik asit (GA₃), absisik asit (ABA) ve zeatin miktarları ve fungus kuru misel ağırlığı (KMA) saptanmıştır. Ayrıca, bu fungal bitki büyüme maddelerinin biyolojik aktiviteleri incelenmiştir.

İçsel-IAA, -GA₃, -ABA ve -zeatin'in miktarlarının tayininde spektrofotometre tekniği, biyolojik aktivitelerinin tayininde ise IAA ve ABA için yulaf koleoptil büyüme testi, GA₃ için pirinç çimlendirme testi ve zeatin için klorofil miktar tayini testi kullanılmıştır.

Çalışmanın sonucunda, fungusun primer ya da sekonder bir metabolit olarak IAA, GA₃, ABA ve zeatin ürettiği, üretilen bu bitki büyüme maddelerinin ortak bir ekstraksiyon metodu ile elde edilebileceği ve bunlardan IAA, ABA ve zeatin'in tam, GA₃'ün ise kısmen bir biyolojik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Fungal-IAA, -GA₃, -ABA ve -zeatin miktarları, miseldeki değerlerine göre, kültür ortamında daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, IAA'nın maksimum absorpsiyon gösterdiği farklı iki dalga boyundan 280 nm'de 222 nm'ye göre daha yüksek değerlere sahip olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: **Phanerochaete chrysosporium ME446,**

Fungus, İndol-3-asetik asit (IAA),

Gibberellik asit (GA₃),

Absisik asit (ABA), Zeatin, Bitki

büyüme maddeleri

ABSTRACT

In the present study, the levels of endogenous forms of free-, bound- and total- Indole-3-acetic acid (IAA), Gibberellic acid (GA_3), Abscisic acid (ABA) and Zeatin in culture medium and mycelium and the changes in dry-weight of the mycelium which depends on the culture periods were examined by using white-rot fungus **Phanerochaete chrysosporium ME446** cultured in shaking culture. Also, the biological activities of plant growth regulators of fungus have been investigated.

The spectrophotometric techniques were used to determine the amounts of the endogenous IAA, GA_3 , ABA and zeatin. In the determination of biological activities of IAA and ABA oat coleoptile growth test, of GA_3 rice germination test and of zeatin amount of chlorophyll test were used.

At the end of this study, results show that this fungus synthesises IAA, GA_3 , ABA and zeatin as a primary and / or secondary metabolite which were obtained in the same extraction process. IAA, ABA and zeatin show full biological activation but GA_3 showed partial biological activation.

In the culture medium, amounts of IAA, GA_3 , ABA and zeatin in this fungus found to be high when compared with the mycelium values. Apart from this, among the two wave lengths (280 nm-222 nm) IAA showed maximum absorption, at 280 nm than 222 nm values.

Key Words: **Phanerochaete chrysosporium ME446**, Fungus,
Indole-3-acetic acid (IAA), Gibberellic acid,
Abscisic acid (ABA), Zeatin,
Plant growth regulators

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
1.1 Oksinlerden İndol-3-Asetik Asit (IAA).....	2
1.1.1 IAA'nın tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri.....	2
1.1.2 IAA'nın biyosentezi ve inaktivasyonu.....	5
1.1.3 IAA'nın fizyolojik etkileri.....	6
1.2 Gibberellinlerden Gibberellik Asit (GA ₃).....	8
1.2.1 GA ₃ ' ün tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri.....	8
1.2.2 GA ₃ biyosentezi ve inaktivasyonu.....	10
1.2.3 GA ₃ ' ün fizyolojik etkileri.....	12
1.3 Absisik Asit (ABA).....	14
1.3.1 ABA'nın tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri.....	14
1.3.2 ABA'nın biyosentezi ve inaktivasyonu.....	16
1.3.3 ABA'nın fizyolojik özellikleri.....	18
1.4 Sitokinin.....	20
1.4.1 Sitokininin tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri.....	20
1.4.2 Sitokininlerin biyosentezi ve inaktivasyonu.....	21
1.4.3 Sitokininlerin fizyolojik etkileri.....	23
2. MATERYAL VE METOD.....	29
2.1 Kullanılan Fungus ve Üretim Tekniği.....	29
2.2 IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Analiz İşlemleri.....	30
2.3 Evaporasyon İşlemleri.....	37
2.4 İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri.....	37
2.5 IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi.....	38

2.6 IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri.....	39
2.7 IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Miktarlarının Spektrofotometre Yöntemi ile Tayini.....	39
2.8 Biyolojik Test için Fungal Stok ve Standart Sentetik Stok IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Çözeltilerinin Hazırlanması.....	45
2.8.a Fungal stok IAA, GA ₃ , ABA ve zeatin çözeltilerinin hazırlanması.....	45
2.8.b Standart sentetik stok IAA, GA ₃ , ABA ve zeatin çözeltilerinin hazırlanması.....	45
2.9 Biyolojik Test.....	47
2.9.a ABA ve IAA için yulaf koleoptil büyüme testi.....	47
2.9.a.i Yulaf koleoptil büyüme testi için çeşitli uygulama gruplarının hazırlanması.....	48
2.9.a.ii Yulaf koleoptillerinin büyütülmesi.....	49
2.9.a.iii Yulaf koleoptillerinin kesilmesi.....	49
2.9.a.iiii Yulaf koleoptil boylarının ölçülmesi.....	52
2.9.b GA ₃ için pirinç çimlendirme testi.....	52
2.9.b.i Pirinç çimlendirme testi için çeşitli uygulama gruplarının hazırlanması.....	54
2.9.b.ii Tan-ginbozu cüce pirinç tohumlarının çimlendirilmesi ve büyütülmesi.....	54

2.9.b.iii Tan-ginbozu cüce pirinç fideleri 2. yaprak kın uzunluklarının ölçülmesi.....	55
2.9.c Zeatin için klorofil miktarı tayini testi.....	61
2.9.c.i Klorofil miktar tayini için çeşitli uygulama gruplarının hazırlanması.....	62
2.9.c.ii Deneysel koşullar.....	62
2.9.c.iii Tohum çimlendirme yöntemi.....	63
2.9.c.iiii Bitki büyütme yöntemi.....	63
2.9.c.iiiii Klorofil miktar tayini.....	65
2.10 Kuru Misel Ağırlığının Tayini.....	68
2.11 İstatistik Analizler.....	69
3. BULGULAR.....	70
3.1 Phanerochaete chrysosporium ME446 'da Kültür Ortamı ve Misellerde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlıklarının Değişimi.....	70
3.1.1 Kuru misel ağırlığının değişimi.....	70
3.1.2 Kültür ortamında.....	78
3.1.2.1 Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarlarının değişimi.....	78
3.1.2.1.a 280 nm dalga boyunda.....	78
3.1.2.1.b 222 nm dalga boyunda.....	79
3.1.2.2 Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ miktarlarının değişimi.....	82

3.1.2.3	Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.....	85
3.1.2.4	Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarlarının değişimi.....	89
3.1.3	Misellerde.....	92
3.1.3.1	Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarlarının değişimi.....	92
3.1.3.1.a	280 nm dalga boyunda.....	92
3.1.3.1.b	222 nm dalga boyunda.....	94
3.1.3.2	Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ miktarlarının değişimi.....	96
3.1.3.3	Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi.....	99
3.1.3.4	Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarlarının değişimi.....	101
3.2	Değişik Konsantrasyonlarda Standart Sentetik-IAA, -GA ₃ , -ABA ve -Zeatin ve P. chrysosporium ME446 'dan Elde Edilen IAA, GA ₃ , ABA ve Zeatin Eşdeğerlerinin Biyolojik Aktivitelerinin Tayini.....	103
3.2.1	Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve fungal-IAA'nın yulaf koleoptil büyümesi üzerine etkisi.....	103
3.2.2	Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-GA ₃ ve fungal-GA ₃ 'ün çüce pirinç varyetesinde ikinci yaprak kın uzunluğu üzerine etkisi.....	106

3.2.3 Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve fungal-ABA'nın yulaf koleoptil büyümesi üzerine etkisi.....	109
3.2.4 Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin'in klorofil miktarı üzerine etkisi.....	113
4. TARTIŞMA.....	120
5. KAYNAKLAR.....	139
6. ÖZGEÇMİŞ.....	162



ŞEKİLLER

Şekil 1.1	İndol-3-asetik asit.....	2
Şekil 1.2	Standart sentetik-IAA ve fungal-IAA eşdeğerlerinin maksimum absorpsiyon spektrumları.....	4
Şekil 1.3	Bitki dokularında IAA oluşum mekanizması.....	5
Şekil 1.4	Gibberellik asit (GA ₃).....	9
Şekil 1.5	Standart sentetik-GA ₃ ve fungal-GA ₃ eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumu...10	
Şekil 1.6	Bazı gibberellinlerin mevalonik asit'ten biyosentezi.....	11
Şekil 1.7	(S)-absisik asit'in yapısı.....	14
Şekil 1.8	Standart sentetik-ABA ve fungal-ABA eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumları.....	15
Şekil 1.9	Cis ve trans-absisik asit'in yapısı.....	16
Şekil 1.10	ABA biyosentez yolu.....	17
Şekil 1.11	ABA metabolizması yolu.....	17
Şekil 1.12	Zeatin.....	21
Şekil 1.13	Standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumları.....	22
Şekil 1.14	Bitkilerde doğal olarak meydana gelen sitokininlerin birbirine dönüşümleri.....	23
Şekil 2.1	Bitki büyüme maddelerinden IAA, GA ₃ , ABA ve zeatin için ekstraksiyon şeması.....	31
Şekil 2.2	Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda oksinin kantitatif tayininde esas alınan, 280 nm'deki sentetik IAA'nın kalibrasyon eğrisi.....	40
Şekil 2.3	Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda	

- oksinin kantitatif tayininde esas alınan,
222 nm'deki sentetik IAA'nın standart
eğrisi.....41
- Şekil 2.4 Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda
Gibberellinlerin kantitatif tayininde esas
alınan, 254 nm'deki sentetik GA₃' ün standart
eğrisi.....42
- Şekil 2.5 Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda
Absisik asit'in kantitatif tayininde esas alınan,
263 nm'deki sentetik ABA'nın standart eğrisi.43
- Şekil 2.6 Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda
zeatin'in kantitatif tayininde esas alınan,
269 nm'deki sentetik zeatin'in standart
eğrisi.....44
- Şekil 2.7 Yulaf koleoptil büyüme testi için büyütülen 2
günlük yulaf fidelerinin görünüşü.....50
- Şekil 2.8 Koleoptillerin kesilmesinde kullanılan alet..51
- Şekil 2.9 Yulaf koleoptil büyüme testi ile elde
edilerek, 24. saatteki fotokopilerinin
çekilmesi için hazırlanmış koleoptil
parçalarının görünüşü.....53
- Şekil 2.10 Piriñç çimlendirme testinde son uygulamadan 7
gün sonra **Tan-ginbozu** cüce piriñç fidelerinin
görünüşü
A- 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi grubu
(kontrol)
B- 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol
grubu (kontrol).....56
- Şekil 2.11 Piriñç çimlendirme testinde son uygulamadan 7
gün sonra **Tan-ginbozu** cüce piriñç fidelerinin
görünüşü
A- 10⁻⁴ M standart sentetik-GA₃ grubu
B- 10⁻⁴ M fungal-GA₃ grubu.....57

- Şekil 2.12 Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin görünüşü
 A- 10^{-5} M standart sentetik- GA_3 grubu
 B- 10^{-5} M fungal- GA_3 grubu.....58
- Şekil 2.13 Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin görünüşü
 A- 10^{-6} M standart sentetik- GA_3 grubu
 B- 10^{-6} M fungal- GA_3 grubu.....59
- Şekil 2.14 Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin görünüşü
 A- 10^{-7} M standart sentetik- GA_3 grubu
 B- 10^{-7} M fungal- GA_3 grubu.....60
- Şekil 2.15 Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin ikinci yaprak kın uzunlukluğunun şematik görünüşü.....61
- Şekil 2.16 Bitki büyütme kabı ve üzerine yerleştirilen delikli tabla.....64
- Şekil 2.17 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen 29 günlük ayçiçeği bitkilerinin görünüşü.....66
- Şekil 2.18 Klorofil miktar tayini testinde ayçiçeği bitkilerinin yapraklarından disk alınımının ve petri kutusuna yerleştirilmesinin şematik görünüşü.....67
- Şekil 3.1 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında 280 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....77
- Şekil 3.2 **P. chrysosporium ME446**'da kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak 222 nm dalga

- boyunda serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....81
- Şekil 3.3 **P. chryso sporium ME446**'da kùltùr ortamında kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....84
- Şekil 3.4 **P. chryso sporium ME446**'da kùltùr ortamında kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....88
- Şekil 3.5 **P. chryso sporium ME446**'da kùltùr ortamında kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....91
- Şekil 3.6 **P. chryso sporium ME446**'da miselde 280 nm dalga boyunda kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....93
- Şekil 3.7 **P. chryso sporium ME446**'da miselde 222 nm dalga boyunda kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi...95
- Şekil 3.8 **P. chryso sporium ME446**'da miselde kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....97
- Şekil 3.9 **P. chryso sporium ME446**'da miselde kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....100
- Şekil 3.10 **P. chryso sporium ME446**'da miselde kùltùr periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve

- toplam-zeatin eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi.....102
- Şekil 3.11 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve **P. chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen IAA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boylarının değişimi.....105
- Şekil 3.12 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-GA₃ ve **P. chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen GA₃ uygulanarak pirinç çimlendirme testi ile elde edilen **Tan-ginbozu** çüce pirinç varyetesi ikinci yaprak kın uzunluklarının değişimi.....108
- Şekil 3.13 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve **P. chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen ABA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boylarının değişimi.....111
- Şekil 3.14 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve **P. chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen zeatin uygulanarak klorofil miktarı tayini testi ile elde edilen klorofil a miktarlarının değişimi.....115
- Şekil 3.15 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve **P. chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen zeatin uygulanarak klorofil miktarı tayini testi ile elde edilen klorofil b miktarlarının değişimi.....116
- Şekil 3.16 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve **P. chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen zeatin uygulanarak klorofil miktarı tayini testi ile elde edilen toplam klorofil miktarlarının değişimi.....117

TABLOLAR

- Tablo 2.1 Stok bazal mineral (SBM) besiyerinin içeriği.29
- Tablo 2.2 Normal Hoagland kültür çözeltilisinin bileşimi.47
- Tablo 3.1 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında ve miselde 280 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.....71
- Tablo 3.2 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında ve miselde 222 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA seviyeleri için varyans analizi sonuçları.....72
- Tablo 3.3 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.....73
- Tablo 3.4 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.....74
- Tablo 3.5 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.....75
- Tablo 3.6 **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da kültür ortamında ve miselde 280 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarları ve kuru

	misel ağırlığı.....	76
Tablo 3.7	Phanerochaete chrysosporium ME446 'da kültür ortamında ve miselde 222 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı.....	80
Tablo 3.8	Phanerochaete chrysosporium ME446 'da kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı....	83
Tablo 3.9	Phanerochaete chrysosporium ME446 'da kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı....	87
Tablo 3.10	Phanerochaete chrysosporium ME446 'da kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı...	90
Tablo 3.11	Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve Phanerochaete chrysosporium ME446 fungusundan elde edilen IAA eşdeğerleri uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boyları.....	104
Tablo 3.12	Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-GA ₃ ve Phanerochaete chrysosporium ME446 fungusundan elde edilen GA ₃ eşdeğerleri uygulanarak pirinç çimlendirme testi ile elde edilen Tan-ginbozu çüce pirinç varyetesi ikinci yaprak kın uzunlukları.....	107
Tablo 3.13	Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve Phanerochaete chrysosporium ME446 fungusundan elde edilen ABA eşdeğerleri uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boyları.....	110

Tablo 3.14 Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve **Phanerochaete chrysosporium ME446** fungusundan elde edilen zeatin eşdeğerleri uygulanarak klorofil miktarı tayini testi ile elde edilen klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları..114



1. GİRİŞ

Bitki büyüme ve gelişmesinde rol oynayan en önemli içsel faktörlerden birisi olan bitki hormonlarının keşfi ile bitki büyümesini ve büyüme ile ilgili birçok faaliyetleri kontrol altına almak mümkün olmuştur. Genel anlamda, doğal olarak bitkilerde sentezlenen, büyüme ve buna bağlı diğer fizyolojik olayları kontrol eden, meydana geldiği yerden bitkilerin diğer kısımlarına taşınarak oralarda da etkin olabilen, çok az yoğunluklarda dahi etkisini gösterebilen organik maddelere HORMON adı verilir. Bugüne dek yapılan birçok araştırmaların sonunda doğal bitki büyüme hormonlarının etkisine benzer etkiler gösteren, hatta bazen daha da şiddetli etkilere sahip bulunan çeşitli sentetik büyüme maddelerinin varlığı da tespit edilmiştir. Bu nedenle, bugün bitki hormonu denildiğinde daha çok bitkide büyüme ve gelişmeyi olumlu ya da olumsuz yönde etkileyen yani başka bir deyişle büyümeyi düzenleyen doğal ya da sentetik bir organik madde anlaşılır ve genel olarak bunlara bitki büyüme maddeleri adı verilir. Özellikleri ve etki tarzları dikkate alındığında bitki büyüme maddeleri 3 grup altında toplanır:

a) Organ yapıcılar (Determinatif veya organogen hormonlar): Bu gruba florigen ve rizokalin örnek olarak verilebilir.

b) Yara hormonları (Nekro hormonlar): Örneğin; travmatik

c) Büyüme hormonları

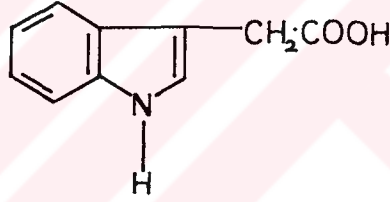
i. Stimülatörler (örneğin; oksinler, gibberellinler, sitokininler)

i.i. İnhibitörler (örneğin; absisik asit)

1.1. Oksin'lerden İndol-3-Asetik Asit (IAA)

1.1.1. IAA'nın tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri

60 yıldan beri yapılan fizyolojik çalışmalar, embriyogenezden senesense kadar bitki gelişiminin her bir evresinin düzenlenmesinden bitki büyüme maddesi olan indol-3-asetik asit'in (IAA) (Şekil 1.1) sorumlu olduğunu ortaya koymuştur. IAA'nın kapalı formülü $C_{10}H_9NO_2$ olup, molekül ağırlığı 175.2'dir.



Şekil 1.1. İndol-3-asetik asit (Palavan-Ünsal 1993)

Boysen-Jensen ve Paal 20. yüzyılın ikinci yarısında koleoptil ucunda büyümeyi teşvik edici bir kimyasal madde olduğunu göstermişlerdir (Palavan-Ünsal 1993). Paal, bu kimyasal maddenin karanlıkta veya tek yönlü ışıklandırmada sürekli olarak koleoptilin her tarafından aşağı doğru taşındığını ve korelatif büyüme regülatörü olarak etki ettiğini ileri sürmüştür. Went adlı araştırmacı da (1926), koleoptil ucundan bu kimyasal maddeyi ilk izole ederek Boysen-Jensen ve Paal'ın bulgularını desteklemiştir (Palavan-Ünsal 1993).

Oksini izole etmeye yönelik çalışmalar önceleri, bit-

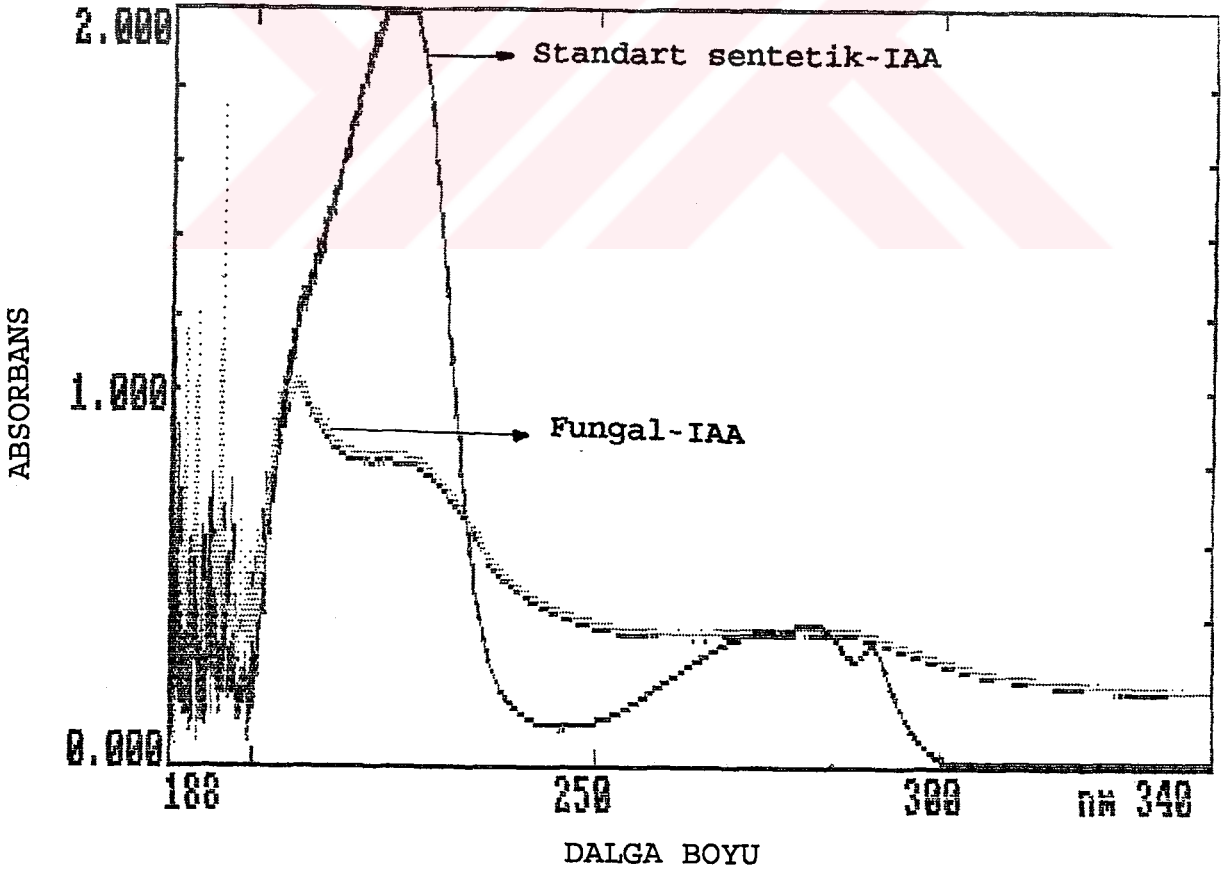
kilerde çok az miktarda bulunmaları nedeniyle başarısızlığa uğramıştı. O zamanlar bitkilerde analiz için saf kristal oksin hazırlamak amacı ile yeterli miktarda oksin izole etmek imkansızdı. Kristal haldeki oksin ilk olarak 1934 yılında Kögl vd. tarafından insan idrarından ve daha sonra 1935 yılında Thimann tarafından **Rhizopus suinus** kültürlerinden elde edildi ve bu madde IAA şeklinde kısaltılan indol-3-asetik asit olarak adlandırıldı (Thimann 1935). IAA'nın keşfinden sonra bu maddenin serbest halde bitkilerde yaygın olduğu birçok araştırmalarla kanıtlanmıştır (Tucker 1976, Blakesley vd. 1991). Bugün sadece yüksek bitkilerin değil fungus (Mace 1965, Tuomi vd. 1993) ve bakterilerin de (Fett 1987, Martinez-Toledo vd. 1988) oksin içerdikleri saptanmıştır.

Günümüzde, oksinler daha çok bitki dokularından, funguslardan ve bakterilerden dietileter, metanol veya etil asetat gibi organik çözücülerle ekstre edilerek elde edilmektedir. Ayrıca, ultraviyole (UV) ve infrared spektroskopisi, gaz kromatografisi, gaz-kütle spektroskopisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi vb. hassas fiziko-kimyasal teknikler kullanılmaktadır (Ames vd. 1979, Zieslin ve Geller 1983, Topcuoğlu 1987, Izumi vd. 1988, Staden ve Nicholson 1989, Prakash ve Prathapasanen 1990).

İçsel IAA, bitkilerde absorpsiyon spektrumunda Bandurski ve Schulze'ye (1974) göre 225 nm ve 282 nm'de, aynı araştırmacıların 1977'de yaptıkları çalışmada 225 ve 285 nm'de, Yürekli'ye (1980) göre 224 ve 280 nm'de maksimum iki pik vermekte, Sabater vd.'ne (1983) göre 280 nm'de, bakterilerde Epstein vd.'ne (1991) göre 220 nm'de maksimum pik vermektedir. Çalışmamızda da içsel IAA'nın absorpsiyon spektrumunda 222 ve 280 nm'de olmak üzere 2 maksimum pik verdiği saptanmıştır (Şekil 1.2).

Yapılan çeşitli araştırmaların sonucunda bitkilerde oksin olarak IAA'dan başka oksin aktivitesine sahip başka

maddelerin de varolduğu ortaya konmuştur(Schneider vd. 1985: Epstein vd.'den 1989, Wightman ve Lighty 1982: Leuba ve LeTorneau'dan 1990). Bu diğer maddeler indoller olup, kimyasal olarak IAA ile yakından ilgilidirler. Örneğin, çeşitli baklagillerin genç fidelerinde bulunan 4-kloro indol-3-asetik asit (4-kloro IAA) (Engvild 1987), IAA'dan daha az aktif olan fenil asetik asit (PAA) (Wightman ve Lighty 1982: Leuba ve LeTorneau'dan 1990), çeşitli dikotiller ve mısır yapraklarından elde edilen indol bütirik asit (IBA)'tir (Schneider vd. 1985: Epstein vd.'den 1989). Ayrıca, çeşitli oksin öncülleri de bulunmaktadır. Bunlar, indol-asetaldehit, indol-3-asetonitril ve indol etanol'dür.

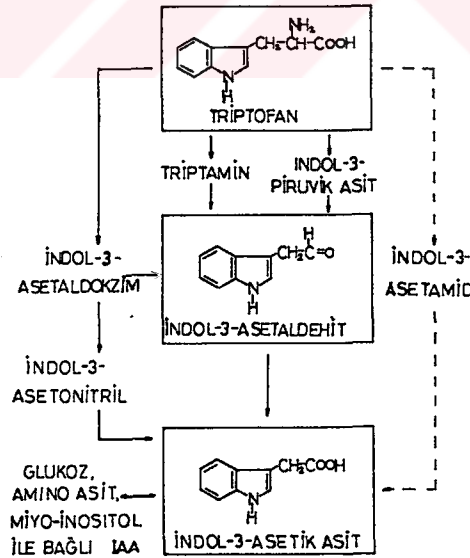


Şekil 1.2. Standart sentetik-IAA ve Fungal-IAA eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumları

1.1.2. IAA biyosentezi ve inaktivasyonu

IAA'nın içsel bir oksin olduğunun saptanmasından sonra, bir aminoasit olan triptofan'dan sentezlendiği kesinlik kazanmıştır. IAA'nın, 4 esas yolla sentezlendiğine ilaveten, bakterilerle infekte olmuş bitkilerde indol-3-asetamid yoluyla da sentezlendiğine dair başka bir yol da ileri sürülmektedir (Roberts ve Hooley 1988, Kawaguchi vd.1993). Ayrıca, glukoz, aminoasit ve myoinositol gibi bileşiklere bağlı bulunan IAA'nın serbest hale dönüşmesi ile de meydana geldiği bildirilmektedir (Şekil 1.3).

Oksinler esas olarak, gövde ve kök ucu gibi meristematik dokularda, genç yapraklarda, kotiledonlarda, çiçek ve meyvalarda sentezlenmekte ve sentez bölgesinden aşağıya doğru floem yoluyla taşınmaktadır (Salisbury ve Ross 1992).



Şekil 1.3. Bitki dokularında IAA oluşum mekanizması

(Roberts ve Hooley 1988)

Bitkilerde IAA'nın sentezi kadar inaktivasyonu da önemlidir. IAA'nın üç şekilde inaktive olduğu ileri sürül-

mektedir:

1. Fotooksidasyon ile: IAA'nın fotooksidasyon sonucunda yıkım ürünleri olarak 3-metilen-2-oksindol ve indolaldehit meydana gelir (Palavan-Ünsal 1993).

2. Enzimatik oksidasyon ile : IAA'nın enzimatik oksidasyonu sonucunda yıkım ürünleri, 3-metilen-2-oksindol ve 3-metil-2-oksindol'dür (Tang ve Bonner 1948).

3. Bağlı forma dönüşerek : Örneğin; indolasetil aspartik asit, IAA-inositol ve IAA-glukoz (Cohen ve Bandurski 1982: Bandurski 1984: Caruso'dan 1987).

1.1.3. IAA'nın fizyolojik etkileri

Oksinler çok çeşitli fizyolojik etkilere sahiptir. Bu etkileri, konsantrasyonlarına, çevresel faktörlere, bitki türlerine ve bitkinin yaşına bağlı olarak değişebilmektedir.

1. Hücrelerin uzunluğuna büyümesi üzerine etkisi: Oksinler bitki hücre çeperinin mekaniksel özelliklerini değiştirerek hücre uzamasına neden olmaktadır (Breviario vd. 1992). Hücre büyümesinin de protein, RNA sentezlerine ve solunuma bağlı olduğu bilinmektedir (John vd. 1993, Palavan-Ünsal 1993).

2. Hücre bölünmesi üzerine etkisi: Bugüne kadarki bazı veriler, hücre bölünmesinde hormonal etkinin mitoz bölünme üzerinden olduğunu göstermiştir. Oksinlerin mitoz bölünmede düzenleyici bir role sahip olduğu bildirilmiştir (John vd. 1993, Palavan-Ünsal 1993).

3. Deoksiribonükleik asit (DNA), Ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezi üzerine etkisi:

IAA DNA, RNA ve protein sentezini arttırmaktadır (Davies

1973, Yamamoto vd. 1992).

4. Enzim sentezi ve aktivasyonu üzerine etkisi:

IAA dokularda birçok metabolik olaylarda görev alan enzim sentezini ve aktivitesini arttırmaktadır (Davies 1973, Dendsay 1989).

5. Kök oluşumu üzerine etkisi:

Oksinler kökün yaşına ve türlere bağlı olarak genellikle düşük konsantrasyonlarda adventif kök ve esas kök oluşumunu arttırmaktadır (Güneş 1988, Salisbury ve Ross 1992).

6. Tomurcuk inhibisyonu ve apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi:

Bazı deneyler, apikal tomurcuğun genç yapraklarının difüzyon edebilen bir korelatif büyüme inhibitörüne sahip olduklarını göstermiştir. Oksini apikal tomurcuğun yerine uygulayınca, aksilllar tomurcukların inhibe olduğu bildirilmiştir (Pilate vd. 1989).

7. Çiçeklenme üzerine etkisi:

IAA çiçeklenmeyi arttırmakta ve dişi çiçek oluşumunu teşvik etmektedir (Matthyse ve Scott 1980; Palavan-Ünsal'dan 1993).

8. Tohum çimlenmesi üzerine etkisi:

IAA tohum çimlenmesini teşvik etmektedir (Tillberg 1984).

9. Kambiyal aktivite üzerine etkisi:

IAA kambiyal aktiviteyi ve odun dokusunun oluşumunu arttırmaktadır (Palavan-Ünsal 1993).

10. Yaprak ve meyva dökümü üzerine etkisi:

Oksin içeriği azaldığı zaman bitkide yaprak ve meyva dökümü

meydana gelmektedir. Oksin içeriği yüksek olduğu zaman, yaprak ve meyva düşme hızı azalmaktadır (Palavan-Ünsal1993)

11. Partenokarpik meyva oluşumu üzerine etkisi:
Oksinler döllenme olmaksızın çekirdeksiz meyva oluşumuna neden olmaktadır. Partenokarpik meyvalar çoğunlukla fazla sayıda ovaryum içeren türlerde oksin uygulanarak tozlaşmamış çiçeklerde de meydana getirilebilmektedir (Hopson ve Wessells 1990, Palavan-Ünsal 1993).

1.2. Gibberellinlerden Gibberellik Asit (GA₃)

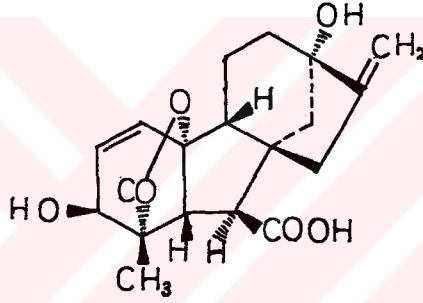
1.2.1. GA₃'ün tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri

Gibberellinler 1920'lerden beri bir bitki büyüme hormonu olarak bilinmektedir.

Gibberellinlerin ilk kez, Japon pirinçlerinde Bakanea hastalığı ile ilgili çalışmalar yapan Kurosawa tarafından keşfedildiği bilinmektedir. Bu fungal hastalıktan **Gibberella fujikuroi** (**Fusarium moniliforme**) sorumludur. 1954 yılında İngiliz kimyacılar **Gibberella fujikuroi** kültüründen izole ettikleri saf bir bileşiğin kimyasal özelliklerini tayin etmişler ve bu yeni maddeye gibberellik asit (GA) adını vermişlerdir. 1990 yılına kadar, çeşitli funguslar ve bitkilerde 84 adet gibberellin keşfedilmiştir (Sponsel 1987: Graebe 1987: Takahashi vd.'den 1990). Bunlar GA₁ -GA₈₄ şeklinde ifade edilir. Bunlardan 73 tanesi yüksek bitkilerde, 11 tanesi **Gibberella** fungusunda bulunmuştur. Bunların hepsinin moleküler yapıları esasen gibberellik asit (GA₃) ile aynıdır, fakat, halka sistemindeki bağların pozisyonları, sayıları ve tipleri, A halkasındaki doyma derecesi ve özellikle hidroksil gruplarının bulunduğu yerler nedeniyle birinden diğerine farklılıklar göstermektedirler (Salisbury

ve Ross 1992).

Bütün gibberellinler ent-gibberellan iskeletinden türevlenmektedir. Gibberellik asit'in (Şekil 1.4) kapalı formülü $C_{19}H_{22}O_6$ olup, molekül ağırlığı 346.4' dür. Gibberellinler kimyasal olarak diterpenlerdir. Diterpenler bitkilerde doğal olarak meydana gelen terpenoidlerden türevlenirler.

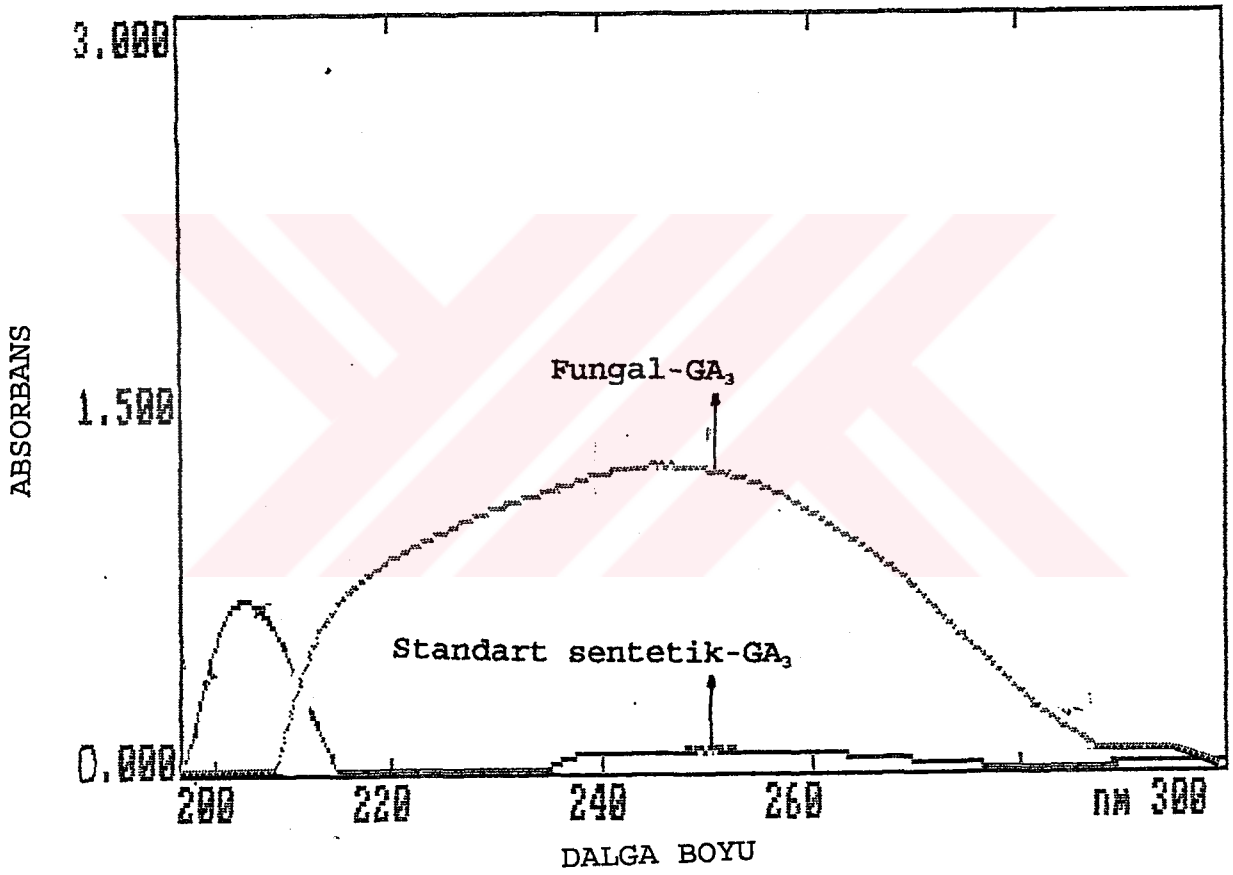


Şekil 1.4. Gibberellik asit (GA₃)
(Salisbury ve Ross, 1992)

GA₃ ekstraksiyonunda da dietileter, metanol veya etilasetat gibi çeşitli organik çözücüler kullanılmaktadır (Dunberg 1973). Ayrıca, UV ve infrared spektroskopisi, gaz kromatografisi, gaz-kütle spektroskopisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi vb. hassas fiziko-kimyasal teknikler kullanılmaktadır (Banerjee 1968, Zieslin ve Geller 1983, Prakash ve Prathapasenan 1990).

Gibberellin metabolizması yüksek bitkilerden çok *Gibberella fujikuroi* fungusunda incelenmiş olup, bu fungusun gibberellinleri bir sekonder metabolit olarak meydana getirdiği bildirilmiştir (Bentley ve Bennett 1988, Cihangir ve

Aksöz 1993). İçsel GA₃'ün maksimum absorpsiyon dalga boyunun 254 nm olduğu rapor edilmektedir (Holbrook vd. 1961, Cihangir ve Aksöz 1993). Çalışmamızda da GA₃'ün maksimum absorpsiyon dalga boyu 254 nm olarak saptanmıştır (Şekil 1.5).

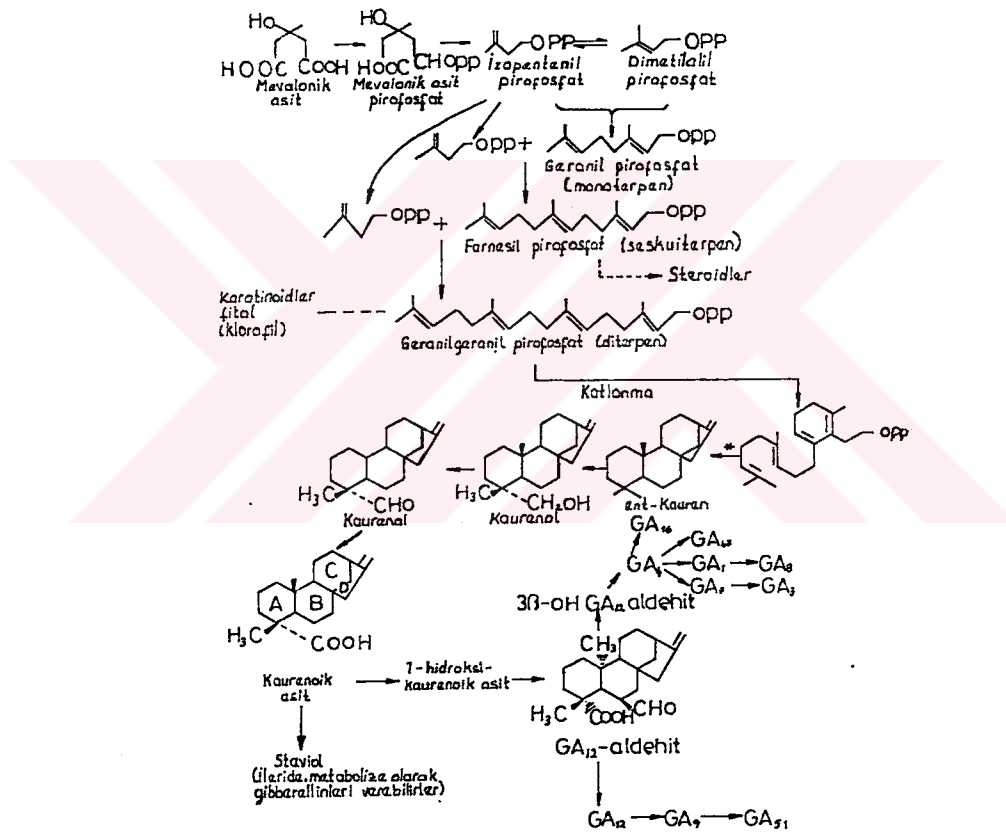


Şekil 1.5. Standart sentetik-GA₃ ve fungal-GA₃ eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumları

1.2.2. GA₃ biyosentezi ve inaktivasyonu

Genellikle yüksek bitkilerde gibberellin biyosentezi çeşitli organlarda olmaktadır. Örneğin, embriyo, genç yapraklar, gelişmekte olan meyva, tohum, uzamakta olan gövde

apikal bölgesi ve köklerdir. Yüksek bitki ve funguslarda gibberellinin mevalonik asit'ten sentezlendiği ve biyosentezinde tek bir yolun olmadığı belirlenmiştir. Farklı gibberellinler farklı biyosentez yolları ile sentezlenir (Şekil 1.6) ve günümüzde sentez yolları henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Palavan-Ünsal 1993).



Şekil 1.6. Bazı gibberellinlerin mevalonik asit'ten biyosentezi (Palavan-Ünsal 1993)

Gibberellinlerin inaktivasyonu konusu henüz tam açıklığa kavuşturulamamıştır. Bazı araştırmalar (Murakami 1968), gibberellinlerin de tıpkı oksinler gibi hücre bileşiklerine (örneğin, şeker ve protein) bağlanarak aktif olmayan bağlı formlarını oluşturduklarını göstermiştir. Gibberellinler

glukoza ya hidrosil grubu ile bağlanarak glukoz eter veya karboksil grubu ile bağlanarak glukozil ester bağlı formlarını meydana getirirler. Literatür bilgilerine göre, gibberellin inaktivasyonu ya gibberellin karbon iskeletinin modifikasyonu ile ya da glukozla birleşmesi ile olur. Yüksek bitkilerde önemli gibberellin inaktivasyon olayı molekülün 2β-hidroksilasyonudur, yani A halkası üzerinde 2 numaralı karbona β pozisyonunda OH grubu eklenmesidir. Bu 2β-hidroksilasyon bitkilerde yaygındır ve geri dönüşken değildir. Sonuçta, gibberellinlerin biyolojik aktiviteleri ya tamamıyla ya da en azından önemli miktarda azalmaktadır. Gibberellik asit, özellikle yüksek sıcaklıkta asit hidrolizi ile bozunmakta ve bunun sonucunda gibberellenik asit, allogibberik asit ve gibberik asit meydana gelmektedir. Gibberik asit, hormonal aktivite göstermediği halde diğerleri göstermektedir (Pegg 1973, Arigayo vd. 1984, Doumas vd. 1992).

1.2.3. GA₃'ün fizyolojik etkileri

Gibberellinler de çok yönlü fizyolojik etkilere sahiptir. Bu etkiler özellikle genetik cücelik ve çiçeklenme gibi fizyolojik ve biyolojik olaylarda çok daha açık olarak görülmektedir (Nakayama vd. 1990, Palavan-Ünsal 1993). GA₃'ün fizyolojik etkileri konsantrasyonlarına, çevresel faktörlere, bitki türlerine ve bitkinin yaşına bağlı olarak değişebilmektedir.

1. Tohum ve tomurcuk dormansisi (dinlenme) üzerine etkisi:

Gibberellinler, bazı türlerde düşük sıcaklık, uzun gün ve kırmızı ışığın yerine geçerek tohum ve tomurcuk dormansisini ortadan kaldırmaktadır (Mounla 1978, Salisbury ve Ross 1992).

2. Çiçeklenme üzerine etkisi:

Gibberellinlerin rozet tipi bitkilere uygulanması, bu bitki-

lerde çiçeklenmenin uyarılmasına neden olmaktadır (Rood vd. 1989). Ayrıca, erkek çiçek oluşumunu teşvik etmektedir (Hayashi vd. 1971, Khryanin 1987).

3. Gövde ve yaprak uzaması üzerine etkisi:

Gibberellinler genetik olarak cüce bitkilerde gövde (Nakayama vd. 1990, Junntila 1993, Potter vd. 1993) ve yaprak uzamasını (Cihangir ve Aksöz 1993) teşvik etmektedir.

4. Partenokarpik meyva oluşumu üzerine etkisi:

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

5. Tuber oluşumu üzerine etkisi:

Tuberizasyonun kontrolünde en önemli hormon gibberellinlerdir. Dışarıdan gibberellin uygulaması tuberizasyonu engellemektedir (Guinazu vd. 1988).

6. Absisyon (kopma) üzerine etkisi:

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

7. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi:

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

8. Kambiyal aktivite üzerine etkisi:

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

9. Nükleik asit, protein ve enzimlerin sentezi ve aktiviteleri üzerine etkisi:

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

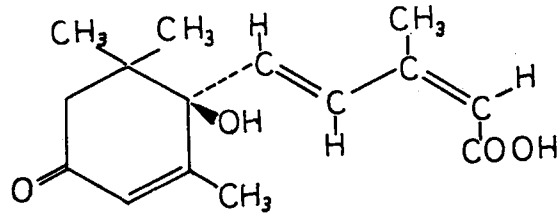
Higgins 1982, Hopson ve Wessells 1990).

1.3. Absisik Asit (ABA)

1.3.1. ABA'nın tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri

ABA, bitki büyüme ve gelişmesinin regülasyonunda büyük önemi olan ve doğal olarak oluşan bir bitki büyüme düzenleyicisidir. Bitki büyümesini engelleyici etkileri ile tanınan ABA, ilk defa Bennett-Clark ve Kefford tarafından 1953 yılında keşfedilmiştir (Dörffling 1972). ABA'nın bitki dokularında yaygın olarak bulunduğu bilinen inhibitör-β kompleksinin en aktif ögesi olduğu kimyasal olarak belirlenmiştir (Milborrow 1967, Wright 1969). ABA'nın doğal olarak oluşan formu (S)-(+)- absisik asit'tir (Şekil 1.7). Sentetik rasemik absisik asit ise (RS)-(±)-absisik asit'tir.

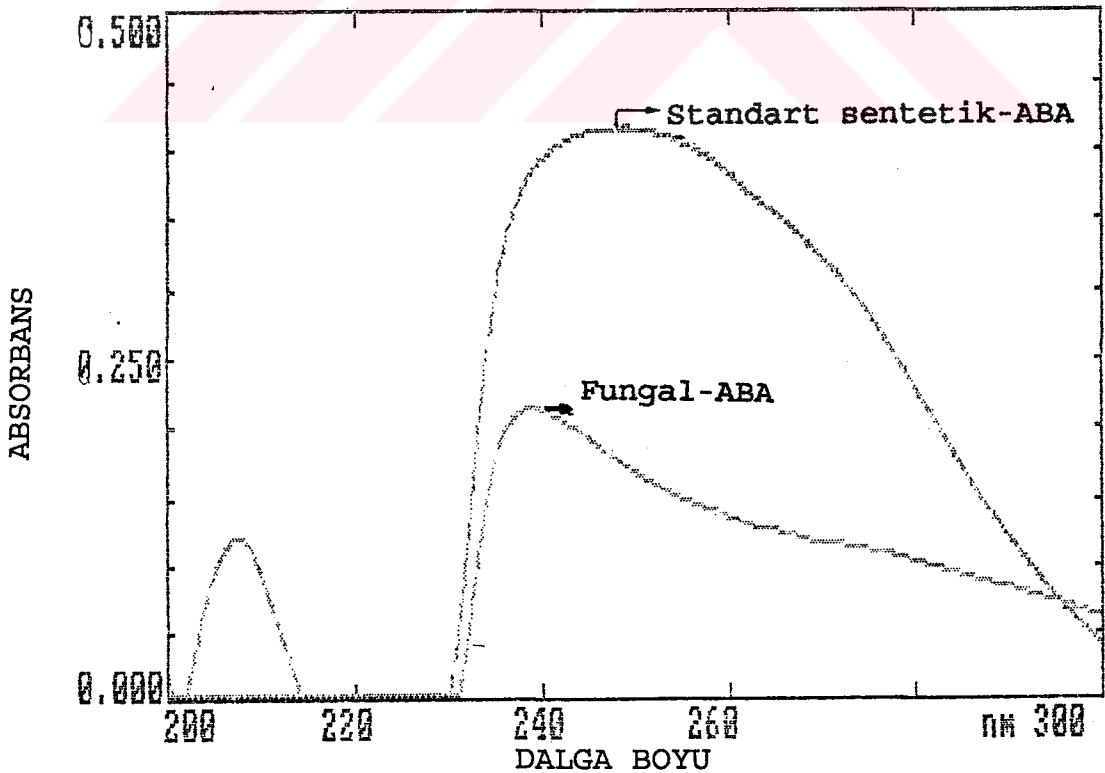
ABA'nın kapalı formülü $C_{15} H_{20} O_4$, molekül ağırlığı 264 olup, organik çözücülerde ve suda çözünmektedir (Addicott ve Lyon 1969). ABA'nın maksimum absorpsiyon dalga boyu ortamın pH'sına göre değişmektedir.



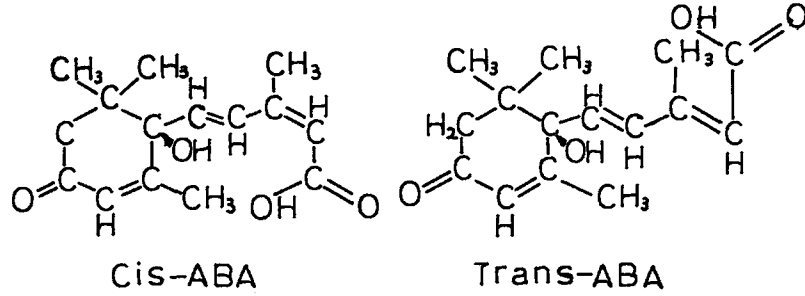
Şekil 1.7. (S)- absisik asit'in yapısı (Addicott ve Lyon 1969)

Asidik koşullarda maksimum absorpsiyon 252 nm ile 262 nm arasında (Addicott ve Lyon 1969), bazik koşullarda ise maksimum absorpsiyon 245 nm'de (Milborrow 1974) görülmektedir. Çalışmamızda ABA'nın maksimum absorpsiyon dalga boyu 263 nm olarak saptanmıştır (Şekil 1.8).

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). ABA, optik olarak aktif bir bitki hormonudur. ABA'nın cis ve trans olmak üzere iki geometrik izomeri vardır (Şekil 1.9). Pekçok bitkide ABA'nın doğal olarak oluşan izomeri cis-ABA olup, literatürde ABA olarak kısaltılmıştır (Milborrow 1970).



Şekil 1.8. Standart sentetik-ABA ve fungal-ABA eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumları



Şekil 1.9. Cis- ve trans-absisik asit'in yapısı
(Addicott ve Lyon 1969)

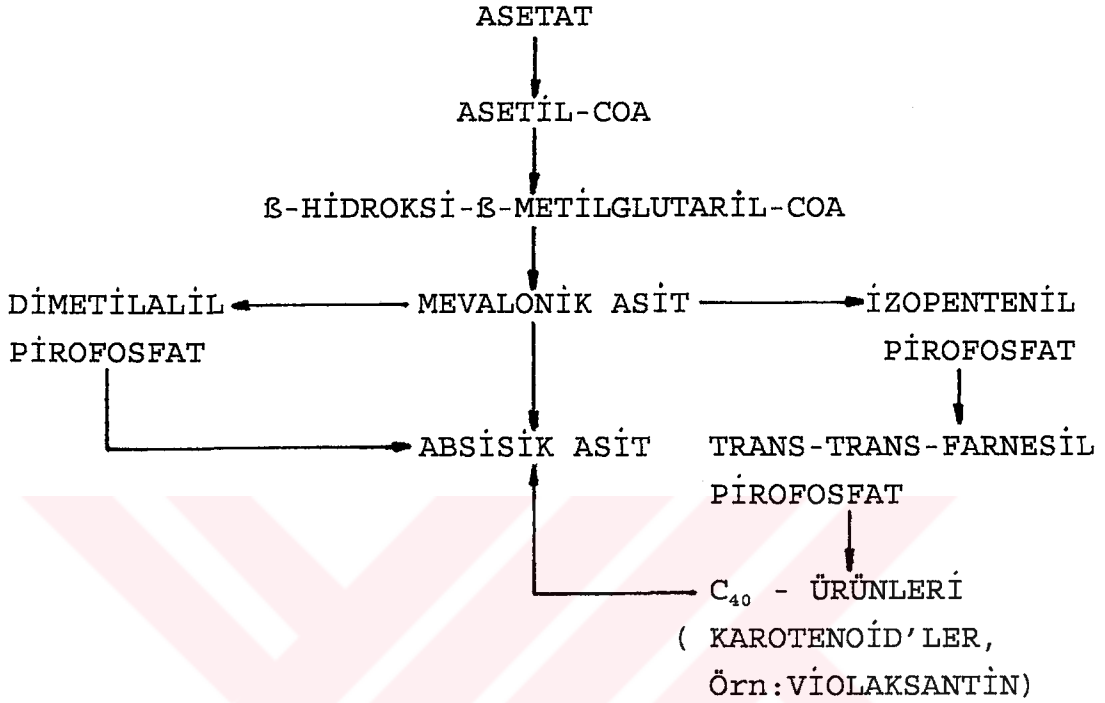
1.3.2. ABA'nın biyosentezi ve inaktivasyonu

ABA, kök, meyva, tohum embriyosu ve yapraklarda özellikle kloroplastlarda sentezlenmektedir (Loveys 1977). Ayrıca, ABA'nın diğer plastidlerde de sentezlendiği rapor edilmektedir (Salisbury ve Ross 1992). ABA biyosentezine ilişkin olarak iki yol tartışılmaktadır (Şekil 1.10).

1. ABA, doğrudan doğruya mevalonik asit'ten sentezlenmektedir.

2. ABA, karotenoid biyosentez yoluyla veya karotenoid ürünlerin oluşumuyla ya da başka bir deyişle violaksantin dahil ilgili ksantofillerin enzimatik veya fotooksidasyonunun bir yıkım ürünü olarak meydana gelmektedir.

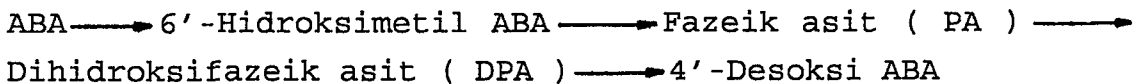
ABA biyosentezinin karotenoid biyosentezi yolu ile veya karotenoid ürününün oluşumuyla meydana geldiği iddiası önemini kaybetmiş olmasına rağmen (Kefeli 1978), birçok bitkide ABA biyosentezinin indirekt olarak plastidlerde bulunan karotenoidlerin parçalanmasıyla oluştuğu da rapor



Şekil 1.10. ABA biyosentez yolu (Kefeli'den 1978 değiştirilerek)

edilmektedir (Zeevaart ve Geelman 1988: Parry ve Horgan'dan 1991). Günümüzde, ABA'nın mevalonik asit'ten sentez edildiği fikri halen kabul edilmiş durumdadır. Bununla beraber, ABA biyosentezinde çoğu kademeler halen açıklığa kavuşmamıştır.

ABA iki yoldan inaktive olur, başka bir deyişle ABA metabolizmasının yıkım ürünleri, ABA'nın ya okside olmuş ya da bağlı formlarıdır (Walton 1980, Setter vd. 1981). ABA'nın metabolik yıkım yollarından birincisi Şekil 1.11'de gösterilmiştir.



Şekil 1.11. ABA Metabolizması Yolu (Gillard ve Walton 1976, Tietz vd. 1980: Walton'dan 1980)

ABA'nın ilk kararlı metaboliti PA (David Ho 1993), ikinci metaboliti ise DPA'dır (Bano vd. 1994).

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. Örneğin; Absisil- β -D-glukopiranosid, β -hidroksi- β -metil glutarilhidroksi ABA, absisik asit glukoz esteri (ABA-GE) bağlı-ABA formlarıdır.

ABA, bitkilerde floem ve ksilem yoluyla ergin yapraklardan genç yapraklara, sürgün uçlarına ve köklere taşınmaktadır (Hoad 1978: Zeevaart ve Boyer 1984: Topcuoğlu'ndan 1987).

1.3.3. ABA'nın fizyolojik özellikleri

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

1. Senesens (yaşlanma) üzerine etkisi:

Yaşlanma ile birlikte görülen ve bir organ veya organizmanın ölümüne yol açan bozulma ve parçalanma olaylarının tümüne senesens denir. ABA'nın klorofil kaybını ve yıkımını hızlandırarak senesense neden olduğu rapor edilmesine rağmen (Tamas ve Engels 1981), ABA'nın yaprak senesensindeki rolü tam olarak açıklığa kavuşmadığı da bildirilmektedir (Topcuoğlu 1987).

2. Absisyon (kopma) üzerine etkisi:

ABA absisyonun düzenlenmesinde hormonal bir faktör olarak rol oynamaktadır (Dörffling 1972: Topcuoğlu'dan 1987). ABA, yaprak, çiçek ve meyvalarda absisyon tabakasının oluşmasını uyarmaktadır (Porter 1977).

3. Dormansi (dinlenme) üzerine etkisi:

ABA'nın tomurcuk ve tohumlarda dormansinin ortaya çıkmasında önemli bir rolü vardır (Berrie 1984: Salisbury ve Ross'dan 1992).

4. Büyüme üzerine etkisi:

ABA, büyüme ve gelişmeyi durduran, geriletken bir etken olarak bilinmektedir. Bununla birlikte, ABA, uygulanan konsantrasyona, bitkide varolan miktarlarına ve diğer hormonlarla etkileşimine bağlı olarak bitkide büyüme ve gelişmeyi engelleme ya da uyarma tepkileri meydana getirmektedir (Torrey 1976: Semiz'den 1983).

5. Embriyo gelişimi ve tohum çimlenmesi üzerine etkisi:

Dışarıdan uygulanan ABA, embriyo büyümesini ve gelişmesini engellemektedir. Ayrıca, tohumda normal olgunlaşma ve çimlenmeyi de inhibe etmektedir (Quatrano 1987: Salisbury ve Ross 1992'dan).

6. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi:

ABA'nın besin birikimi üzerinde negatif bir etkiye neden olarak tepe hakimiyetinde rol oynadığı bildirilmiştir (White ve Mansfield 1977, Knox ve Wareing 1984).

7. Çiçeklenme üzerine etkisi:

Tomurcuk dormansisinden sorumlu bir büyüme inhibitörü olan ABA, aynı zamanda da çiçeklenme inhibitörüdür. Bazı uzun gün bitkilerinde çiçeklenmeyi inhibe etmektedir. Kısa gün bitkilerinin ABA'ya tepkileri tamamen değişiktir. ABA, uzun gün şartlarında bırakılan kısa gün bitkilerinde çiçeklenmeye sebep olmaktadır (Tsao vd. 1986). Ayrıca, ABA dışı çiçek oluşumunu uyarmaktadır (Friedlander vd. 1977).

8. Strese adaptasyon mekanizması üzerine etkisi:

Strese uğramış bitkilerde içsel ABA seviyesinin arttığı ve stres koşullarının olumlu değişmesi ile ABA seviyesinin azaldığı bildirilmektedir (Cornish ve Zeevaart 1984).

9. Osmoregülasyonda rolü:

ABA bazı bitkilerde strese karşı adaptasyonda osmoregülatif rolü olan prolin (Stewart 1974 1980: Hasson ve Poljakoff-Mayber'dan 1983, Yürekli 1990) ve betain (Huber ve Sankhla 1980) birikimine ve artışına sebep olmaktadır.

10. Nükleik asit, protein ve enzimlerin sentezi ve aktiviteleri üzerine etkisi:

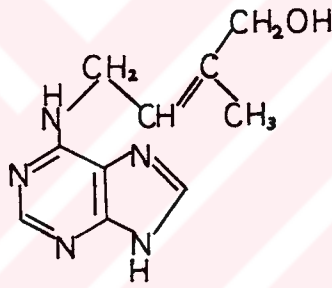
ABA, RNA sentezini (Walbot vd. 1975), çeşitli enzim sistemlerinin aktivitesini ve oluşumunu engellediği bildirilmektedir. Örneğin; ABA α -amilaz (David Ho 1993), proteaz (Leo ve Sacher 1970) ve RNA polimeraz (Mondal ve Biswas 1972) enzimlerinin sentezini ve aktivitesini engellemektedir. Bununla beraber, ABA'nın bazı enzimlerin (Ribonükleaz ve asit fosfotaz) aktivitesini arttırdığı rapor edilmektedir (Leo ve Sacher 1970). Ayrıca, ABA'nın ribozomal RNA sentezini stimüle ettiği de bildirilmektedir (Hopson ve Wessells 1990).

1.4. Sitokininler

1.4.1. Sitokininlerin tarihçesi, izolasyonu ve kimyasal özellikleri

1913 yıllarında Gottlieb Hoberland tarafından (Salisbury ve Ross 1992) çeşitli bitkilerin vasküler dokularında hücre bölünmesini stimüle eden, bilinmeyen bir bileşiğin varlığı keşfedilmiştir. Bugün bu maddelere sitokinezi stimüle eden SİTOKİNİN'ler adı verilmektedir. Doğal olarak meydana gelen sitokininler pürinlerdir, özellikle adenin

türevidirler. Çeşitli bitkilerde doğal olarak sentezlenen ve fizyolojik olarak aktif sitokinlere örnek olarak zeatin, dihidrozeatin ve izopentenil adenin ve dimetilaliladenin verilebilir (Salisbury ve Ross 1992). Zeatin (Şekil 1.12), doğal sitokinler içinde en aktif olanıdır. Her sitokin nükleosid veya serbest formda bulunmaktadır ki burada bir riboz grubu 9 pozisyonunda bir (N) grubuna bağlanır (Salisbury ve Ross 1992). Kimyasal ve biyolojik olarak 200'den fazla doğal ve sentetik sitokinler olduğu Matsubara (1990) tarafından bildirilmektedir.



Şekil 1.12. Zeatin (Palavan-Ünsal 1993)

Sitokinlerin karakteristik maksimum absorpsiyon dalga boyları 267 ile 270 nm arasındadır (Nandi vd. 1989). Çalışmamızda kullanılan zeatinin kapalı formülü $C_{10} H_{13} N_5 O$ ve molekül ağırlığı 219.2 olup, maksimum absorpsiyon dalga boyu 269 nm olarak saptanmıştır (Şekil 1.13).

1.4.2. Sitokinlerin biyosentezi ve inaktivasyonu

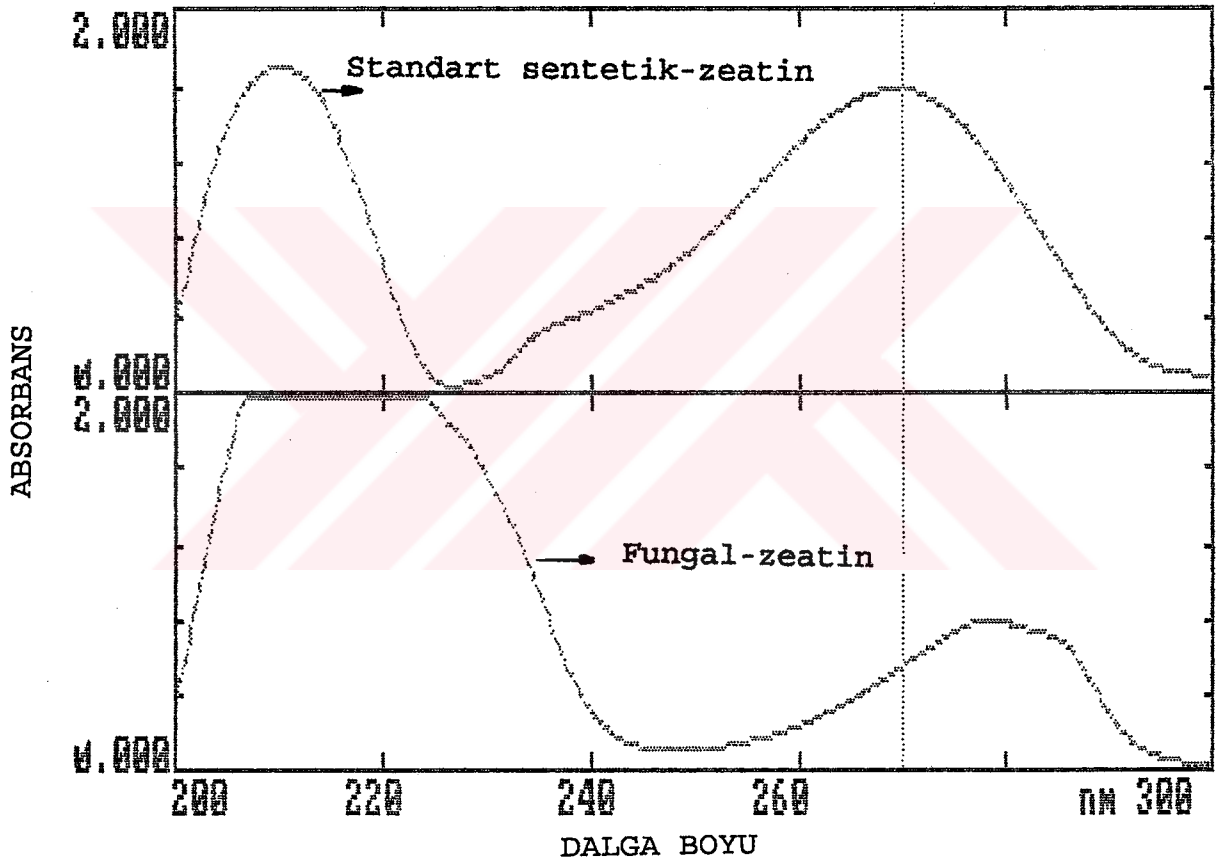
Sitokinler bitki dokusunda iki yoldan sentezlenirler;

1. Adenin, adenin ribosid veya adenin ribotidin 6 numaralı karbon atomu üzerine karakteristik yan zincirlerinin bağlanması ile meydana gelmektedir. Sitokinlerin yan zincirleri 5 C atomu içerir, bu durum da sitokinlerin izopirenoid

biyosentezinden meydana geldiğini ortaya koymaktadır.

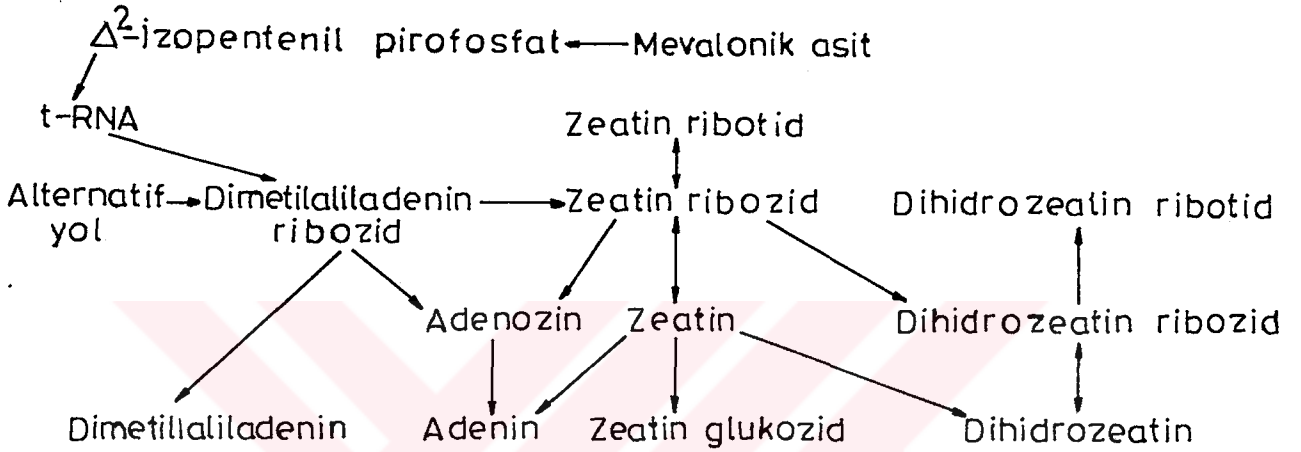
2. Sitokinin grupları içeren belirli t-RNA türlerinin hidrolizi ile meydana gelmektedir.

Vinca rosea kültürlerinde yapılan deneyler sitokinin biyosentezinin esas olarak nukleotid düzeyinde meydana



Şekil 1.13. Standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin eşdeğerinin maksimum absorpsiyon spektrumları

geldiğini göstermiştir. Doğal olarak meydana gelen bazı sitokinlerin bir sitokinine diğerine dönüşümü ile oluştuğu da rapor edilmektedir (Palavan-Ünsal 1993). Bitkilerdeki doğal sitokinlerin böyle metabolik olarak içsel dönüşümleri Şekil 1.14'de gösterilmektedir.



Şekil 1.14. Bitkilerde doğal olarak meydana gelen sitokininlerin birbirine dönüşümleri (Palavan-Ünsal 1993).

Sitokininler bitkilerde hem glukoz ve alanin ile birleşerek ve hem de bozunma yolu ile inaktive olmaktadır. Bitkilerde sitokininlerin bozunması enzimatik olarak meydana gelmektedir. Enzimler sitokininlerin yan zincirindeki çift bağı okside ederek adenini meydana getirirler. Bu enzime "sitokinin okside eden enzim=sitokinin oksidaz" denir (Palavan-Ünsal 1993).

1.4.3. Sitokininlerin fizyolojik etkileri

1. Hücre bölünmesi üzerine etkisi:

Sitokinin mitoz bölünme için gerekli proteinlerin aktivasyonu

veya sentezini etkileyerek mitoz bölünme ve sitokinezde rol oynamaktadır (Young ve Letham 1969).

2. Hücre genişlemesi üzerine etkisi:

Sitokininler gerek tek başına kullanıldığı zaman gerekse IAA ile birlikte kullanıldığında hücrenin büyük ölçüde genişlemesini sağlar (Salisbury ve Ross 1992).

3. Morfogenez üzerine etkisi:

Sitokininler uygun konsantrasyonda morfogenez olayında gövde teşekkülüne (Inoue vd. 1979) ve vasküler doku farklılaşmasına (Aloni 1993) sebep olmaktadır. Ayrıca, kotiledonlarda depolanan sitokininlerin radikula büyümesine sebep olduğu bildirilmektedir (Hutton vd. 1982).

4. Tomurcuk dormansisi (dinlenme) üzerine etkisi:

Dormansinin kırılması ile apikal tomurcuklarda serbest-sitokinin seviyelerindeki artışın aynı zamana rastladığı rapor edilmektedir (Staden ve Dimalla 1978).

5. Çiçeklenme üzerine etkisi:

Sitokininler bazı bitkilerde çiçeklenmeyi teşvik etmekte (Palavan-Ünsal 1993, Applewhite vd. 1994) ve dişi çiçek oluşumunu arttırmaktadır (Khryanin 1987, Louis vd. 1990).

6. Apikal dominans (tepe hakimiyeti) üzerine etkisi:

Oksinler tarafından meydana getirilen lateral tomurcukların gelişiminin inhibisyonu sitokininler tarafından ortadan kaldırılmaktadır (Staden ve Dimalla 1978).

7. Senesens (yaşlanma) üzerine etkisi:

Yaşlanma, yapraklardaki sararma ile kendini gösterir. Bütün doğal ve sentetik sitokininlerin antisenesens aktivitesi gösterdiği saptanmıştır (Dumbroff ve Walker 1979).

8. Kloroplast gelişimi ve klorofil sentezi üzerine etkisi: Etiyole yaprak ve kotiledonlar ışığa maruz bırakılmadan önce sitokininle muamele edildiğinde, tıpkı ışıktaki gibi kloroplastlarda özellikle grana oluşumunun artmasıyla etioplastların geliştiği ve klorofil oluşum oranının arttığı bildirilmektedir (Lew ve Tsuji 1982: Salisbury ve Ross'dan 1992).

9. Nükleik asit, protein ve enzim sentezi üzerine etkisi: Sitokininler, translasyonel ve post-transkripsiyonal seviyelerde direkt etkili olarak RNA, enzim ve protein sentezini kontrol etmektedir (MaaB and Klambt 1977, Szweykowska 1987).

10. Tuber oluşumu üzerine etkisi: Staden ve Brown (1979), patates bitkisinde yeni tuberlerin oluşmasının ana tuberde sitokinin seviyesinin artmasına bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda kullandığımız **Phanerochaete chrysosporium ME446** fungusu **Basidiomycetes** sınıfına aittir. Bu grup funguslarda talluslar, filamentli hif olan vejetatif yapılardır. Hif kütlesi için miselyum terimi kullanılmaktadır. Tallusların farklılaşmasıyla fungal üreme yapıları meydana gelmektedir. Funguslar mayoz bölünme ile sporları oluşturarak seksüel olarak veya mayoz bölünmenin olmadığı durumda aseksüel olarak üreyebilmektedir. Yeryüzünde insanlığa fayda ve zararları olan çok sayıdaki fungus türleri çeşitli kimyasal maddeleri sentezleyebilmekte ve bu yetenekleri uzun yıllardan beri araştırmacılara konu olmaktadır. Bu maddelerin birçoğu hücre replikasyonu ve büyümesi için gerekli materyallerdir. Böyle bileşikler primer metabolitler olarak adlandırılmaktadır. Sitrik asit ve etanol birkaç özel fungus tarafından üretilen primer metabolitlerdir. Sekonder metabolizma, primer metabolizmaya zıt olarak fungus büyümesi için esas olmayan metabolitlerin üretildiği, büyümenin olmadığı, durduğu fazdır

(Bentley ve Bennett 1988). Antibiyotikler, toksinler, anti-kanser ilaç ham maddeleri, boyalar, büyüme regülatörleri, halusinojenler, immunosupresantlar gibi ilaçlar, endüstri ve tarım açısından öneme sahip en iyi bilinen sekonder metabolitlerdir (Berry 1988).

Yüksek bitkilerden başka fungusların da bitki büyüme maddelerinden oksin (IAA), gibberellin, absisik asit (ABA) ve sitokinin sentezlediklerine ilişkin kanıtlar bulunmaktadır.

IAA'nın örneğin, **Fusarium oxysporum f. cubense** (Mace 1965), **Aspergillus terreus** (Scott vd. 1974), **Funaria hygrometrica** (Bopp ve Bhatla 1987) ve **Dipodascopsis uninucleata** (Elwy 1989) tarafından bir metabolit olarak sentezlendiği saptanmıştır. **Rhizopus** ve **Absidia ramosa** funguslarının agar ortamlarında yulaf koleoptillerinin büyümesini uyaran aktif bir maddenin (oksin) varlığı da rapor edilmektedir (Scott vd. 1974). Hem patojen ve hem de patojen olmayan funguslar tarafından oksin üretiminin olduğu da bildirilmektedir (Allen 1954, Gruen 1959). Ayrıca, çeşitli **Aspergillus** türleri ve bitki yaprakları üzerinde parazit yaşayan funguslar tarafından oksin üretimi de rapor edilmektedir (Gruen 1959, Buckley 1971). IAA'nın **Pseudomonas solanacearum** (Sequeira ve Williams 1964), **Agrobacterium rhizogenes** (Epstein vd. 1991), **Azotobacter vinelandii** ATCC 12837 (Gonzalez-Lopez vd. 1986), **Streptomyces griseoviridis** (Tuomi vd. 1994) gibi patojen ve patojen olmayan bakteriler tarafından da sentezlendiğine dair kanıtlar bulunmaktadır.

GA₃' ün **Gibberella fujikuroi** (**Fusarium moniliforme**) 'den (Harada ve Lang 1965, Cross ve Myers 1969, Hanson and Willis 1992, Rachiev vd. 1993, Cihangir ve Aksöz 1993) başka, **Sphaceloma bidentis**, **S. monihoticola**, **S. menthae**, **S. perseae**, **S. rhois** (Rademacher 1992), **Agaricus bisporus** (Pegg 1973), **Aspergillus niger** (Cihangir ve Aksöz 1993) fungusları ve bir bakteri olan **Azotobacter vinelandii** ATCC 12837 (Gonzalez-

Lopez vd. 1986) tarafından üretildiği rapor edilmektedir.

ABA'nın, **Cercospora rosicola** (Norman vd. 1988), **Cercospora cruenta** (Horgan vd. 1983, Bennet vd. 1984, Oritan ve Yamashita 1985), **Ceratocystis coerulescens** (Kettner ve Dörffling 1987), **Botrytis cinerea** (Assante vd. 1977, Marumo vd. 1982) ve **Penicillium italicum** (Rudcini vd. 1969; Dörffling 1972), **Polyporus versicolor**, **Pleurotus ostreatus** (Yeşilada vd. 1990) fungusları tarafından sentezlendiği saptanmıştır. Ayrıca, **Fusarium** ve **Rhizoctonia** türlerinin kültürlerinde (Dörffling vd. 1984) ve **Pleurotus florida** ve **Phanerochaete chrysosporium ME 446**'da (Ünyayar vd. 1990, Ünyayar ve Bozcuk 1992) ABA'nın varlığı rapor edilmektedir.

Sitokininlerin **Taphrina cerasi** ve **T. deformans**

(Johnston ve Trione 1974), **Fusarium moniliforme** ve **F. culmonum** (Staden ve Nicholson 1989) fungusları ve **Azotobacter vinelandii 12837**'nin çeşitli suşları (Gonzalez-Lopez vd. 1986) tarafından üretildiği bildirilmektedir.

Literatür bilgilerimize göre, dünyada funguslarda IAA, GA₃ , ABA ve zeatin biyosentezi ve eldesine ilişkin çalışmalar yaygın olduğu halde, şimdiye dek bu tür konular ülkemizde yeterince ele alınmamıştır. Ülkemizde de IAA-, GA₃- , ABA- ve zeatin-fungus arasındaki ilişkilerin değişik yönlerden ele alınmaya ve çalışılmaya başlanması özellikle tarımsal ekonomiye getireceği katkı bakımından yararlı olacaktır. Çünkü, fungus üretiminde endüstriyel atık ve artıkların değerlendirilmesi de gözönüne alınırsa, funguslardan IAA, GA₃ , ABA ve zeatin eldesinin bitkilerden IAA, GA₃ , ABA ve zeatin eldesine göre daha ekonomik olacağı açıktır. Ayrıca, bazı türlerin tohumları hariç, yüksek bitkilerin pek çok kısmında gibberellin düzeyinin **Fusarium**'un kültür ortamındaki gibberellin düzeyine göre çok daha düşük olduğu da bildirilmektedir (Harada ve Lang 1965). Bunun yanında, funguslar tarafından sekonder bir metabolit olarak üretilen ABA (Norman vd. 1983) miktarlarının bitkilerdeki ortalama ABA miktarlarına göre çok

daha yüksek değerlerde olduğu da Assante vd. (1977) tarafından belirtilmektedir.

Bitki büyüme maddelerinin funguslar tarafından üretimi, fungusların ekosistem içinde büyüme regülasyonunda bir rol oynayabileceğini de akla getirmektedir. Tüm bunlar dikkate alındığında, ülke ekonomisine katkıda bulunmak üzere çeşitli tarımsal alanlarda kullanılabilirlik özelliklerinden dolayı bitki büyüme maddelerinden IAA, GA₃ , ABA ve zeatin'in funguslar tarafından üretimi konusunda fungus çeşitliliğinin artırılması çalışmalarının yapılması gereğine inanıyoruz.

İşte bu nedenlerle de, literatür bilgilerimize göre IAA, GA₃ ve zeatin üretimi konusunda dünyada henüz çalışılmamış olan, biopulp üretimi için önerilen (Ünyayar ve Kolankaya 1990) ve tek hücre protein kaynağı olarak kullanılabilirlik özelliği olan **Phanerochaete chrysosporium ME446** fungusunda primer ya da sekonder bir metabolit olarak IAA, GA₃ ve zeatin'in sentezi, izolasyonu ve biyolojik aktivitelerinin saptanması amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Ayrıca, **Phanerochaete chrysosporium ME446** fungusunda sekonder bir metabolit olarak ABA'nın varlığı yüksek lisans tezimde ortaya konmasına rağmen, 4 farklı büyüme maddesinin ortak bir yöntemle aynı anda varlığının saptanması, yüksek lisans tezimden farklı olarak değişik inkübasyon sürelerinde numunelerin alınması ve farklı konsantrasyonlarda fungal ve sentetik ABA'nın biyolojik aktivitelerinin tayininin yapılması nedeniyle, doktora tez çalışmamın kapsamına dahil edilmiştir. Bu çalışmada, IAA'nın maksimum absorpsiyon gösterdiği farklı iki dalga boyundan hangisinde daha yüksek değerlere sahip olduğunun açıklığa kavuşturulması da amaçlanmıştır. Ayrıca, IAA, GA₃, ABA ve zeatin'in bir metabolit olarak primer ya da sekonder olup olmadıklarının belirlenmesinde kültür periyoduna bağlı olarak kuru misel ağırlığındaki değişimin saptanması da amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Kullanılan Fungus ve Üretim Tekniği

Çalışmamızda **Basidiomycetes** sınıfına giren beyaz-çürükçül funguslardan **Phanerochaete chrysosporium ME446** kullanılmıştır. Bu fungus İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarından sağlanmıştır.

Adı geçen fungusun üretimi Ünyayar ve Bozcuk'a (1992) göre yapılmıştır. Üretimde stok bazal mineral (SBM) olarak tanımlanan besiyeri kullanılmış olup, bu besiyerinin içeriği Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Stok Bazal Mineral (SBM) Besiyerinin İçeriği

kullanılan madde	g/L
$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	0.2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2 \text{O}$	0.1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$	0.05
$\text{NH}_4 \text{H}_2 \text{PO}_4$	0.5
Glukoz	10.0

Besiyerinin pH'sı 4.5'e ayarlanarak, sterilizasyon için erlenmayerlere 100'er mL konulmuş ve 120°C, 15 atm. basınçta otoklavda steril edilmiştir. Hazırlanan besiyerlerine fungus ekimi 100 mL besiyerine 1.0 mL spor veya 1.0 mL miselyum süspansiyonu olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Organizmanın üretiminde batık-kültür üretim tekniği kullanılmıştır. **Phanerochaete chrysosporium ME446** 40°C'de çalkalamalı olarak

42 gün inkübasyona bırakılmıştır.

2.2. IAA, GA₃ , ABA ve Zeatin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Analiz İşlemleri

IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analizi için inkübasyon süresinin 0 (1. saat), 1., 3., 6., 9., 12., 15., 18., 21., 28., 35. ve 42. günlerinde süzme işlemi ile 100'er mL hücre dışı kültür filtratı (numune) alınmıştır. İnkübasyon süreleri fungusun primer ve sekonder metabolizma fazları kapsamındadır. Ayrıca, belirtilen inkübasyon sürelerinde süzme işlemi ile ayrılan miseller de IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analizi için numune olarak alınmıştır. Deneyle 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır.

IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analiz işlemleri sırasıyla Prakash ve Prathapasanen (1990), Zieslin ve Geller (1983), Ames vd. (1979), Topcuoğlu (1987) ve Staden ve Nicholson'ın (1989) çalışmalarından yararlanılarak bazı değişikliklerle hazırlanan Şekil 2.1'deki ekstraksiyon şemasına göre yapılmıştır. **Phanerochaete chrysosporium ME446'** nın hücre dışı kültür filtratlarındaki ve misellerindeki IAA, GA₃, ABA ve zeatin ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında kullanılan bu yöntem sırasıyla aşağıda olduğu gibi uygulanmıştır.

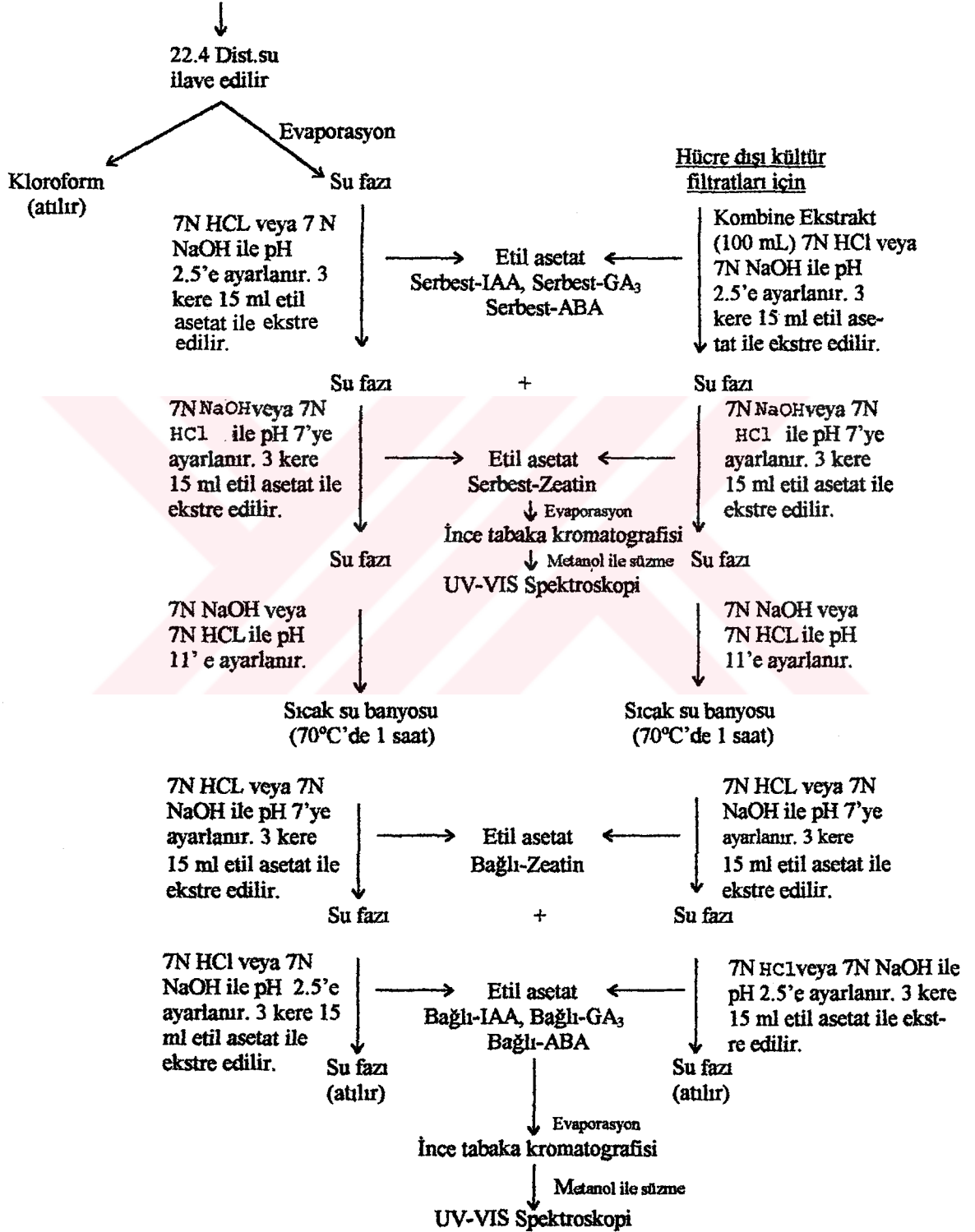
a. Hücre dışı kültür filtratından Milipor filtre kağıdı ile süzülerek alınan her bir kültür ortamı (100 mL) 150 mL'lik kapaklı, kahverenkli şişelere konularak etiketlenmiştir. Her bir numune şişesinin içine antioksidant olarak 1 mg / 100 mL BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) (Elkinawy 1984) konulmuştur. Böylece, saflaştırma işlemine hazır kombine ekstraktlar (100 mL) elde edilmiştir. Daha sonra, bu şişeler -80°C'de derin dondurucuda bir hafta süreyle

Misel Numuneleri İçin

Kombine Ekstrakt (100 ml.)

31

(Metanol : Kloroform : 2N Amonyum hidroksit 12:5:3 v/v/v)



Şekil 2.1. Bitki büyüme maddelerinden IAA , GA₃ , ABA ve zeatin için ekstraksiyon şeması

saklanmıştır (Weiler vd. 1981).

a.I. Kombine ekstrakt sulu kültür ortamlarının pH'sı 7 N HCl veya 7 N NaOH kullanılarak 2.5'e ayarlanmıştır.

a.II. 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.

a.III. pH'sı 2.5'e ayarlanan ve 250 mL'lik ayırma hunilerine alınan her bir sulu kültür ortamının üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki IAA, GA₃ ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise daha önceden hazırlanan ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a.IV. Behere alınan ve pH'sı 2.5'e ayarlanmış su fazı tekrar ayırma hunisine alınmış ve üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak tekrar 3-4 kez çalkalanarak etil asetat ve su fazının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki IAA, GA₃ ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a.V. a.IV tekrarlanmıştır. Böylece, 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki IAA, GA₃ ve ABA, serbest-IAA, -GA₃ ve -ABA'dır.

a. VI. Serbest-zeatin ekstraksiyonu için, beherde kalan su fazının pH'sı 7 N NaOH veya 7 N HCl kullanılarak, 7'ye ayarlanmıştır.

a. VII. pH'sı 7'ye ayarlanan ve 250 mL'lik ayırma hunisine alınmış su fazının üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki zeatinin etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise serbest-IAA, -GA₃ ve ABA içeren aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a. VIII. Behere alınan ve pH'sı 7'ye ayarlanmış su fazı tekrar ayırma hunisine alınmış ve üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki zeatin'in etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise serbest-IAA, -GA₃, -ABA ve -zeatin içeren aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a.IX. a.VIII tekrarlanmıştır. Böylece 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki zeatin, serbest-zeatin'dir. Daha sonra, bu şekildeki

ekstraksiyon balonlarının ağızları alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra -80°C 'de derin dondurucuda evaporasyon işlemine kadar saklanmıştır.

a. X. Beherlerde kalan su fazlarının pH'sı 7 N NaOH veya 7 N HCl kullanılarak 11'e ayarlanmıştır.

a. XI. Beherlerin ağızları fazla sıkı olmamak üzere alüminyum folyo ile kapatılarak 1 saat, 70°C 'de su banyosunda bırakılmıştır. Ancak, beherler bu süre içinde her 10 dakikada bir çalkalanmıştır.

a. XII. Bir saat sonra beherler sıcak su banyosundan çıkarılmış ve içlerindeki su fazlarının pH'sı 7 N HCl veya 7 N NaOH kullanılarak 7'ye ayarlanmıştır.

a. XIII. pH'sı 7'ye ayarlanan ve 250 mL'lik ayırma hunisine alınmış su fazının üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki zeatin'in etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise daha önce hazırlanan ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a. XIV. Behere alınan ve pH'sı 7'ye ayarlanmış su fazı tekrar ayırma hunisine alınmış ve üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak tekrar 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki zeatin'in etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazı birbirinden net olarak

ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a.XV. a.XIV tekrarlanmıştır. Böylece, 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki zeatin, bağlı-zeatin'dir.

a. XVI. Bağlı-IAA, -GA₃ ve -ABA ekstraksiyonu için, beherde kalan su fazının pH'sı 7 N HCl veya 7 N NaOH kullanılarak, 2.5'e ayarlanmıştır.

a. XVII. pH'sı 2.5'e ayarlanan ve 250 mL'lik ayırma hunisine alınan su fazının üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki IAA, GA₃ ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise bağlı-zeatin içeren aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a.XVIII. Behere alınan ve pH'sı 2.5'e ayarlanmış su fazı tekrar ayırma hunisine alınmış ve üzerine 15 mL etil asetat konulmuştur. Ayırma hunisi kuvvetli olarak tekrar 3-4 kez çalkalanarak, etil asetat ve su fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki IAA, GA₃ ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımıyla altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

a.XIX. a.XVIII tekrarlanmıştır. Böylece, 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki IAA, GA₃ ve ABA, bağlı-IAA, -GA₃ ve -ABA'dır.

a. XX. Beherlerde kalan su fazları atılmıştır.

b. Filtre kağıtlarında kalan miseller , içlerinde 100 mL ekstraksiyon solventi (Metanol: Kloroform: 2N Amonyum hidroksit 12:5:3 v/v/v) bulunan 200 mL'lik beherlere aktarılmış ve homojenizatör (Kinematic Polytron Homogeniser) vasıtasıyla çok düşük devirde homojenize edilmiştir. Her homojenat 150 mL'lik kapaklı, kahverenkli şişelere konularak etiketlenmiştir. Her bir numune şişesinin içine anti-oksidant olarak 1 mg / 100 mL BHT konulmuştur. Böylece, saflaştırma işlemine hazır kombine ekstraktlar (100 mL) elde edilmiştir. Daha sonra bu şişeler -80°C'de derin dondurucuda bir hafta süreyle saklanmıştır.

b. I. Her bir kombine ekstrakt, 250 mL'lik ayırma hunilerine alınmış ve üzerine 22.4 mL distile su konulmuştur. Bu ayırma hunileri kuvvetli olarak 3-4 kez çalkalanarak kloroform ve sulu metanol fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle bitki büyüme maddeleri hariç sulu metanol fazındaki organik maddelerin kloroform fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında kloroform ve sulu metanol fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunilerindeki musluklar yardımıyla altta kalan kloroform fazı atılmıştır.

b. II. Ayırma hunilerinde kalan sulu metanol fazı ekstraksiyon balonlarına alınarak su fazı kalana kadar rota-evaporatör (IKA marka) aleti ile 45°C'de su banyosu içinde evapore edilmiştir.

b. III. Ekstraksiyon balonlarında kalan su fazının pH'sı 7 N HCl veya 7 N NaOH kullanılarak, 2.5'e ayarlanmıştır.

b. IV. Madde 2.2.a.II-XX 'deki işlemler tekrarlanmıştır.

2.3. Evaporasyon İşlemleri

Ekstraksiyon balonlarında bulunan hem sulu kültür ortamı (hücre dışı kültür filtratı) hem de misellerdeki serbest-IAA, -GA₃ , -ABA ve -zeatin ve bağlı-IAA, -GA₃ , -ABA ve -zeatin içeren kombine etil asetat fazları rota-evaporatör aleti ile 45°C'de su banyosu içinde tamamen kuruyuncaya kadar evapore edilmiştir. Evaporasyon işlemi sonunda numunelerin ince tabaka kromatografisi işlemleri yapılmıştır.

2.4. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri

1. İnce tabaka kromatografisi cam plakaları (20x20 cm ebatlarında) inorganik bir floresans bileşik içeren silikajel GF₂₅₄ (SIGMA) ile 0.25 mm kalınlığında kaplanmıştır. Daha sonra, bu cam plakalar etüvde 100°C'de 1 saat kurutulmuştur.

2. Cam plakalar, kenarlarından 2 mm kazınarak IAA, GA₃, ABA ve zeatin karışımı ekstraktın bant halinde ve 10⁻² M standart sentetik-IAA (Sigma I-2886), -GA₃ (Sigma G-7645), -ABA (Sigma A-1049) ve -zeatin'in (Sigma Z-0164) nokta halinde uygulanabileceği şekilde iki bölüme ayrılmıştır.

3. Ekstraksiyon balonlarında bulunan IAA, GA₃ , ABA ve zeatin karışımı ekstraktlar, her defasında 0.5 mL metanol ile çözülerek, iki defa çok ince uçlu pastör pipeti yardımı ile etiketlerine göre cam plakalar üzerine bant oluşturularak

tatbik edilmiştir. Ayrıca, her cam plaka üzerine nokta halinde 10^{-2} M standart sentetik-IAA, -GA₃ , -ABA ve -zeatin üst-üste gelecek şekilde sırasıyla ikişer damla uygulanmıştır.

4. Bu cam plakalar, içerisinde isopropanol: amonyak: distile su (10:1:1 v/v/v) (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 çıkartılmış ve daha sonra bir vantilatör karşısında kurutulmuştur.

2.5. IAA, GA₃ , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi

IAA, GA₃ , ABA ve zeatin bölgelerinin belirlenebilmesi için plakalar karanlık odada 254 nm dalga boyundaki UV ışığında incelenmiştir. Plaka üzerinde mavi floresans renk veren ekstrakte ait IAA bölgesi ile standart sentetik IAA bölgesi, mor floresans renk veren ekstrakte ait ABA bölgesi ile standart sentetik ABA bölgesi ve mavi-mor floresans renk veren ekstrakte ait zeatin bölgesi ile standart sentetik zeatin bölgesi kıyaslandı ve her iki IAA, ABA ve zeatin bölgelerinin aynı Rf değerini verdiği gözlemlendi (Koshimizu vd. 1967, Percival 1976, Topcuoğlu 1987). Numunelerdeki GA₃ bölgelerinin UV ışığında belirlenebilmesi için plaka üzerinde standart sentetik-GA₃'ün tatbik edildiği bölüme %5 konsantre H₂ SO₄ içeren etanol çözeltisi (Martinez-Toledo 1988) püskürtülerek standart sentetik GA₃ bölgesi görünür hale getirildi. Mavi-yeşil floresans renk veren standart sentetik GA₃ bölgesi tayin edilerek, elde edilen Rf değerine göre ekstrakte ait GA₃ bölgesi saptanmıştır.

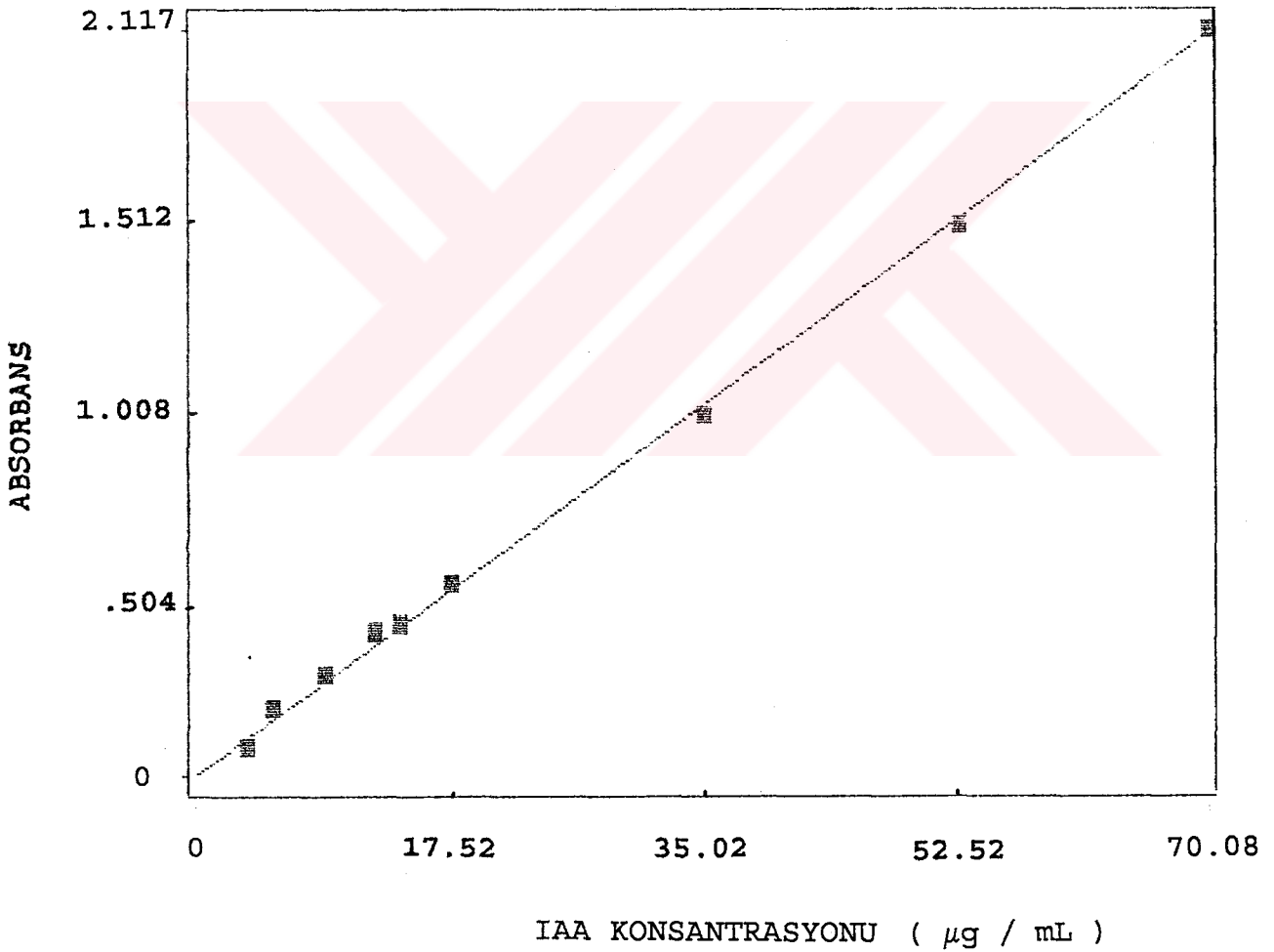
2.6. IAA, GA₃ , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri

UV ışığında belirlenen IAA, GA₃ , ABA ve zeatin bölgeleri standart sentetik-IAA, -GA₃ , -ABA ve -zeatin bölgelerinin altından ve üstünden geçen birer çizgi ile işaretlenmiştir. Cam plakalar üzerindeki işaretli IAA, GA₃ , ABA ve zeatin bölgelerini içeren silikajel uygun bir kazıyıcı yardımıyla kazınarak herbiri ayrı ayrı temiz bir kağıt üzerine alınmıştır. Kağıt üzerine alınan silikajel, boğaz kısımlarına cam pamuğu yerleştirilmiş pastör pipetlerine boşaltılmıştır. Pastör pipetlerindeki silikajelden 2 mL metanol geçirilerek IAA, GA₃ , ABA ve zeatin 10 mL'lik etiketli cam tüplere alınmıştır. Cam tüpler içindeki metanol bir vantilatör karşısında uçurularak, serbest- ve bağlı-IAA, -GA₃ , -ABA ve -zeatin saf olarak elde edilmiştir. İçinde kuru ve saf halde IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraktı bulunan cam tüpler alüminyum folyoya sarılarak UV-VIS spektrofotometre aletinde okuyuncaya kadar -80°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

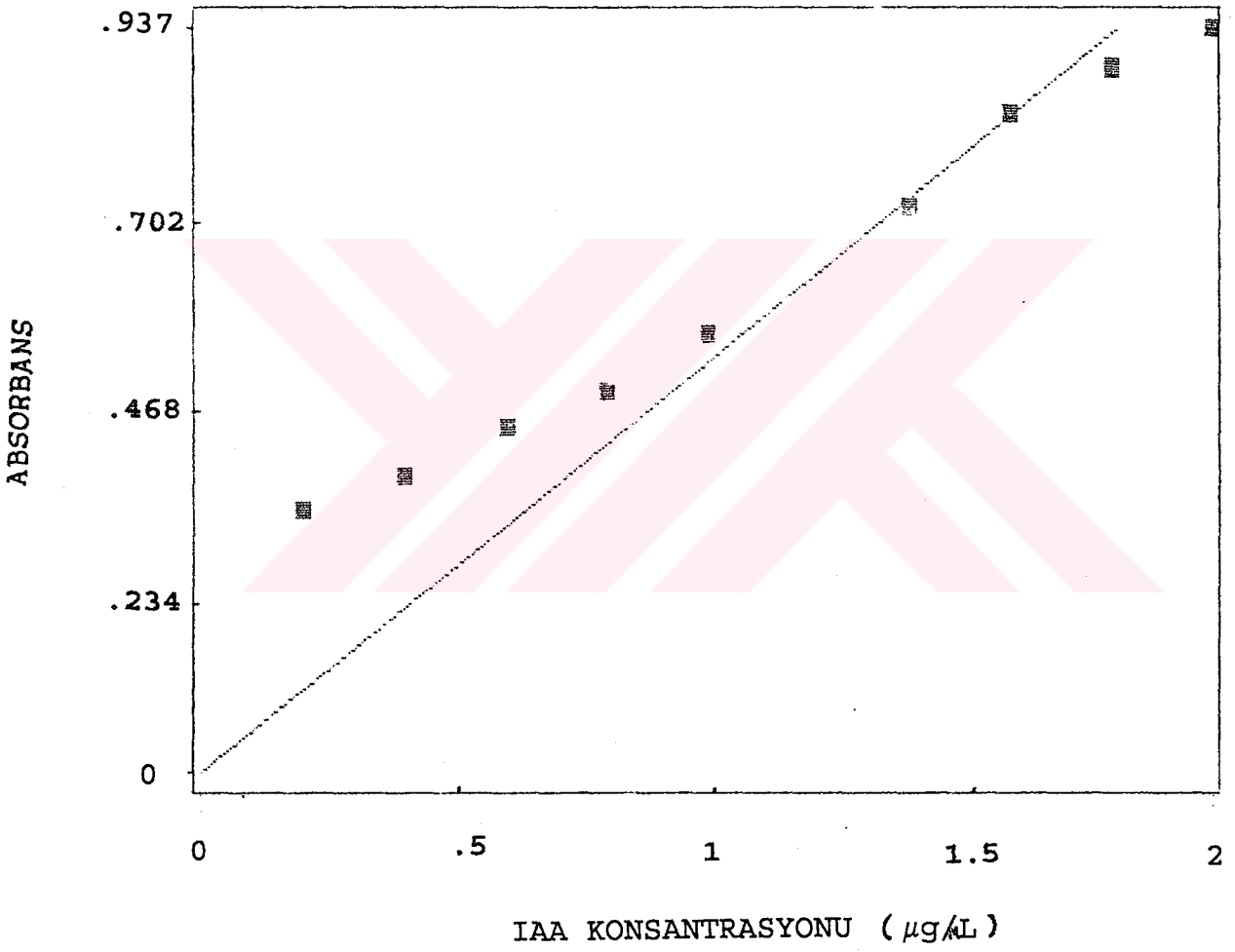
2.7. IAA, GA₃ , ABA ve Zeatin Miktarlarının Spektrofotometre Tekniği ile Tayini

Fungus hücre dışı kültür filtratlarından ve misellerden IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu ve saflaştırılması toplam 72 adet numunede yapılmıştır. Elde edilen IAA ekstraktı 280 ve 222 nm dalga boylarında (Bandurski ve Schulze 1974, 1977, Sabater vd. 1983, Izumi vd. 1988), GA₃ ekstraktı 254 nm dalga boyunda (Holbrook vd. 1961, Cihangir ve Aksöz 1993), ABA ekstraktı 263 nm dalga boyunda (Zeevaart 1977, Mert 1993) ve zeatin ekstraktı 269 nm dalga boyunda (Vreman ve Skoog 1972, Armstrong vd. 1976) UV-VIS spektrofotometre (Phillips marka PU 8715) aletinde köre karşı (kör = metanol) okunmuştur. IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraktlarının

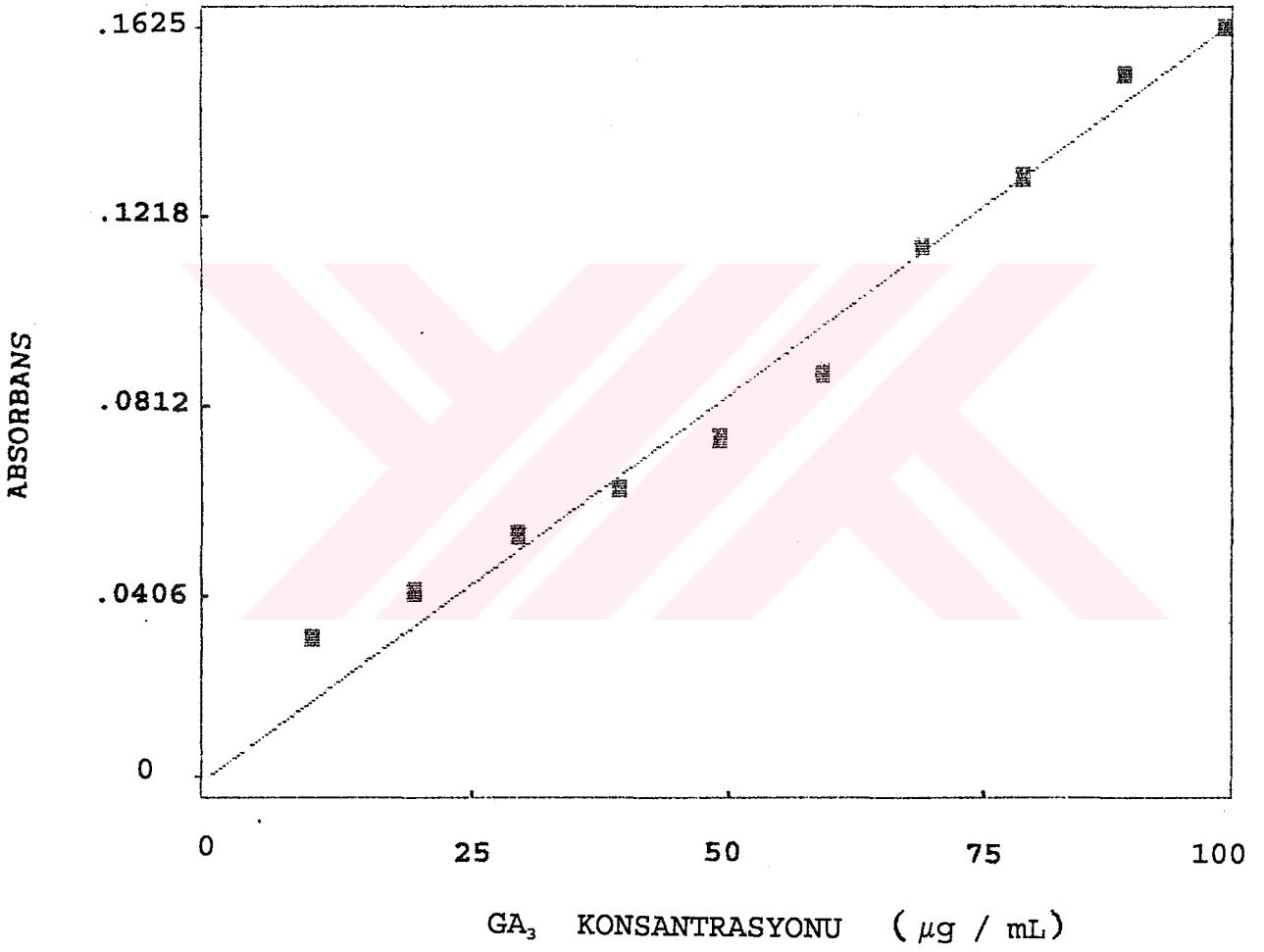
her biri 5'er mL metanolde çözülmüştür. IAA, GA₃, ABA ve zeatin miktarları her biri için ayrı ayrı hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır (Yürekli vd. 1974) (sırasıyla Şekil 2.2, 2.3, 2.4, 2.5 ve 2.6). Fungal-oksin, -gibberellin, -absisik asit ve -sitokinin miktarları, standart sentetik-IAA, -GA₃, -ABA ve -zeatin'e eşdeğer olarak ifade edilmiştir.



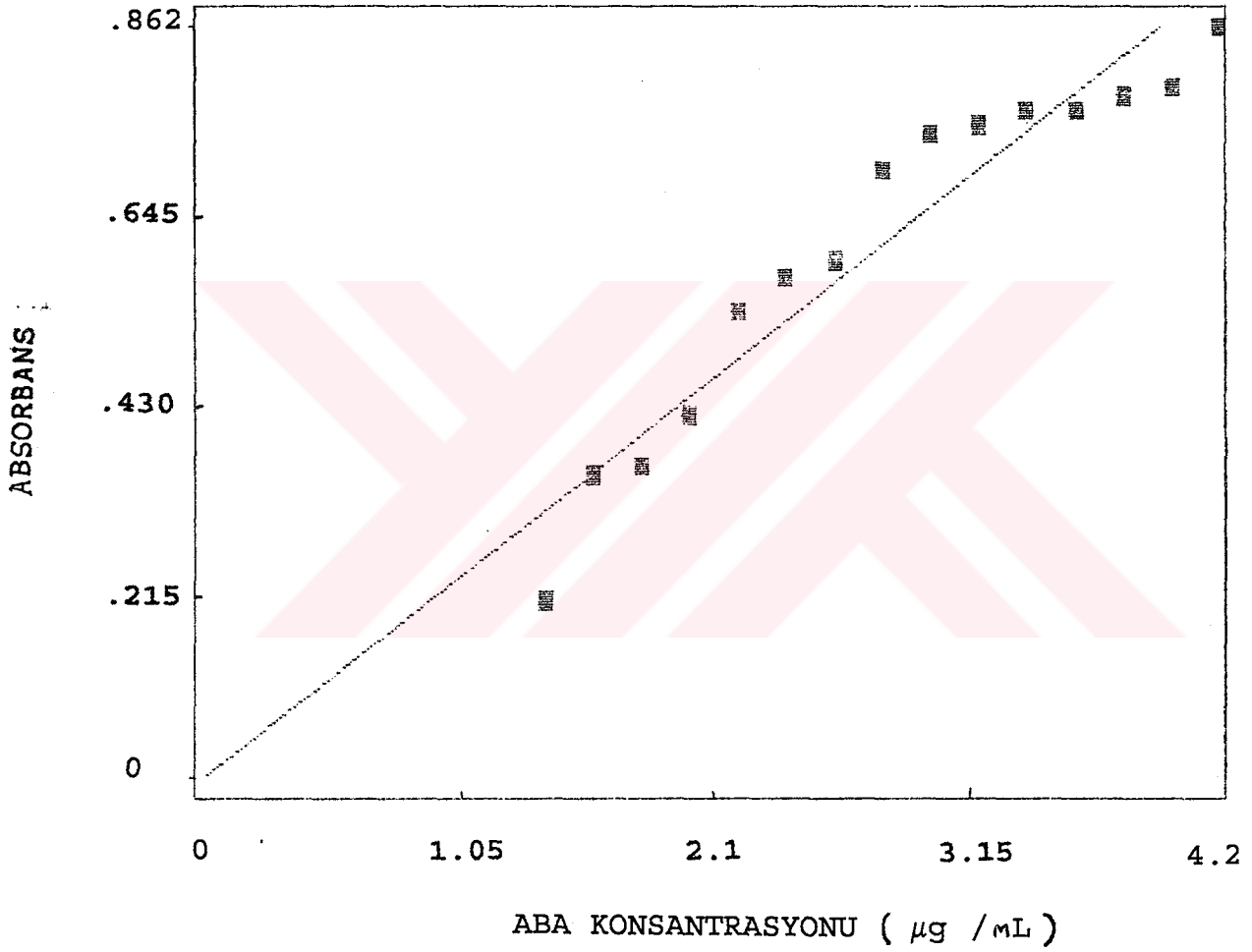
Şekil 2.2. Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda oksinin kantitatif tayininde esas alınan, 280 nm'deki sentetik IAA'nın standart eğrisi



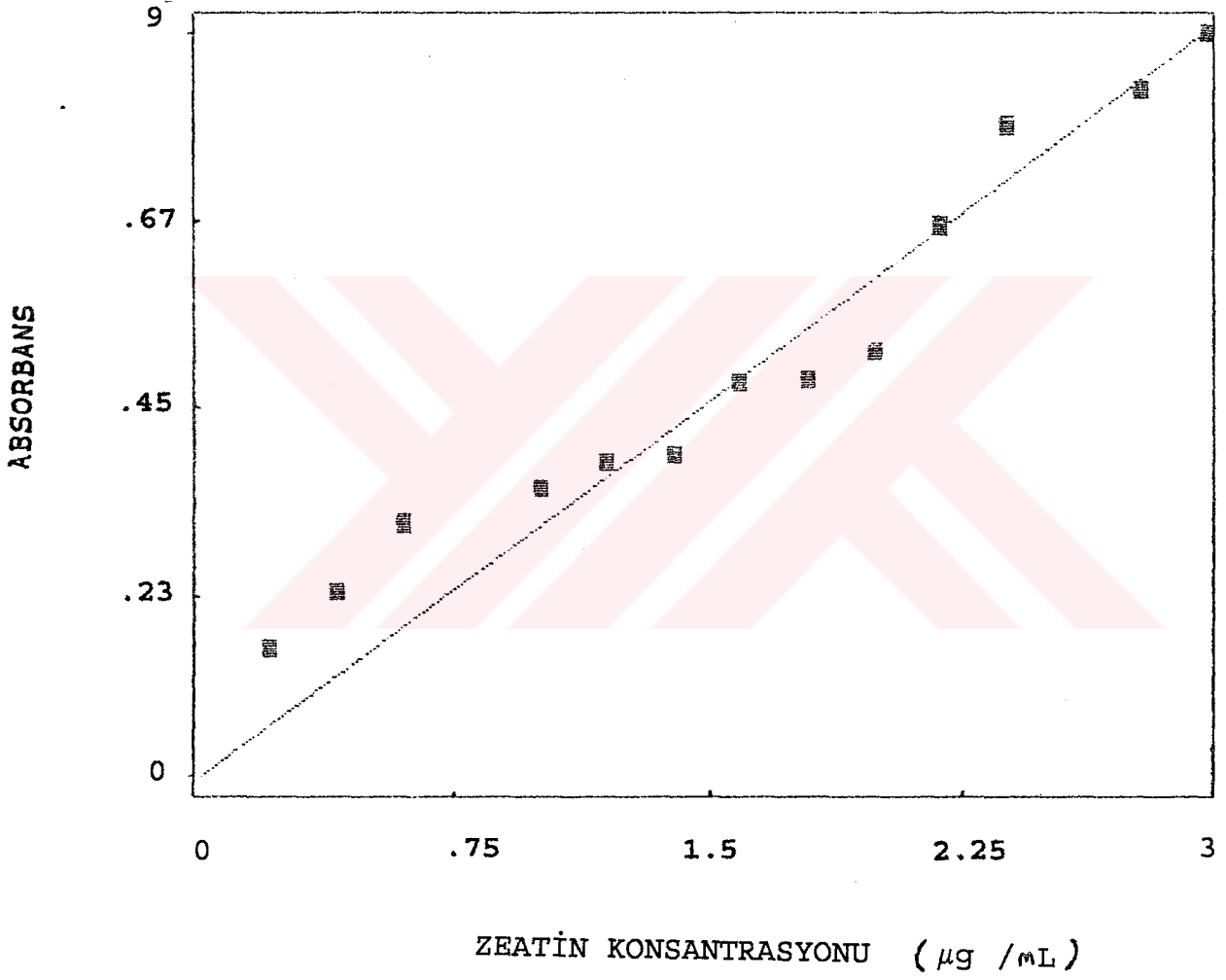
Şekil 2.3. Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda oksinin kantitatif tayininde esas alınan, 222 nm'deki sentetik IAA'nın standart eğrisi



Şekil 2.4. Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda gibberellinin kantitatif tayininde esas alınan, 254 nm'deki sentetik GA₃' ün standart eğrisi



Şekil 2.5. Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda absisik asit'in kantitatif tayininde esas alınan, 263 nm'deki sentetik ABA'nın standart eğrisi



Şekil 2.6. Spektrofotometre ile fungal ekstraktlarda sitokininin kantitatif tayininde esas alınan, 269 nm'deki sentetik zeatin'in standart eğrisi

2.8. Biyolojik Test İçin Fungal Stok ve Standart Sentetik Stok IAA, GA₃ , ABA ve Zeatin Çözeltilerinin Hazırlanması

2.8.a. Fungal stok IAA, GA₃ , ABA ve zeatin çözeltilerinin hazırlanması

Her numuneden IAA, GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve miktar tayini sonucunda elde edilen serbest- ve bağlı-IAA (Percival ve Bandurski 1976, Guinn ve Brummett 1988, Kudoyarova vd. 1989), serbest- ve bağlı-GA₃ (Pegg 1973, Arigayo vd. 1984, Doumas vd. 1992), serbest- ve bağlı-ABA (Powell ve Seeley 1974: Ünyayar'dan 1990), serbest- ve bağlı-zeatin (Mizrahi vd. 1971, Sturtevant ve Taller 1989) değerlerinin toplamı, toplam-IAA, -GA₃ , -ABA ve -zeatin miktarlarını ifade etmektedir. 72 adet numune için toplam-IAA değerlerinin toplamı $3,14 \cdot 10^{-5}$ M / 360 mL, toplam-GA₃ değerlerinin toplamı $1,907 \cdot 10^{-4}$ M / 360 mL, toplam-ABA değerlerinin toplamı $5,08 \cdot 10^{-6}$ M / 360 mL ve toplam-zeatin değerlerinin toplamı $7,66 \cdot 10^{-6}$ M / mL olarak bulunmuştur. Daha sonra, bu stok çözeltilerden biyolojik testte kullanılmak üzere, 1.5 mL metanol + 8.5 mL 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi içerecek IAA için; 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M / 10 mL, GA₃ için; 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} M / 10 mL, ABA için; 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M / 10 mL ve zeatin için; 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M / 10 mL çözeltiler hazırlanmıştır.

2.8.b. Standart sentetik stok IAA, GA₃ , ABA ve zeatin çözeltilerinin hazırlanması

Standart sentetik stok IAA, GA₃ , ABA ve zeatin çözeltileri fungal stok IAA, GA₃ , ABA ve zeatin çözeltilerinin konsantrasyonlarına eşdeğer olarak hazırlanmıştır. Standart sentetik stok IAA çözeltilerini hazırlamak için, 1.752 mg IAA

10 mL metanolde çözülerek 10^{-3} M stok IAA çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok IAA çözeltisinden 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M / 10 mL IAA çözeltileri hazırlanmıştır. Standart sentetik stok GA_3 çözeltilerini hazırlamak için, 3.464 mg GA_3 10 mL metanolde çözülerek 10^{-3} M stok GA_3 çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok GA_3 çözeltisinden 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} M / 10 mL GA_3 çözeltileri hazırlanmıştır. Standart sentetik stok ABA çözeltilerini hazırlamak için, 2.642 mg ABA 10 mL metanolde çözülerek 10^{-3} M stok ABA çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok ABA çözeltisinden 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M / 10 mL ABA çözeltileri hazırlanmıştır. Standart sentetik stok zeatin çözeltileri hazırlamak için, 2.192 mg zeatin 10 mL metanolde çözülerek 10^{-3} M stok zeatin çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok zeatin çözeltisinden 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M / 10 mL zeatin çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan çözeltiler içerisinde 1.5 mL metanol ve 8.5 mL 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi bulunmaktadır. Hoagland kültür çözeltisi Hoagland ve Arnon (1938) ve Bozcuk'a (1978) göre (Tablo 2.2) hazırlanmıştır.

Tablo 2.2. Normal Hoagland Kültür Çözeltisinin Bileşimi

Makro-elementler	g/L	Firma adı
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.821	Merck
KNO_3	0.506	Merck
KH_2PO_4	0.136	Merck
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.120	Merck
Mikro-elementler	mg/L	
$\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Ferrik sitrat)	50.00	Merck
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.80	Merck
H_3BO_3	2.90	Merck
ZnCl_2	0.12	Merck
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05	Merck

Not: 1/2 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisi hazırlamak için, Tablo 2.2'de belirtilen miktardaki makro ve mikro-elementler 2 L distile suda eritilmiştir. Çözeltinin pH'sı 5.7-5.8'e ayarlanmıştır. pH ayarlamasında 0.05 M KOH kullanılmıştır.

2.9. Biyolojik Test

2.9.a. ABA ve IAA için yulaf koleoptil büyüme testi

ABA ve IAA'nın kalitatif (nitel) olarak tayininde kullanılan biyolojik test Nitsch ve Nitsch'in (1956) geliş-

tirdiği, Kaşka (1970) ve Özmen'in (1991) bazı değişiklikler yaparak uyguladığı " Yulaf Koleoptil Büyüme Testi " tekniğine göre yapılmıştır. Deneylerde Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesinden sağlanan Ankara 76 PN:801 1990 ürünü yulaf (*Avena sativa*) kullanılmıştır.

2.9.a.i. Yulaf koleoptil büyüme testi için çeşitli uygulama gruplarının hazırlanması

Yulaf koleoptil büyüme testi için çeşitli uygulama grupları aşağıda gösterildiği şekilde hazırlanmıştır. Deneyler 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır.

1. 1/2 N Hoagland kóltür çözeltilisi grubu (kontrol)
2. 1/2 N Hoagland kóltür çözeltilisi + metanol grubu
(8.5 mL 1/2 N Hoagland kóltür çözeltilisi +
1.5 mL metanol) (kontrol)
3. Sentetik 10^{-6} M ABA grubu
4. Sentetik 10^{-7} M " "
5. Sentetik 10^{-8} M " "
6. Sentetik 10^{-9} M " "
7. Fungal 10^{-6} M " "
8. Fungal 10^{-7} M " "
9. Fungal 10^{-8} M " "
10. Fungal 10^{-9} M " "
11. Sentetik 10^{-5} M IAA grubu
12. Sentetik 10^{-6} M " "
13. Sentetik 10^{-7} M " "
14. Sentetik 10^{-8} M " "
15. Fungal 10^{-5} M " "
16. Fungal 10^{-6} M " "
17. Fungal 10^{-7} M " "
18. Fungal 10^{-8} M " "

2.9.a.ii. Yulaf koleoptillerinin büyütülmesi

Bunun için, yulaf tohumları içerisinde distile su bulunan beherlere konularak 18 saat süreyle şişmeye bırakılmıştır. Şişme sırasında tohumlar güçlü bir hava kompresörüne bağlanan havalandırma sistemi ile havalandırılmıştır. Tohumların şişmesi bu şekilde sağlandıktan sonra, önceden hazırlanmış olan ve içinde gürgen talaşı bulunan plastik kaplara tek tek bir pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Kaplara akşamları bir miktar çeşme suyu püskürtülerek, üzerleri cam plakalarla kapatılmış ve 25°C'lik karanlık bir odada tutulmuştur. Koleoptillerin büyümesi kontrollü olarak izlenmiş, ikinci günde koleoptil boyları cam plakalara ulaştığında, plakalar kaldırılmış ve koleoptil büyümesi bu şekilde devam etmiştir (Şekil 2.7). Üçüncü gün sonunda koleoptil boyları 2.0-2.5 cm uzunluğa erişmiştir.

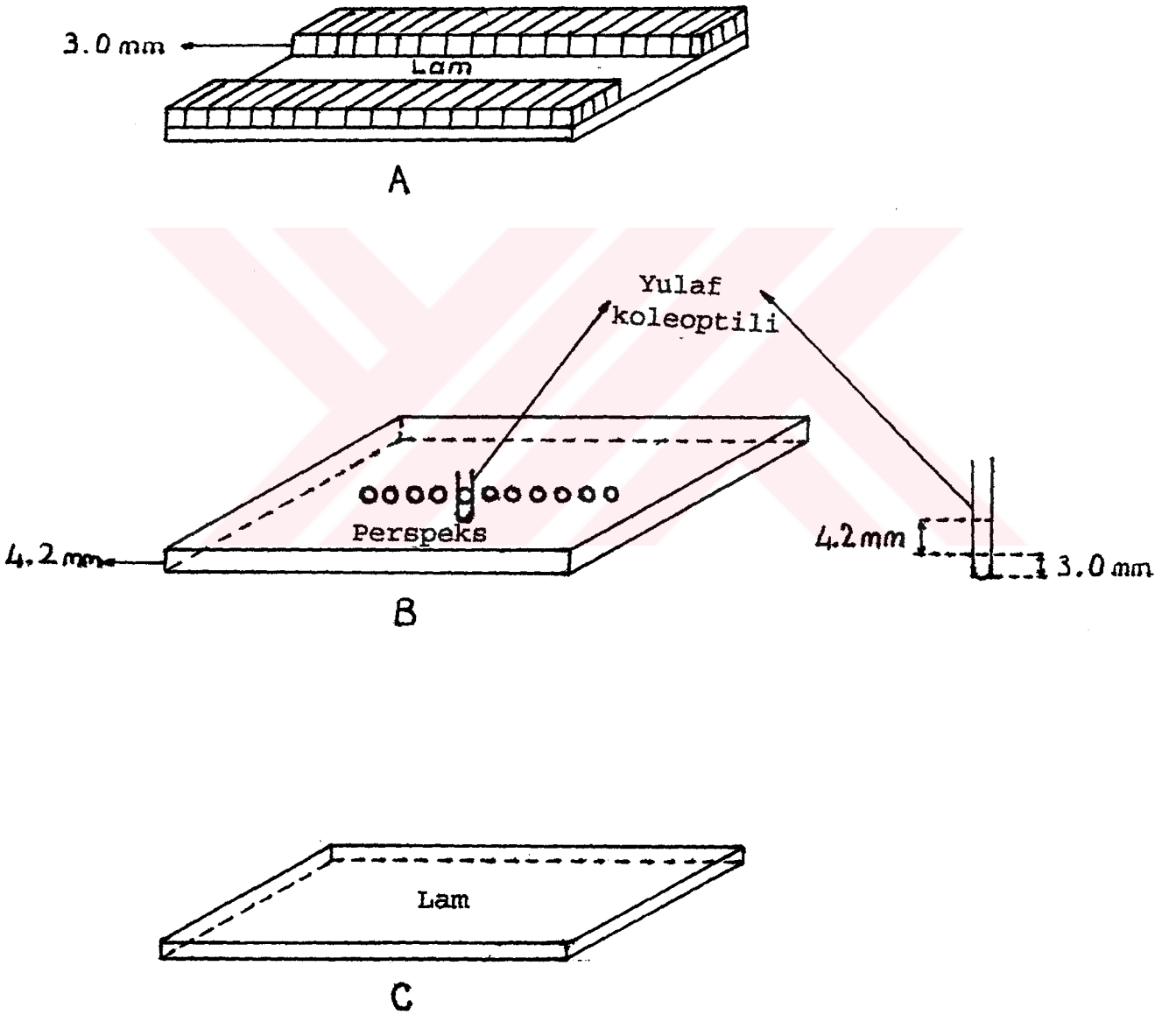
2.9.a.iii. Yulaf koleoptillerinin kesilmesi

Yulaf koleoptillerinin testte kullanılan kısmı tepeden itibaren 3.0-7.2 mm'lik kısmına karşılık gelen 4.2 mm'lik silindir şeklindeki parçalardır. Bu parçaların 7'lik gruplar halinde seri olarak kesilmesini kolaylaştırmak için, Kaşka'nın (1970) kullandığı alet kullanılmıştır (Şekil 2.8).

Alet üç parçalı olup, önce (b) kısmı (a) kısmının 3.0 mm kalınlıktaki eşikleri üzerine tesbit edilmiş ve (b) kısmındaki deliklerden tepe kısımları (a) kısmının tabanına değinceye kadar sokulan koleoptiller keskin bir jilet ile üstten kesilmiş ve bu kısma (c) kısmı kapatılarak, aletin alt kısmı üste gelecek şekilde çevrilmiş ve (a) kısmı buradan alınmıştır.



Şekil 2.7. Yulaf koleoptil büyüme testi için büyütülen 2 günlük yulaf koleoptillerinin görünüşü



Şekil 2.8. Koleoptillerin kesilmesinde kullanılan alet

Bu şekilde (b) kısmının üstünde kalan yulafların 3.0 mm'lik tepe kısımları kesildikten sonra (b) kısmı içinde kalan 4.2 mm'lik 7 adet yulaf silindiri önceden hazırlanan deney grupları planına göre etiketlenmiş 2.5 x 7.5 cm boyutlarındaki cam tüplere alınmıştır. Her bir numune tüpüne etiketine uygun olarak 2.0 mL çözelti konulmuş ve tüplerin ağzı parafilm ile kapatılarak, tüpler alüminyum folyo ile sarılmıştır. Numune tüpleri 25°C'deki karanlık odada 24 saat süreyle bekletilmiştir.

2.9.a.iiii. Yulaf koleoptil boylarının ölçülmesi

Numune tüplerindeki tüm yulaf koleoptillerinin 24. saatteki boylarını ölçebilmek için yulaf koleoptilleri bu süre sonunda gruplara uygun olarak etiketlenmiş petri kutularına konmuş ve fotokopi makinasında fotokopileri çekilmiştir (Şekil 2.9). Fotokopisi çekilen koleoptillerin boyları Nikon SMZ 10 model stereo mikroskop altında milimetrik bir cetvel ile ölçülmüştür. Daha sonra, her bir numune tüpünde bulunan 7 adet yulaf koleoptil uzunluğunun ortalaması alınarak, her bir deney grubunun bir tekrarı için ortalama yulaf koleoptil boyu bulunmuştur. Her bir deney grubu için ortalama yulaf koleoptil boyu ise, 3 tekrarın ortalamasıdır.

2.9.b. GA₃ için pirinç çimlendirme testi

Yöntem olarak gibberellik asit için çok özgül ve duyarlı bir yöntem olan pirinç çimlendirme testi (Rice seedling micro-drop method) kullanıldı (Murakami 1968, Nishijima ve Katsura 1989). Fizyolojik esası cüce pirinç tohumlarında çimlenmenin ve büyümenin stimüle edilmesine dayanan ve özellikle Japon araştırmacılar tarafından geliştirilen bu test için genetik defektli cüce pirinç varyetesi (**Oryza sativa L.**



Şekil 2.9. Yulaf koleoptil büyüme testinde 24. saatte, fotokopi makinasında fotokopileri çekilmiş yulaf koleoptil parçalarının görünüşü

cv. **Tan-ginbozu**) Tokyo Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden Prof. Noburo Murofushi ile yazışmalar suretiyle temin edildi (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113, JAPAN).

2.9.b.i. Pirinç çimlendirme testi için çeşitli uygulama gruplarının hazırlanması

Pirinç çimlendirme testi için çeşitli uygulama grupları aşağıda gösterildiği şekilde hazırlanmıştır. Deneyler 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır.

1. 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi grubu (kontrol)
2. 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubu (8.5 mL 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + 1.5 mL metanol)
(kontrol)
3. Sentetik 10^{-4} M GA_3 grubu
4. Sentetik 10^{-5} M " "
5. Sentetik 10^{-6} M " "
6. Sentetik 10^{-7} M " "
7. Fungal 10^{-4} M " "
8. Fungal 10^{-5} M " "
9. Fungal 10^{-6} M " "
10. Fungal 10^{-7} M " "

2.9.b.ii. **Tan-ginbozu** cüce pirinç tohumlarının çimlendirilmesi ve büyütülmesi

Tan-ginbozu cüce pirinç tohumları distile su içerisinde $25^{\circ}C$ 'de 2-3 gün tutulmuştur. Şişme sırasında tohumlar güçlü bir hava kompresörüne bağlanan havalandırma sistemi ile havalandırılmıştır. 3. günün sonunda koleoptilleri 0.5 mm uzayan tohumlar kullanıma hazır hale getirilmiştir. 10 cm çaplı petri kutularına 2-3 mm kalınlığında pamuk yerleştirilmiş ve

petriler pastör fırınında (Nüve marka) steril edilmiştir. **Tan-ginbozu** cüce pirinç tohumları, herbir petriye 12 tane olacak şekilde yerleştirilmiştir (Cihangir 1992). Hoagland ve Arnon (1938) ve Bozcuk'a (1978) göre hazırlanan 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi kullanılarak (20 mL) ortam büyümeye elverişli hale getirilmiştir. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış olan fungal ve standart sentetik-GA₃ çözeltileri ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol ve 1/2 N Hoagland kültür çözeltileri mikrodamlı yöntemi ile her bir tohuma 20 µL olmak üzere uygulanmıştır (Murakami 1968). Uygulamalar 3 gün tekrarlanmış ve her uygulamadan sonra petri kutularının kapakları kapatılmıştır. Tohumlar bitki büyüme odasında kontrollü koşullarda 10.000 lux ışık şiddeti, gece 18 ± 2°C, gündüz 25 ± 2°C sıcaklık, % 65 ± 5 bağıl nem, 15 saat (6.00-21.00 arası) ışık, 9 saat (21.00-6.00 arası) karanlık periyodunda çimlenmeye bırakılmıştır. Aydınlatma şiddetinin %90'ı floresans lamba, % 10'u ise inkandescent lamba ile sağlanmıştır. Fidelerin boyları petri kutusu kapağına ulaştıktan sonra kapaklar alınmış ve Hoagland kültür çözeltisinin buharlaşmasını önlemek için üzerleri naylon ile örtülmüştür.

2.9.b.iii. **Tan-ginbozu** cüce pirinç fidelerin 2. yaprak kın uzunluklarının ölçülmesi

Son uygulamadan 7 gün sonra fidelerin (Şekil 2.10, 2.11, 2.12, 2.13 ve 2.14) ikinci yaprak kın uzunlukları (Şekil 2.15) kumpast ile ölçülmüştür. En kısa ve en uzun ölçümler atılarak kalan 10 uzunluğun ortalaması alınmış ve böylelikle her bir deney grubunun bir tekrarı için ortalama **Tan-ginbozu** cüce pirinç fidelerinin 2. yaprak kın uzunluğu bulunmuştur. Her bir deney grubu için ortalama **Tan-ginbozu** cüce pirinç fidelerinin 2. yaprak kın uzunluğu ise 3 tekrarın ortalamasıdır.

A



B



Şekil 2.10. Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin görünüşü

- A- $1/2$ N Hoagland kültür çözeltisi grubu (kontrol)
B- $1/2$ N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubu (kontrol)

A



B



Şekil 2.11. Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin görünüşü

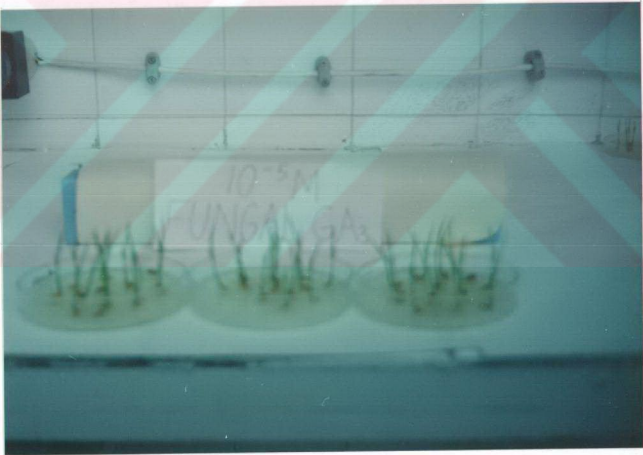
A- 10^{-4} M standart sentetik- GA_3 grubu

B- 10^{-4} M fungal- GA_3 grubu

A



B



Şekil 2.12. Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra elde edilen **Tan-ginbozu** çüce pirinç fidelerinin görünüşü

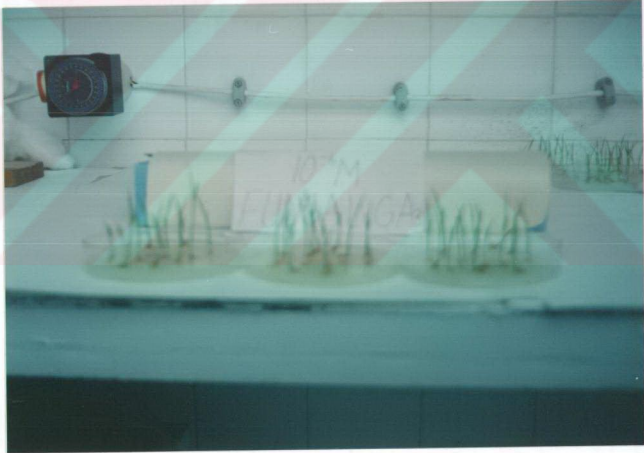
A- 10^{-5} M standart sentetik- GA_3 grubu

B- 10^{-5} M fungal- GA_3 grubu

A



B



Şekil 2.13. Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** cüce pirinç fidelerinin görünüşü

A- 10^{-6} M standart sentetik- GA_3 grubu

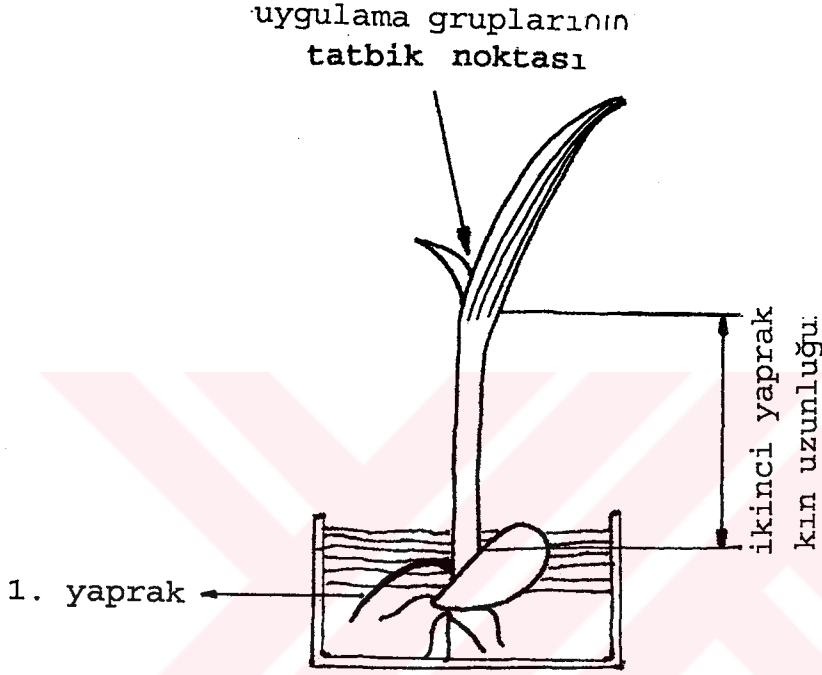
B- 10^{-6} M fungal- GA_3 grubu



Şekil 2.14. Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** cüce pirinç fidelerinin görünüşü

A- 10^{-7} M standart sentetik- GA_3 grubu

B- 10^{-7} M fungal- GA_3 grubu



Şekil 2.15. Pirinç çimlendirme testinde son uygulamadan 7 gün sonra **Tan-ginbozu** cüce pirinç fidesinin ikinci yaprak kın uzunluğunun şematik görünüşü

2.9.c. Zeatin için klorofil miktar tayini testi

Deneylerde Adana Pioneer Tohum Islah ve Üretim Merkezi'nden sağlanan PN:6424 1993 ürünü ayçiçeği (**Helianthus annuus L.**) kullanılmıştır.

2.9.c.i. Klorofil miktar tayini için çeşitli uygulama gruplarının hazırlanması

Klorofil miktar tayini için çeşitli uygulama grupları aşağıda gösterildiği şekilde hazırlanmıştır. Deneyler 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır.

1. 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi grubu (kontrol)
2. 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubu (8.5 mL 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + 1.5 mL metanol) (kontrol)
3. Sentetik 10^{-6} M zeatin grubu
4. Sentetik 10^{-7} M " "
5. Sentetik 10^{-8} M " "
6. Sentetik 10^{-9} M " "
7. Fungal 10^{-6} M " "
8. Fungal 10^{-7} M " "
9. Fungal 10^{-8} M " "
10. Fungal 10^{-9} M " "

2.9.c.ii. Deneysel koşullar

Çimlenme ve büyüme devresini kapsayan tüm çalışmalar bitki büyütme odasında kontrollü koşullarda yapılmıştır. Her iki devrede de bitki büyütme odasındaki sıcaklık gece $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$, gündüz $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ve bağıl nem $\%65 \pm 5$ 'e ayarlanmış olup, deney süresince koşullar sabit kalmıştır.

Çimlendirme devresinde kültür kapları karanlıkta bırakılmış, fakat büyüme devresinde bitkiler 15 saat (7.00-22.00 arası) ışık, 9 saat (22.00-7.00 arası) karanlık periyodunda bırakılmıştır.

Bitki büyütme odasındaki aydınlatma tavandan olup, aydınlatma şiddeti bitki yaprak yüzeyinde 10.000 lux'tür. Aydınlatma şiddetinin $\%90$ 'ı floresans lamba, $\%10$ 'u ise

inkendesKent lamba ile sağlanmıştır.

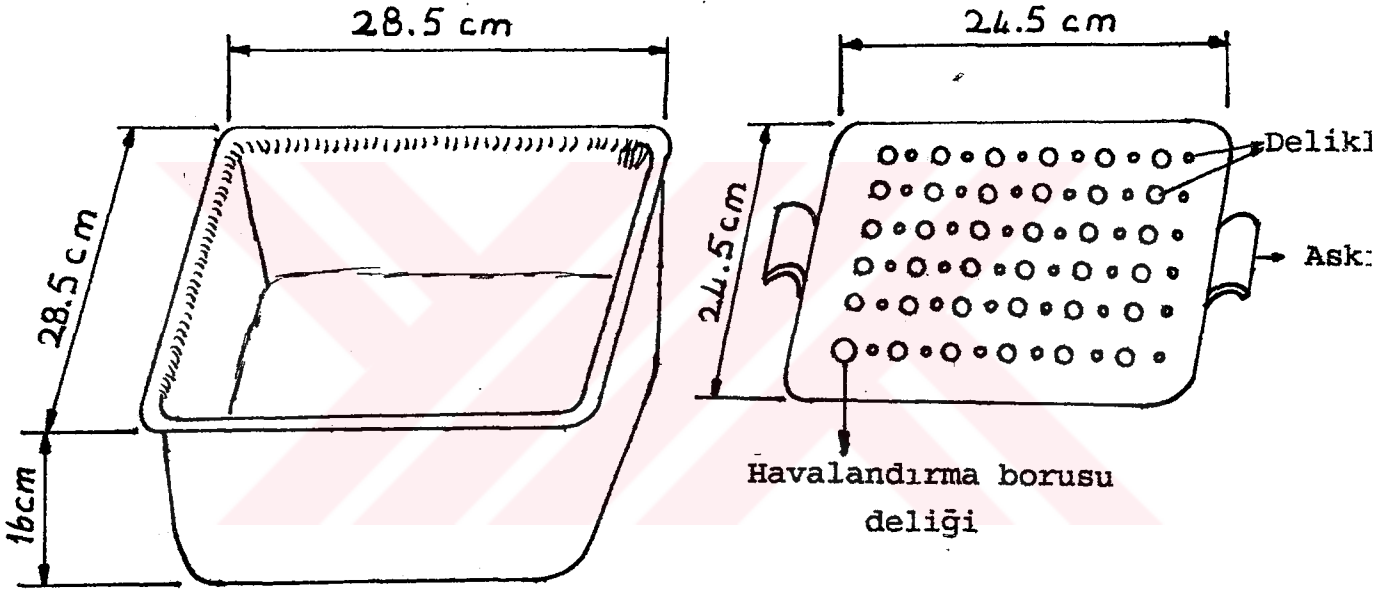
2.9.c.iii. Tohum imlendirme yöntemi

imlendirme işlemine başlamadan önce dolgun görünüşlü, sağlam ve benzer büyüklükte 200 adet tohum seçilmiş ve bir beher içinde 200 mL distile su ile ıslatılarak 24 saat srey- le şişmeye bırakılmıştır. şişme esnasında tohumlar güçlü bir hava komprasrne bağlanan havalandırma sistemi ile havalan- dırılmıştır. 24 saat sonra şişmiş tohumlar çimlendirme kaplarına alınmıştır. imlendirme kabı olarak 31.5 x 23 x 6 cm boyutlarında kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. im- lendirme kapları etiketlenip ilerine çok ince bir tabaka pamuk konduktan sonra bunun üzerine iki tabaka süzgeç kağıdı yerleştirilmiştir. Kaplardaki pamuk ve süzgeç kağıtları 40 mL 1/2 N Hoagland kültür çözeltisiyle nemlendirildikten sonra, tohumlar iki kağıt tabakası arasına dikkatlice yayılmıştır. imlendirme kaplarının kapakları kapatılıp bitki büyütme oda- sına yerleştirilmiş ve tohumların çimlenmesi için kaplar 3 gün karanlıkta bırakılmıştır. Çimlenme için, radikulanın belirgin derecede testadan çıkmış olması esas kabul edilmiş- tir.

2.9.c.iiii. Bitki büyütme yöntemi

Bitki büyütme işleminde özel bitki büyütme kapları kul- lanılmıştır. Bu kaplar plastik olup, 28.5x28.5x16 cm boyutla- rında ve yaklaşık 6.5 L 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi ala- bilmektedir. Ayrıca, her kap için bitkileri üzerinde taşıya- bilecek 24.5x24.5 cm ebatlarında fiberglas'tan yapılmış iki yanında askısı olan delikli kapak şeklinde bir tabla bulun- maktadır (şekil 2.16). Her tablanın üzerinde 30 adet 1 cm çapında (mısır gibi büyük tohumlar için), 30 adet 0.5 cm çapında (ayçiçeği ve buğday gibi küçük tohumlar için) delik

bulunmaktadır. Ayrıca, tablanın bir köşesinde havalandırma borusu için büyükçe bir delik vardır.



Şekil 2.16. Bitki büyütme kabı ve üzerine yerleştirilen delikli tabla

Plastik kaplar, üzerlerine yerleştirilen tabla seviyesine kadar Hoagland ve Arnon (1938) ve Bozcuk'a (1978)

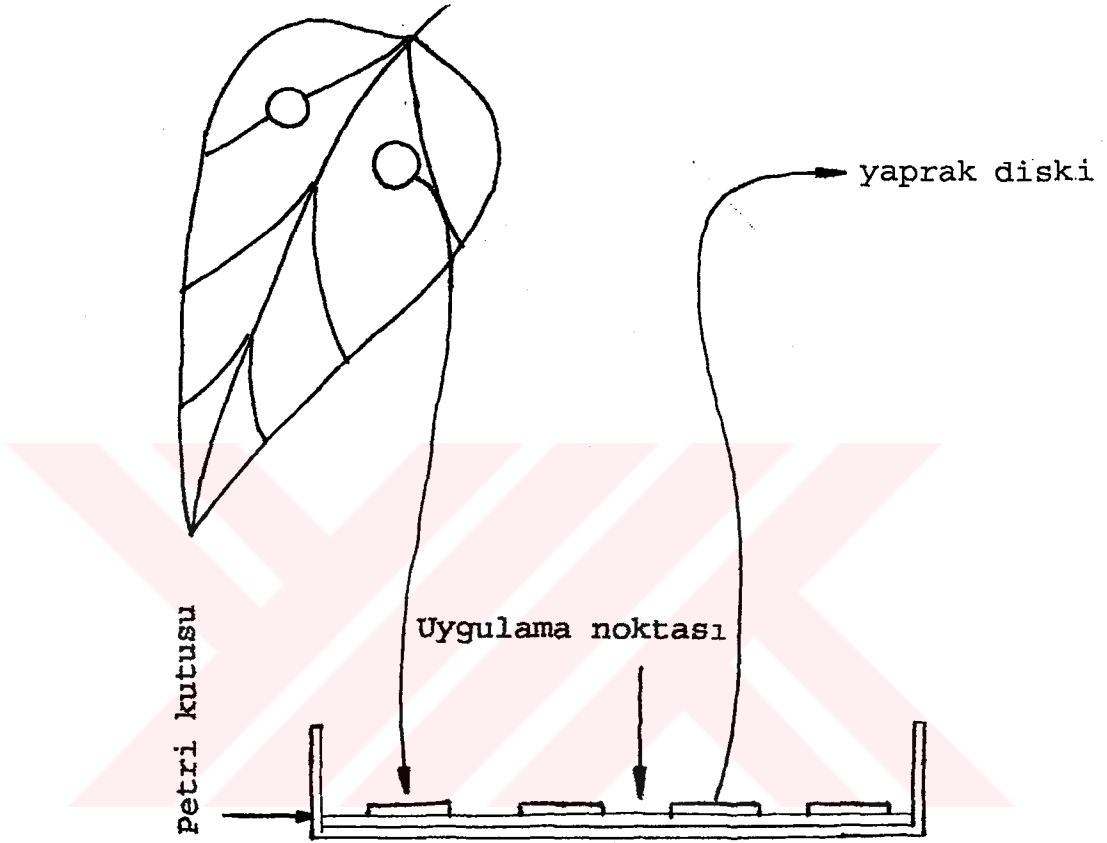
göre hazırlanan 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi ile doldurulmuştur. Sonra, çimlenmiş ve kökleri yeterince uzamış 3 günlük fideler pens yardımıyla tabladaki deliklere yerleştirilmiştir. Fidelerin dik durabilmelerini sağlamak için pamuk tamponlardan yararlanılmıştır. Hazırlanan kaplar bitki büyüme odasına konulmuştur. Kültür kapları, havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve sistemdeki musluklar yardımıyla kaplara eşit miktarda hava kabarcığı gitmesi sağlanmıştır. Kaplardaki 1/2 N Hoagland kültür çözeltileri haftada bir kez olmak üzere yeni çözeltili ile değiştirilmiştir. Ayrıca, kaplardaki kültür çözeltilerinin azalan miktarı hafta içinde 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi ile tamamlanmıştır. Bu yöntem ile bitkiler 5. yaprağın çıktığı 29. güne kadar büyütülmüştür (Şekil 2.17).

2.9.c.iiiiii. Klorofil miktar tayini

Klorofil miktar tayini Osborne ve McCALLA 'ya (1961) göre yapılmıştır. Bunun için, 10 cm çaplı Whatman No:1 filtre kağıtları toksik materyallerden arındırmak için etil asetat: asetik asit: su (10: 5: 2 v/v/v) solventinde yıkanarak 10 cm çaplı petri kutularına yerleştirilmiştir. Uygulama gruplarına uygun etiketli her bir petri kutusundaki filtre kağıdı daha önce hazırlanmış olan uygulama grupları ile 1'er mL olmak üzere ıslatılmıştır. Ayçiçeği bitkilerininin 3. yapraklarından 10 mm çaplı diskler alınmış ve petri kutusundaki filtre kağıtları üzerine alt yüzeyleri sıvı ile temas edecek şekilde her bir petri kutusuna 4'er adet olmak üzere yerleştirilmiştir (Şekil 2.18). Daha sonra, petri kaplarının kapakları kapatılmış ve alüminyum folyo ile sarılarak, 25°C' de 48 saat karanlıkta bırakılmıştır. Bu periyodun sonunda kontrollerdeki klorofilin büyük bir kısmı parçalanıp diskler



Şekil 2.17. 1/2 N Hoagland kültür çözeltisinde büyütülen 29 günlük ayçiçeği bitkilerinin görünüşü



Şekil 2.18. Klorofil miktar tayini testinde ayçiçeği bitkilerinin 3. yapraklarından disk alınımının ve petri kutusuna yerleştirilmesinin şematik görünüşü

sarardığı zaman, her gruptaki yaprak diskleri içinde %80'lik 10 mL etanol bulunan santrifüj tüplerine konmuş ve disklerdeki klorofil ekstrakte olana kadar 75°C'deki sıcak su banyosunda kaynatılmıştır. Tüpler soğutulduktan sonra 3000 g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir (Oetiker vd. 1990). Üstte kalan supernatant alınarak hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır. Her

solüsyonun absorbanası UV-VIS Spektrofotometre (Phillips marka PU8715) aletinde köre karşı (Kör=%80 etanol) okunmuştur. Klorofil a ve klorofil b için kırmızı ışınlar bölgesinde maksimum absorpsiyon dalga boyları sırasıyla 665 nm ve 645 nm'dir (Osborne ve McCalla 1961). Her bir uygulama grupları ile ilgili klorofil a ve klorofil b miktarları Oetiker vd.'ne (1990) göre aşağıda belirtildiği gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Klorofil a (mg.L}^{-1} \text{)} = 12.7.A_{665} - 2.69.A_{645}$$

$$\text{Klorofil b (mg.L}^{-1} \text{)} = 22.9.A_{645} - 4.68.A_{665}$$

Toplam klorofil miktarı, klorofil a ve klorofil b değerlerinin toplamını ifade etmektedir.

Her bir deney grubunun bir tekrarı için ortalama toplam klorofil miktarı bulunmuştur. Her bir deney grubu için ortalama toplam klorofil miktarı ise, 3 tekrarın ortalamasıdır.

2.10. Kuru Misel Ağırlığının Tayini

P. chrysosporium ME446 fungusunda kuru misel ağırlığının tayini Ünyayar'a (1990) göre sırasıyla aşağıdaki gibi yapılmıştır.

a) Filtre kağıdı (Sand S, 589³ blueband O 110 mm) 70° C'lik fırında 24 saat kurutulularak içinde nem tutucu olarak silikajel GF₂₅₄ bulunan desikatörde yarım saat bekletilmiştir.

b) Daha sonra filtre kağıdı hassas terazide (Bosch S 2000) tartılarak darası alınmıştır.

c) Kültür ortamları darası alınmış filtre kağıtlarından geçirilerek süzölmüştür.

d) Darası alınmış filtre kağıdında tutulan fungus miseli, filtre kağıdı ile birlikte tekrar 70° C'lik fırında 24 saat kurutulmuştur.

e) Kurutulan fungus miseli + filtre kağıdı desikatöre konularak yarım saat bekletilmiştir.

f) Yarım saat sonra desikatörden çıkarılan fungus miseli + filtre kağıdı hassas terazide tartılmıştır.

g) Fungus miseli + filtre kağıdı ağırlığından filtre kağıdı (dara) ağırlığı çıkarılarak kuru misel ağırlığı (KMA) (mg / 100 mL) tayin edilmiştir.

2.11. İstatistik Analizler

Verilerimizin özet bilgileri için ortalamalar ve standart hatalar hesaplanmıştır (Kutsal ve Muluk 1975). Bu hesaplamalarda Casio / x - 5500 tipi hesap makinası kullanılmıştır. Gerekli karşılaştırmalar için varyans analizi yapılması uygun bulunmuştur. Ancak, 222 nm'de miselden elde edilen IAA'nın varyans analizi varsayımlarını sağlamadığı görülmüştür. Bu nedenle $y = \log_{10} X$ (y: y'nin 10 tabanına göre logaritması, X: gözlem verileri) dönüşümü uygulanmıştır ve verilerin yapısı varyans analizi yapılabilir duruma getirilmiştir. Varyans analizi ve gruplar arası önemliliğin araştırılmasında yapılan "t" testi yönteminde Macintosh bilgisayarı için hazırlanmış SPSS 4.0 paket program kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Bu çalışmanın varyans analizi sonuçları, Tablo 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5'de gösterilmiştir. Bu tablolardan görüldüğü gibi, kültür ortamı ve misellerde okuma yapılan dalga boylarında günlere bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA, -GA₃, -ABA ve -zeatin miktarlarının önemli olduğu saptanmıştır (P < 0.05).

3.1. *P.chryso sporium* ME446 'da Kültür Ortamı ve Misellerde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Kuru Misel Ağırlığının ve Serbest-, Bağlı- ve Toplam-IAA, -GA₃, -ABA ve -Zeatin Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlıklarının Değişimi

3.1.1. Kuru misel ağırlığının değişimi

P. chryso sporium ME446 fungusunun kuru misel ağırlığı 1. saatte 4.10 mg / 100 mL iken, inkübasyonun 1., 3., 6., 9. ve 12. günlerinde kültür periyoduna bağlı olarak önemli bir artış göstermiştir (P < 0.05) (Tablo 3.6). 12. gündeki kuru misel ağırlığı tüm inkübasyon sürelerindeki kuru misel ağırlıklarına göre en yüksek düzeyde olup (43.20 mg/100 mL), kuru misel ağırlığında 12. güne göre 15., 18. ve 21. günlerde önemsiz, 28., 35. ve 42. günlerde ise önemli bir azalma saptanmıştır (P < 0.05) (Tablo 3.6).

Tablo 3.6 ve Şekil 3.1'de kuru misel ağırlıkları incelendiğinde, *P. chryso sporium* ME446 fungusunun 12. günde primer metabolizma fazını tamamlayarak sekonder metabolizma fazına girdiği anlaşılabacaktır. 12. günden itibaren KMA'nın 42. güne kadar giderek bir azalma göstermesi, ortamda bulunan besin maddelerinin 12. günden itibaren giderek azalması sonucunda fungus üremesinin yavaşladığını akla getirmektedir.

Tablo 3.1. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da Kültür Ortamında ve Miselde 280 nm Dalga Boyunda Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-IAA Eşdeğer Miktarları için Varyans Analizi Sonuçları*

* 0.05 yanılma olasılığında önemli ($P < 0.05$)

	IAA FORMU	VARYANSIN KAYNAĞI	SD	KARELER TOPLAMI	KARELER ORTALAMASI	F
KÜLTÜR ORTAMINDA	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	77839.8234	7085.4385	52.2542*
	IAA	GRUP İÇİ	24	3254.2943	135.5956	
		TOPLAM	35	81194.1177		
	BAGLI	GRUPLAR ARASI	11	364.9626	33.1784	92.2726*
	IAA	GRUP İÇİ	24	8.6297	0.3596	
		TOPLAM	35	373.5923		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	82187.8866	7471.6261	58.0900*
	IAA	GRUP İÇİ	24	3086.9153	128.6215	
		TOPLAM	35	85274.8018		
MISELDE	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	12.1049	1.1004	164.6546*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.1604	0.0067	
		TOPLAM	35	12.2653		
	BAGLI	GRUPLAR ARASI	11	6.0421	0.5493	396.2725*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.0333	0.0014	
		TOPLAM	35	6.0753		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	27.2007	2.4728	290.6316*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.2042	0.0085	
		TOPLAM	35	27.4049		

Tablo 3.2. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da Kültür Ortamında ve Miselde 222 nm Dalga Boyunda Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-IAA Eşdeğer Miktarları için Varyans Analizi Sonuçları*

* 0.05 yanılma olasılığında önemli ($P < 0.05$)

	IAA FORMU	VARYANSIN KAYNAĞI	SD	KARELER TOPLAMI	KARELER ORTALAMASI	F
KÜLTÜR ORTAMINDA	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	1526.2754	138.7523	171.7911*
	IAA	GRUP İÇİ	24	19.3843	0.8077	
		TOPLAM	35	1545.6597		
	BAĞLI	GRUPLAR ARASI	11	8.2853	0.7532	40.4168*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.4473	0.0186	
		TOPLAM	35	8.7326		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	1692.2704	153.8428	204.5661*
	IAA	GRUP İÇİ	24	18.0491	0.7520	
		TOPLAM	35	1710.3195		
MİSELDE	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	0.7921	0.0720	16.2018*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.1067	0.0044	
		TOPLAM	35	0.8987		
	BAĞLI	GRUPLAR ARASI	11	1.1071	0.1006	49.7716*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.0485	0.0020	
		TOPLAM	35	1.1557		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	0.7796	0.0709	37.5359*
	IAA	GRUP İÇİ	24	0.0453	0.0019	
		TOPLAM	35	0.8250		

Tablo 3.3. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da Kültür Ortamında ve Miselde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-GA₃ Eşdeğer Miktarları için Varyans Analizi Sonuçları*

* 0.05 yanılma olasılığında önemli (P < 0.05)

	GA ₃ FORMU	VARYANSIN KAYNAĞI	SD	KARELER TOPLAMI	KARELER ORTALAMASI	F
KÜLTÜR ORTAMINDA	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	733618.825	66692.6205	36.3716*
	GA ₃	GRUP İÇİ	24	44007.493	1833.6456	
		TOPLAM	35	777626.319		
	BAGLI	GRUPLAR ARASI	11	28489.3332	2589.9394	34.2639*
	GA ₃	GRUP İÇİ	24	1814.1103	75.5879	
		TOPLAM	35	30303.4435		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	611099.201	55554.4729	20.9557*
	GA ₃	GRUP İÇİ	24	63625.110	2651.0463	
		TOPLAM	35	674724.311		
MISELDE	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	339781.889	30889.2627	3103.240*
	GA ₃	GRUP İÇİ	24	238.892	9.9539	
		TOPLAM	35	340020.782		
	BAGLI	GRUPLAR ARASI	11	2711.5556	246.5051	53.7829*
	GA ₃	GRUP İÇİ	24	110.0000	4.5833	
		TOPLAM	35	2821.5556		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	312654.427	28423.1298	3103.105*
	GA ₃	GRUP İÇİ	24	219.8298	9.1596	
		TOPLAM	35	312874.257		

Tablo 3.4. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da Kültür Ortamında ve Miselde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Eşdeğer Miktarları için Varyans Analizi Sonuçları*

* 0.05 yanılma olasılığında önemli ($P < 0.05$)

	ABA FORMU	VARYANSIN KAYNAĞI	SD	KARELER TOPLAMI	KARELER ORTALAMASI	F
KÜLTÜR ORTAMINDA	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	456.5982	41.5089	94.7963*
	ABA	GRUP İÇİ	24	10.5090	0.4379	
		TOPLAM	35	467.1072		
	BAĞLI	GRUPLAR ARASI	11	5.9611	0.5419	113.556*
	ABA	GRUP İÇİ	24	0.1145	0.0048	
		TOPLAM	35	6.0756		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	447.0308	40.6392	107.6994*
	ABA	GRUP İÇİ	24	9.0561	0.3773	
		TOPLAM	35	456.0870		
MİSELDE	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	2.5921	0.2356	119.3140*
	ABA	GRUP İÇİ	24	0.0474	0.0020	
		TOPLAM	35	2.6395		
	BAĞLI	GRUPLAR ARASI	11	0.2712	0.0247	53.7829*
	ABA	GRUP İÇİ	24	0.0110	0.0005	
		TOPLAM	35	0.2822		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	4.0187	0.3653	332.9682*
	ABA	GRUP İÇİ	24	0.0263	0.0011	
		TOPLAM	35	4.0451		

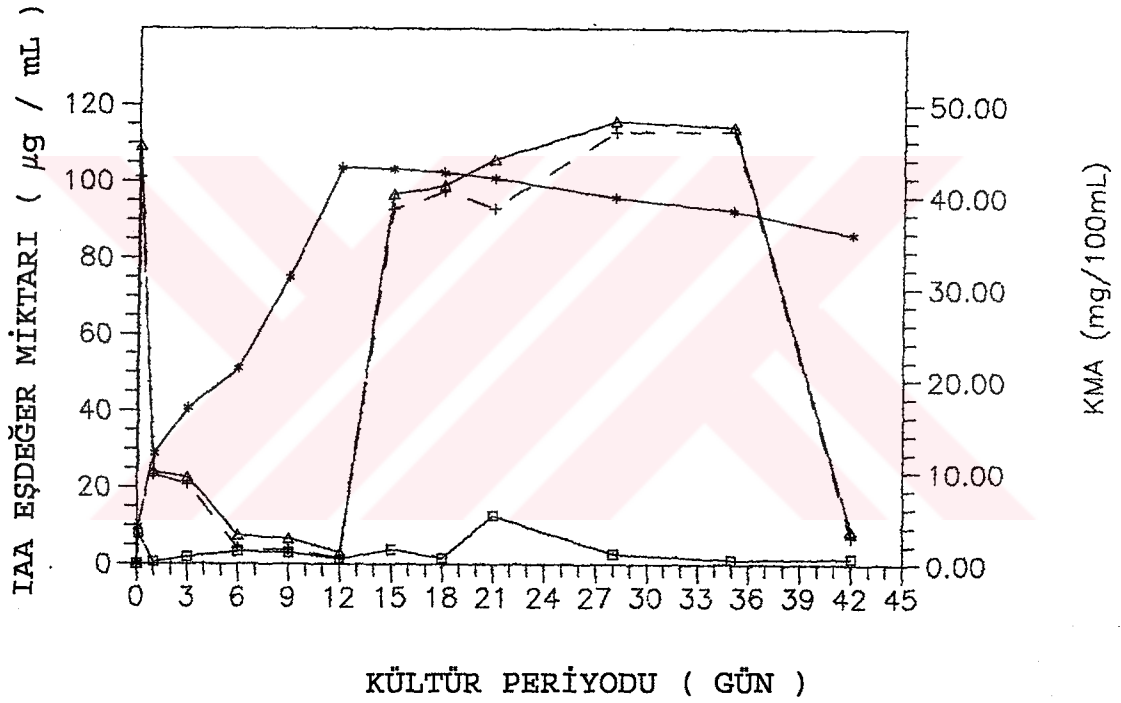
Tablo 3.5. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da Kültür Ortamında ve Miselde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-zeatin Eşdeğer Miktarları için Varyans Analizi Sonuçları*

* 0.05 yanılma olasılığında önemli ($P < 0.05$)

	ZEATIN FORMU	VARYANSIN KAYNAĞI	SD	KARELER TOPLAMI	KARELER ORTALAMASI	F
KÜLTÜR ORTAMINDA	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	359.9068	32.7188	934.2296*
	ZEATIN	GRUP İÇİ	24	0.8405	0.0350	
		TOPLAM	35	360.7473		
	BAGLI	GRUPLAR ARASI	11	12.8406	1.1673	370.5801*
	ZEATIN	GRUP İÇİ	24	0.0756	0.0032	
		TOPLAM	35	12.9162		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	351.8222	31.9838	1032.291*
	ZEATIN	GRUP İÇİ	24	0.7436	0.0310	
		TOPLAM	35	352.5658		
MİSELDE	SERBEST	GRUPLAR ARASI	11	61.5529	5.5957	283.2480*
	ZEATIN	GRUP İÇİ	24	0.4741	0.0198	
		TOPLAM	35	62.0271		
	BAGLI	GRUPLAR ARASI	11	2.1403	0.1946	85.6327*
	ZEATIN	GRUP İÇİ	24	0.0545	0.0023	
		TOPLAM	35	2.1949		
	TOPLAM	GRUPLAR ARASI	11	67.3659	6.1242	334.6032*
	ZEATIN	GRUP İÇİ	24	0.4393	0.0183	
		TOPLAM	35	67.8051		

Tablo 3.6. *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da Kültür Ortamında ve Miselde 280 nm Dalga Boyunda Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-IAA Eşdeğer Miktarları ve Kuru Misel Ağırlığı (Değerler 3 tekrarın ortalaması ± standart hata olarak verilmiştir)

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	IAA EŞDEĞER MİKTARI (µg/mL)							KMA (mg/100 mL)
	KÜLTÜR ORTAMINDA			MİSELDE			KÜLTÜR ORT. TOPLAM-IAA + MİSEL TOPLAM IAA	
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-		
1. SAAT	101.04±14.63	7.98 ± 1.44	109.02±12.83	0.27 ± 0.02	0.65 ± 0.06	0.92 ± 0.04	109.94±44.70	4.10 ± 0.50
1	23.43 ± 2.02	0.63 ± 0.04	24.06 ± 1.99	0.73 ± 0.07	0.50 ± 0.02	1.23 ± 0.09	25.29±10.30	12.00 ± 0.00
3	20.85 ± 0.80	1.82 ± 0.25	22.67 ± 0.64	1.12 ± 0.04	0.17 ± 0.05	1.29 ± 0.07	23.96± 8.98	17.00 ± 0.14
6	4.20 ± 0.22	3.36 ± 0.57	7.56 ± 0.54	1.37 ± 1.18	0.22 ± 0.03	1.59 ± 0.17	9.15± 1.62	21.30 ± 0.70
9	3.66 ± 0.16	3.06 ± 1.02	6.72 ± 1.09	1.13 ± 0.07	0.91 ± 0.04	2.04 ± 0.11	8.76± 1.38	31.20 ± 0.10
12	1.70 ± 0.23	1.32 ± 0.15	3.02 ± 0.13	0.42 ± 0.07	0.66 ± 0.08	1.08 ± 0.12	4.10± 0.54	43.20 ± 0.11
15	92.71 ± 8.99	3.84 ± 0.65	96.55 ± 8.51	0.70 ± 0.08	0.21 ± 0.03	0.91 ± 0.10	97.46±41.30	43.00 ± 0.60
18	97.35 ±10.25	1.53 ± 0.07	98.88 ±10.24	2.31 ± 0.12	1.40 ± 0.03	3.71 ± 0.11	102.59±43.40	42.60 ± 0.00
21	92.95 ±23.07	12.82 ± 0.06	105.77±23.04	1.81 ± 0.08	1.46 ± 0.04	3.27 ± 0.06	109.04±41.10	42.00 ± 0.00
28	113.00±24.80	2.74 ± 0.60	115.74±24.30	1.18 ± 0.04	0.37 ± 0.01	1.55 ± 0.03	117.29±51.56	39.90 ± 0.00
35	113.10± 8.62	1.24 ± 0.04	114.34±8.63	0.50 ± 0.03	0.80 ± 0.02	1.30 ± 0.03	115.64±50.9	38.50 ± 0.10
42	7.15 ± 0.13	1.70 ± 0.01	8.85 ± 0.12	0.56 ± 0.08	0.66 ± 0.02	1.22 ± 0.07	10.07± 2.83	35.90 ± 0.06



Şekil 3.1. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da kültür ortamında 280 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-IAA

----- KMA

■-----■ Bağlı-IAA

▲-----▲ Toplam-IAA

3.1.2. Kültür ortamında

3.1.2.1. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarlarının değişimi

Şekil 1.2'den görüldüğü gibi, IAA iki bölgede maksimum absorpsiyon göstermektedir. Birincisi 205 ile 225 nm arasında, ikincisi 280 nm'de görülmektedir. Literatür bilgilerimizle de uyum gösteren bu bulguların ışığında IAA hem 222 hem de 280 nm'de okunmuştur.

3.1.2.1.a. 280 nm dalga boyunda

Kültür periyoduna bağlı olarak kültür ortamından elde edilen ve spektrofotometrede 280 nm dalga boyunda okunan serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarları, Tablo 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6 ve Şekil 3.1'den görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-IAA miktarı 101.04 $\mu\text{g} / \text{mL}$, bağlı-IAA miktarı 7.98 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-IAA miktarı ise 109.02 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunmuştur. Bu değerler primer metabolizma fazının en yüksek değerleridir. 1. günde serbest- ve toplam-IAA miktarları yaklaşık 4.5 kat azalırken, bağlı-IAA miktarı yaklaşık 12 kat bir azalma göstermiştir. 12. güne kadar serbest- ve toplam-IAA miktarı azalmaya devam ederken, bağlı-IAA miktarı 6. güne kadar artmış, 9. ve 12. günlerde ise azalmıştır. 15. günde serbest- ve toplam-IAA miktarları belirgin bir şekilde artarak 12. gündeki değerlerinin sırasıyla yaklaşık 55 ve 30 katına ulaşmıştır. Bağlı-IAA miktarında ise 3 kat bir artış gözlenmiştir. 15. ile 35. günler arasında 21. gündeki hariç, her üç formdaki IAA miktarları az da olsa artma ve azalmalar göstermiştir. 28. günde serbest-ve toplam-IAA miktarları sırasıyla 113.00 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve 115.74 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 35. günde ise sırasıyla 113.10 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve 114.34 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak

bulunmuştur. Bu değerler de serbest- ve toplam-IAA olarak sekonder metabolizma fazının en yüksek değerleridir. Sekonder metabolizma fazının en yüksek bağlı-IAA miktarı ise 21. günde saptanmıştır. 42.günde ise 35. güne göre serbest- ve toplam-IAA miktarlarında belirgin bir şekilde yaklaşık olarak sırasıyla 16 ve 13 kat bir azalma gözlenmiştir (sırasıyla 7.15 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 8.85 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Bağılı-IAA miktarında ise çok az bir artma olmuştur (1.70 $\mu\text{g} / \text{mL}$).

1. saat, 15., 18., 21., 28. ve 35. günlerdeki toplam-IAA miktarları ile 1., 3., 6., 9., 12. ve 42. günlerdeki toplam-IAA miktarları arasındaki farkların yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

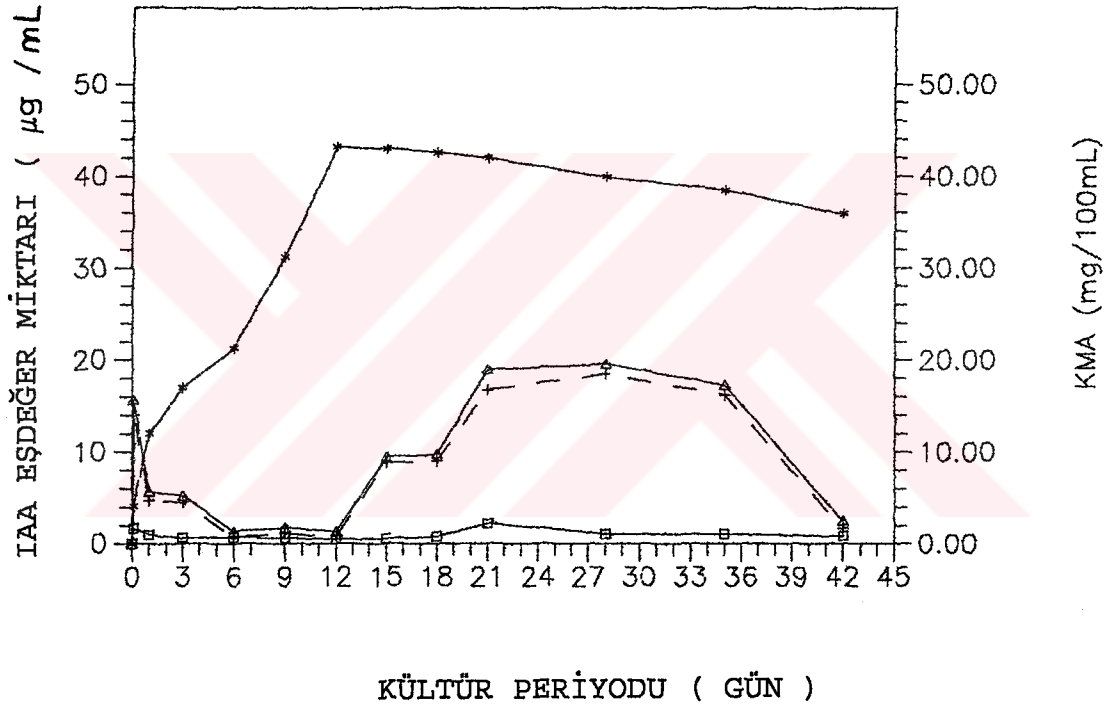
3.1.2.1.b. 222 nm dalga boyunda

Kültür periyoduna bağlı olarak kültür ortamından elde edilen ve spektrofotometrede 222 nm dalga boyunda okunan serbest-, bağılı- ve toplam-IAA miktarları, Tablo 3.7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7 ve Şekil 3.2'den görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-IAA miktarı 14.00 $\mu\text{g} / \text{mL}$, bağılı-IAA miktarı 1.69 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-IAA miktarı ise 15.69 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunmuştur. Bu değerler primer metabolizma fazının en yüksek değerleridir. 1. günde serbest- ve toplam-IAA miktarları 3 kat, bağılı-IAA miktarı ise 1/2 kat azalma göstermiştir. 3. günde her üç IAA formu da az da olsa azalmaya devam etmiştir. 6. günde ise serbest- ve toplam-IAA miktarında belirgin bir azalma gözlenirken, bağılı-IAA miktarı az da olsa bir artma göstermiştir. 9. ve 12. günlerde ise her üç IAA formu da 6. gündeki değerlerine yakın bulunmuştur. 15. günde hem serbest- ve hem de toplam-IAA miktarı 12. güne göre belirgin bir artış göstererek sırasıyla 8.85 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve 9.45 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye

Tablo 3.7. *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da Kültür Ortamında ve Miselde 222 nm Dalga Boyunda Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-IAA Eşdeğer Miktarları ve Kuru Misel Ağırlığı (Değerler 3 tekrarın ortalaması ± standart hata olarak verilmiştir)

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	IAA EŞDEĞER MİKTARI (µg / mL)							KMA (mg/100 mL)
	KÜLTÜR ORTAMINDA			MİSELDE			KÜLTÜR ORT. TOPLAM-IAA + MİSEL TOPLAM IAA	
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-		
1. SAAT	14.00 ± 0.14	1.69 ± 0.27	15.69 ± 0.23	0.26 ± 0.08	0.52 ± 0.08	0.78 ± 0.13	16.47 ± 5.95	4.10 ± 0.50
1	4.67 ± 0.94	0.97 ± 0.08	5.64 ± 0.87	0.51 ± 0.05	0.21 ± 0.02	0.72 ± 0.06	6.36 ± 1.92	12.00 ± 0.00
3	4.54 ± 0.20	0.68 ± 0.16	5.22 ± 0.27	0.43 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.53 ± 0.02	5.75 ± 1.88	17.00 ± 0.14
6	0.67 ± 0.14	0.70 ± 0.14	1.37 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.85 ± 0.01	2.22 ± 0.31	21.30 ± 0.70
9	1.11 ± 0.12	0.66 ± 0.12	1.77 ± 0.15	0.40 ± 0.09	0.65 ± 0.11	1.05 ± 0.04	2.82 ± 0.28	31.20 ± 0.10
12	0.83 ± 0.04	0.51 ± 0.10	1.34 ± 0.07	0.26 ± 0.04	0.06 ± 0.02	0.32 ± 0.02	1.66 ± 0.30	43.20 ± 0.11
15	8.85 ± 0.87	0.60 ± 0.02	9.45 ± 0.85	0.37 ± 0.09	0.05 ± 0.01	0.42 ± 0.10	9.87 ± 3.87	43.00 ± 0.60
18	9.04 ± 0.05	0.78 ± 0.07	9.82 ± 0.02	0.70 ± 0.03	0.31 ± 0.06	1.01 ± 0.09	10.83 ± 3.82	42.60 ± 0.00
21	16.80 ± 1.29	2.21 ± 0.23	19.01 ± 1.06	0.64 ± 0.05	0.24 ± 0.04	0.88 ± 0.03	19.89 ± 7.19	42.00 ± 0.00
28	18.51 ± 1.40	1.08 ± 0.10	19.59 ± 1.36	0.48 ± 0.06	0.22 ± 0.03	0.70 ± 0.08	20.29 ± 8.13	39.90 ± 0.00
35	16.20 ± 2.09	1.08 ± 0.10	17.28 ± 2.10	0.39 ± 0.07	0.25 ± 0.03	0.64 ± 0.06	17.92 ± 7.92	38.50 ± 0.10
42	1.67 ± 0.08	0.81 ± 0.03	2.48 ± 0.11	0.39 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.60 ± 0.02	3.08 ± 0.58	35.90 ± 0.06



Şekil 3.2. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da kültür ortamında 222 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-IAA

----- KMA

□-----□ Bağlı-IAA

△-----△ Toplam-IAA

ulaşmıştır. Bağlı-IAA miktarında ise önemsiz bir artma olmuştur. 18. günde her üç IAA formunda önemsiz bir artış gözlenirken, 21. günde yine belirgin bir artış gözlenmiş ve 1. saatteki değerlerinin de üzerine çıkarak sırasıyla 16.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2.21 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve 19.01 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye ulaşmıştır. 28. ve 35. günlerde ise her üç formdaki IAA miktarlarında az miktarda artış ve azalmalar gözlenmiştir. 28. gündeki serbest- ve toplam-IAA miktarları sekonder metabolizma fazının en yüksek değerleridir. 42. günde bağlı-IAA çok az miktarda azalırken, serbest- ve toplam-IAA oldukça belirgin azalmalar göstermiş ve sırasıyla 1.67 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve 2.48 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak saptanmıştır.

1. saatte elde edilen toplam-IAA miktarı ile 1., 3., 6., 9., 12., 15. ve 18. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları arasındaki farklar, 21., 28. ve 35. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları ile diğer bütün inkübasyon sürelerindeki toplam-IAA miktarları arasındaki farklar, yapılan istatistik analize göre önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

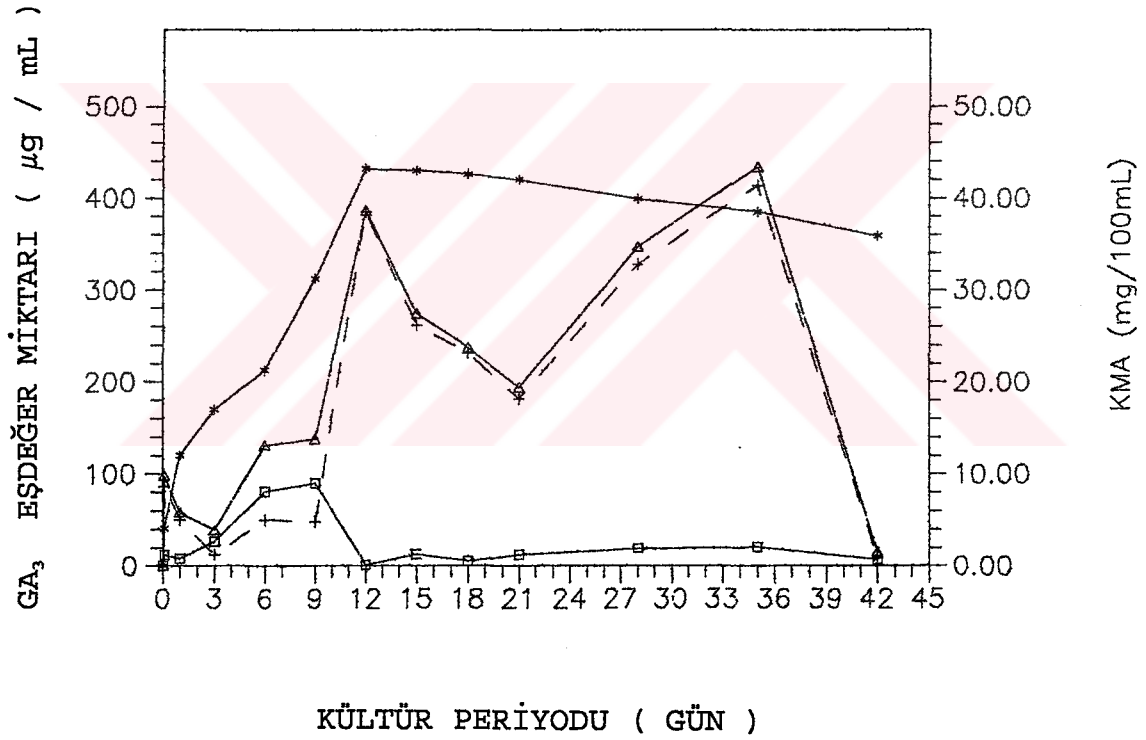
3.1.2.2. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarlarının değişimi

Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarları, Tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3.8 ve Şekil 3.3'den görüldüğü gibi, 1. saatte 86.41 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olan serbest- GA_3 miktarı, 1. ve 3. günlerde belirgin bir azalma gösterirken, 6. günde aksine bir artma göstererek 1. gündeki değerine yaklaşmıştır. Serbest- GA_3 miktarında 9. günde az bir azalma gözlenirken, sekonder metabolizma fazı başlangıcı olan 12. günde ise belirgin bir artışla primer metabolizma fazında en yüksek değer olan 1. saatteki değerinin de üzerine çıkarak 385.40 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye

Tablo 3.8. *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da Kültür Ortamında ve Miselde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-,Bağlı ve Toplam- GA_3 Eşdeğer Miktarları ve Kuru Misel Ağırlığı (Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	GA ₃ E Ş D E Ğ E R M İ K T A R I (µg/mL)						KÜLTÜR ORTAMI TOPLAM- GA_3 + MİSEL TOP.- GA_3	KMA (µg/100 mL)
	KÜLTÜR ORTAMINDA			MİSELDE				
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-		
1. SAAT	86.41 \pm 9.54	12.00 \pm 4.00	98.40 \pm 13.00	6.16 \pm 0.04	3.08 \pm 0.62	9.24 \pm 0.60	107.64 \pm 36.30	4.10 \pm 0.50
1	50.49 \pm 1.60	7.70 \pm 0.93	58.19 \pm 0.72	3.69 \pm 0.12	19.70 \pm 0.40	23.39 \pm 0.30	81.58 \pm 19.10	12.00 \pm 0.00
3	12.00 \pm 4.39	26.78 \pm 5.46	38.78 \pm 7.23	92.36 \pm 0.74	4.51 \pm 0.11	96.87 \pm 0.63	135.65 \pm 36.30	17.00 \pm 0.14
6	50.18 \pm 7.87	80.97 \pm 2.11	131.15 \pm 6.02	52.03 \pm 3.70	77.17 \pm 0.97	129.20 \pm 2.75	260.35 \pm 13.90	21.30 \pm 0.70
9	47.82 \pm 1.28	89.90 \pm 29.07	137.72 \pm 27.84	127.91 \pm 0.66	4.93 \pm 0.02	132.84 \pm 0.67	270.56 \pm 49.50	31.20 \pm 0.10
12	385.40 \pm 21.08	1.23 \pm 0.02	386.63 \pm 21.08	339.40 \pm 9.80	12.03 \pm 0.06	351.43 \pm 9.78	738.06 \pm 186.80	43.20 \pm 0.11
15	261.60 \pm 45.80	12.62 \pm 0.93	274.22 \pm 44.90	241.20 \pm 0.86	9.72 \pm 0.18	250.92 \pm 0.69	525.14 \pm 127.20	43.00 \pm 0.60
18	231.80 \pm 0.33	5.23 \pm 0.93	237.03 \pm 33.41	113.01 \pm 1.01	7.70 \pm 1.89	120.71 \pm 0.89	357.74 \pm 98.10	42.60 \pm 0.00
21	181.90 \pm 0.33	12.00 \pm 1.05	193.90 \pm 1.04	117.10 \pm 0.62	3.08 \pm 0.03	120.18 \pm 0.60	314.08 \pm 62.40	42.00 \pm 0.00
28	327.50 \pm 17.55	19.39 \pm 2.76	346.90 \pm 16.51	64.40 \pm 1.60	3.08 \pm 0.02	67.48 \pm 1.58	414.38 \pm 137.20	39.90 \pm 0.00
35	413.70 \pm 133.70	20.31 \pm 1.06	434.01 \pm 133.10	23.85 \pm 2.01	47.41 \pm 1.09	71.26 \pm 1.03	505.27 \pm 182.80	38.50 \pm 0.10
42	8.62 \pm 0.60	6.16 \pm 0.11	14.78 \pm 0.70	14.78 \pm 0.27	27.71 \pm 0.43	42.49 \pm 0.40	57.27 \pm 8.72	35.90 \pm 0.06



Şekil 3.3. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da kültür ortamında 254 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-GA₃

----- KMA

□-----□ Bağlı-GA₃

△-----△ Toplam-GA₃

ulaşmıştır. Bağlı-GA₃ miktarı 1. günde 1. saatteki değerine göre yaklaşık yarısı kadar azalmış, buna karşılık 3. günden itibaren artmaya başlamış ve 9. günde primer metabolizma fazının en yüksek değeri olarak saptanmıştır. Oysa, fungusun sekonder metabolizma fazına girdiği 12. günde bağlı-GA₃ miktarı belirgin bir şekilde azalmıştır (1.23 µg/mL). Toplam-GA₃ miktarları incelendiğinde (Tablo 3.8), primer metabolizma fazının 1. saatinde 98.40 µg / mL iken, 1. ve 3. günlerde serbest-GA₃ 'te olduğu gibi sürekli azalmalar göstermiş ancak, 6. günden itibaren fungusun sekonder metabolizma fazına girdiği 12. güne kadar belirgin artmalar göstererek 386.63 µg / mL'ye ulaşmıştır. 15., 18. ve 21. günlerde serbest- ve toplam-GA₃ miktarları sürekli bir şekilde azalma göstermiş, bağlı-GA₃ miktarı ise sırasıyla artma ve azalmalar göstermiştir. 28. ve 35. günlerde serbest- ve toplam-GA₃ miktarları tekrar belirgin bir şekilde artarken, bağlı-GA₃ miktarı az bir artış göstermiştir. 35. gündeki serbest- ve toplam-GA₃ miktarları sekonder metabolizma fazının en yüksek değerleridir. 42. günde ise, her üç formdaki GA₃ miktarları önemli oranda azalma göstermiştir.

15. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 1., 3. ve 42. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları arasındaki farkın, 12. ve 28. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları ile 1. saat, 1., 3., 6., 9. ve 42. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları arasındaki farkın ve 35. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 12., 28. ve 15. günler hariç diğer bütün inkübasyon zamanlarında elde edilen toplam-GA₃ miktarları arasındaki farkın, yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır (P < 0.05).

3.1.2.3. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi

Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve

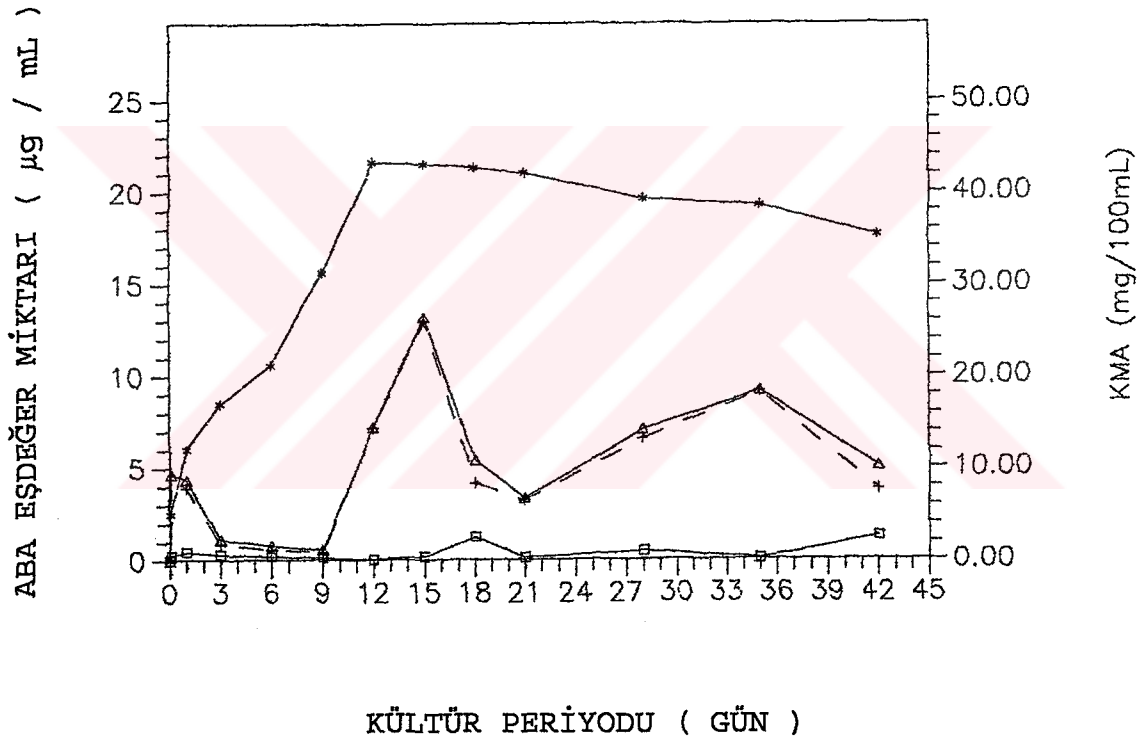
toplam-ABA miktarları, Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9 ve Şekil 3.4'den görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-ABA miktarı $4.42 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-ABA miktarı $4.67 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, her iki formdaki ABA miktarları 9. güne kadar sürekli bir azalma göstermiştir (sırasıyla $0.41 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $0.54 \mu\text{g} / \text{mL}$). Bağlı-ABA miktarı ise 1. saatte $0.25 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, aynı inkübasyon süresi içerisinde önemli değişiklikler olmamıştır. Tablo 3.9 incelendiğinde, primer metabolizma fazında serbest- ve toplam-ABA değerlerinin en yüksek olduğu inkübasyon süresinin 1. saat olduğu görülmektedir. Sekonder metabolizma fazına ait 12. günde serbest-ABA ($7.17 \mu\text{g} / \text{mL}$) ve toplam-ABA ($7.19 \mu\text{g} / \text{mL}$) miktarları belirgin bir şekilde artmış, bu artış 15. günde de devam ederek tüm inkübasyon sürelerindeki değerlerine göre maksimuma ulaşmıştır (sırasıyla $12.98 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $13.16 \mu\text{g} / \text{mL}$). 18. günde serbest- ve toplam-ABA miktarları belirgin bir şekilde azalırken, bu azalmalar az da olsa 21. günde de devam etmiştir. 28. günde serbest- ve toplam-ABA miktarları yaklaşık 2 misli bir artış göstererek sırasıyla $6.59 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $7.06 \mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye ulaşmıştır. Serbest- ve toplam-ABA'daki bu artış 35. günde de devam etmiştir (sırasıyla $9.13 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $9.18 \mu\text{g} / \text{mL}$). 42. günde ise serbest- ve toplam-ABA miktarları belirgin bir azalma göstermiştir. Bu inkübasyon süresinde, serbest-ABA miktarı $3.79 \mu\text{g} / \text{mL}$, toplam-ABA miktarı ise $5.04 \mu\text{g} / \text{mL}$ 'dir. Inkübasyonun 15.-42. günlerinde bağlı-ABA miktarında az da olsa artma ve azalmalar olmuş, ancak önemli değişiklikler olmamıştır.

12. günde elde edilen toplam-ABA miktarı ile 1. saat, 1., 3., 6., 9. ve 21. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farkın ve 35. günde elde edilen toplam-ABA miktarları ile 1. saat, 1., 3., 6., 9., 18., 21. ve 42. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farkın,

Tablo 3.9. *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da Kültür Ortamında ve Miselde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-Bağlı- ve Toplam-ABA Eşdeğer Miktarları ve Kuru Misel Ağırlığı (Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	A B A E Ş D E Ğ E R M İ K T A R I ($\mu\text{g}/\text{mL}$)							KMA ($\text{mg}/100 \text{ mL}$)
	KÜLTÜR ORTAMINDA			MİSELDE			KÜLTÜR ORT. TOPLAM-ABA + MİSELTOP.-ABA	
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-		
1. SAAT	4.42 \pm 0.15	0.25 \pm 0.03	4.67 \pm 0.13	0.10 \pm 0.02	0.06 \pm 0.02	0.16 \pm 0.00	4.83 \pm 1.93	4.10 \pm 0.50
1	3.92 \pm 0.69	0.44 \pm 0.02	4.36 \pm 0.68	0.19 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.20 \pm 0.00	4.56 \pm 1.70	12.00 \pm 0.00
3	0.83 \pm 0.09	0.30 \pm 0.04	1.13 \pm 0.05	0.25 \pm 0.05	0.05 \pm 0.03	0.30 \pm 0.02	1.43 \pm 0.30	17.00 \pm 0.14
6	0.57 \pm 0.03	0.20 \pm 0.03	0.77 \pm 0.05	0.36 \pm 0.03	0.03 \pm 0.01	0.39 \pm 0.03	1.16 \pm 0.20	21.30 \pm 0.70
9	0.41 \pm 0.06	0.13 \pm 0.03	0.54 \pm 0.05	0.40 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.45 \pm 0.03	0.99 \pm 0.17	31.20 \pm 0.10
12	7.17 \pm 1.17	0.02 \pm 0.01	7.19 \pm 1.17	0.22 \pm 0.03	0.08 \pm 0.01	0.30 \pm 0.02	7.49 \pm 3.23	43.20 \pm 0.11
15	12.98 \pm 0.18	0.18 \pm 0.03	13.16 \pm 0.15	0.23 \pm 0.03	0.19 \pm 0.03	0.42 \pm 0.00	13.58 \pm 5.77	43.00 \pm 0.60
18	4.15 \pm 0.05	1.24 \pm 0.06	5.39 \pm 0.10	0.23 \pm 0.05	0.21 \pm 0.05	0.44 \pm 0.01	5.83 \pm 1.68	42.60 \pm 0.00
21	3.24 \pm 0.12	0.11 \pm 0.02	3.35 \pm 0.13	0.25 \pm 0.03	0.10 \pm 0.02	0.35 \pm 0.02	3.70 \pm 1.39	42.00 \pm 0.00
28	6.59 \pm 1.82	0.47 \pm 0.20	7.06 \pm 1.62	0.50 \pm 0.08	0.13 \pm 0.03	0.63 \pm 0.06	7.69 \pm 2.92	39.90 \pm 0.00
35	9.13 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	9.18 \pm 0.04	0.51 \pm 0.09	0.19 \pm 0.02	0.70 \pm 0.08	9.88 \pm 4.02	38.50 \pm 0.10
42	3.79 \pm 0.13	1.25 \pm 0.09	5.04 \pm 0.04	1.16 \pm 0.03	0.31 \pm 0.01	1.47 \pm 0.04	6.51 \pm 1.35	35.90 \pm 0.06



Şekil 3.4. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da kültür ortamında 263 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-ABA

----- KMA

□-----□ Bağlı-ABA

Δ-----Δ Toplam-ABA

yapılan istatistik analizine göre önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). 15. günde elde edilen toplam-ABA miktarı ile diğer bütün inkübasyon zamanlarında elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farkın da yapılan istatistik analize göre önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$).

3.1.2.4. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarlarının değişimi

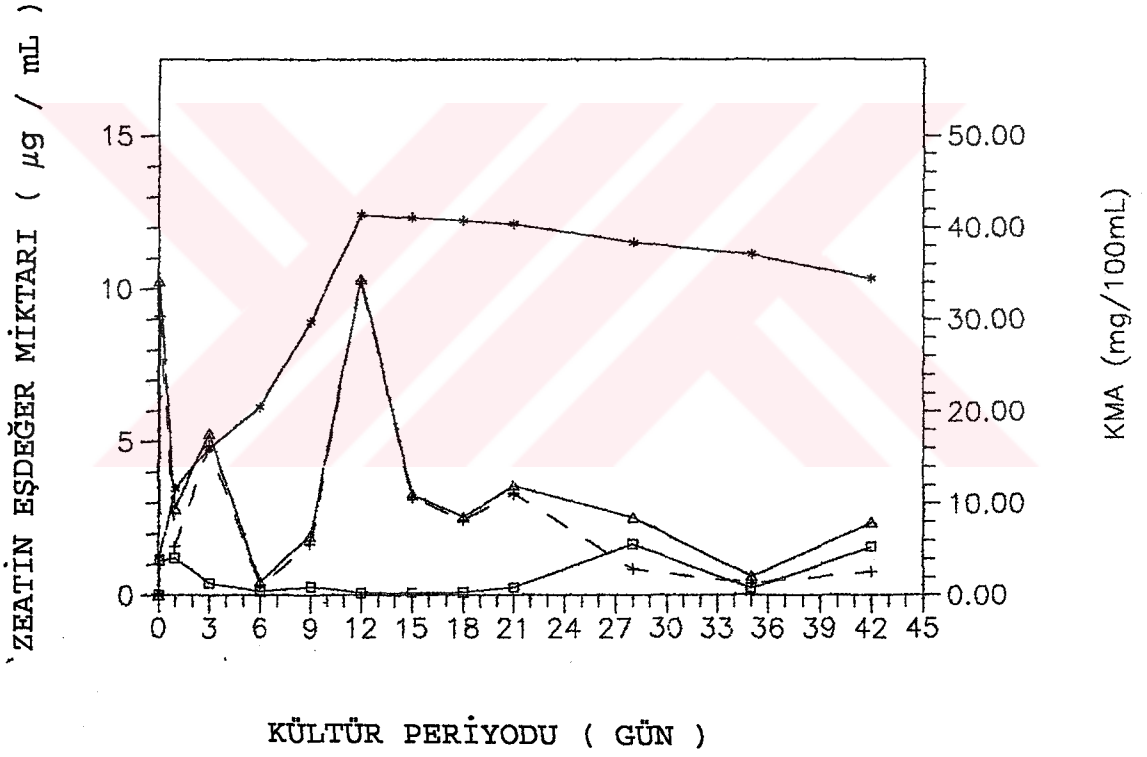
Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları, Tablo 3.10'da verilmiştir.

Tablo 3.10 ve Şekil 3.5'den görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-zeatin $9.09 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-zeatin $10.23 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, 1. günde her iki zeatin formunda da belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Bağlı-zeatin miktarında ise az da olsa bir artma olmuştur. 3. günde ise serbest- ve toplam-zeatin miktarları belirgin bir artış gösterirken, bağlı-zeatin miktarı az da olsa bir azalma göstermiştir. 6. günde her üç formdaki zeatin miktarları önemli oranda bir azalma gösterirken, 9. günde az miktarda artma göstermişlerdir. 12. günde ise, bağlı-zeatin miktarı azalırken, serbest- ve toplam-zeatin miktarları yeniden belirgin bir artış göstermiş ve 1. saatteki değerlerine yakın ancak üzerinde bir düzeye çıkarak, diğer inkübasyon günlerine göre maksimum değerlerine ulaşmıştır (sırasıyla $10.24 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $10.31 \mu\text{g} / \text{mL}$).

Fungusun sekonder metabolizma fazının 15. gününde serbest- ve toplam-zeatin miktarları belirgin bir azalma göstermiş ancak, 15. günden itibaren inkübasyonun 42. gününe kadar her üç formdaki zeatin miktarlarında önemli olmayan artma ve azalmalar saptanmıştır.

TABLO 3.10. *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da Kültür Ortamında ve Miselde Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-Zeatin Eşdeğer Miktarları ve Kuru Misel Ağırlığı(Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	ZEATİN EŞDEĞER MİKTARI ($\mu\text{g/mL}$)							KMA (mg/100 mL)
	KÜLTÜR ORTAMINDA			MSELDE			KÜLTÜR ORT. TOPLAM-ZEATİN + MSEL TOPLAM ZEATİN	
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-		
1. SAAT	9.09 \pm 0.19	1.14 \pm 0.09	10.23 \pm 0.11	0.47 \pm 0.04	0.33 \pm 0.11	0.80 \pm 0.09	11.03 \pm 3.83	4.10 \pm 0.50
1	1.60 \pm 0.14	1.22 \pm 0.06	2.82 \pm 0.10	1.08 \pm 0.05	0.40 \pm 0.08	1.48 \pm 0.13	4.3 \pm 0.46	12.00 \pm 0.00
3	4.88 \pm 0.09	0.40 \pm 0.02	5.28 \pm 0.11	1.89 \pm 0.01	0.34 \pm 0.03	2.23 \pm 0.04	7.51 \pm 2.01	17.00 \pm 0.14
6	0.31 \pm 0.03	0.11 \pm 0.02	0.42 \pm 0.03	2.49 \pm 0.10	0.98 \pm 0.06	3.47 \pm 0.04	3.89 \pm 0.97	21.30 \pm 0.70
9	1.67 \pm 0.23	0.28 \pm 0.03	1.95 \pm 0.21	4.97 \pm 0.39	0.26 \pm 0.01	5.23 \pm 0.38	7.18 \pm 2.01	31.20 \pm 0.10
12	10.24 \pm 0.31	0.07 \pm 0.02	10.31 \pm 0.33	0.80 \pm 0.21	0.74 \pm 0.02	1.54 \pm 0.20	11.85 \pm 4.40	43.20 \pm 0.11
15	3.20 \pm 0.09	0.08 \pm 0.03	3.28 \pm 0.06	0.69 \pm 0.08	0.32 \pm 0.02	1.01 \pm 0.09	4.29 \pm 1.30	43.00 \pm 0.60
18	2.45 \pm 0.42	0.09 \pm 0.03	2.54 \pm 0.39	0.80 \pm 0.08	0.46 \pm 0.03	1.26 \pm 0.06	3.80 \pm 0.96	42.60 \pm 0.00
21	3.33 \pm 0.11	0.25 \pm 0.02	3.58 \pm 0.10	0.16 \pm 0.04	0.09 \pm 0.02	0.25 \pm 0.03	3.83 \pm 1.43	42.00 \pm 0.00
28	0.86 \pm 0.07	1.67 \pm 0.12	2.53 \pm 0.05	2.26 \pm 0.01	0.23 \pm 0.03	2.49 \pm 0.03	5.02 \pm 0.80	39.90 \pm 0.00
35	0.39 \pm 0.12	0.22 \pm 0.10	0.61 \pm 0.10	0.41 \pm 0.03	0.24 \pm 0.02	0.65 \pm 0.02	1.26 \pm 0.09	38.50 \pm 0.10
42	0.78 \pm 0.06	0.60 \pm 0.00	1.38 \pm 0.06	0.47 \pm 0.13	0.13 \pm 0.04	0.60 \pm 0.09	1.98 \pm 0.57	35.90 \pm 0.06



Şekil 3.5. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da kültür ortamında 269 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-Zeatin

----- KMA

□-----□ Bağlı-Zeatin

Δ-----Δ Toplam-Zeatin

3. günde elde edilen toplam-zeatin miktarı ile 1., 6., 9., 15., 18., 28., 35. ve 42. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları arasındaki farkın, yapılan istatistik analizine göre önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). 1. saat ve 12. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile diğer bütün inkübasyon zamanları arasındaki farkın da önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

3.1.3. Miselde

3.1.3.1. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarlarının değişimi

3.1.3.1.a. 280 nm dalga boyunda

Kültür periyoduna bağlı olarak miselden elde edilen ve spektrofotometre'de 280 nm dalga boyunda okunan serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarları, Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.6 ve Şekil 3.6'dan görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-IAA miktarı $0.27 \mu\text{g} / \text{mL}$, bağlı-IAA $0.65 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-IAA $0.92 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, 6. güne kadar serbest- ve toplam-IAA miktarları artış göstermiş, buna karşılık bağlı-IAA miktarı 6.gün hariç, azalma göstermiştir. 9. günde serbest-IAA az da olsa azalırken, bağlı- ve toplam-IAA miktarları artmıştır. 12.günde ise, her üç formdaki IAA miktarları azalmıştır. 15. günde bağlı- ve toplam-IAA miktarları azalmış, serbest-IAA miktarı artmaya başlamıştır. 18. günde serbest- ($2.31 \mu\text{g} / \text{mL}$), bağlı- ($1.40 \mu\text{g} / \text{mL}$) ve toplam-IAA ($3.71 \mu\text{g} / \text{mL}$) miktarlarının 15. güne göre sırasıyla yaklaşık olarak 3, 7 ve 4 kat artarak, bağlı-IAA hariç, tüm inkübasyon sürelerine göre maksimum seviyeye ulaştığı gözlenmiştir. 21., 28. ve 35. günlerde serbest- ve toplam-IAA miktarlarının sürekli azalmasına karşılık, bağlı-IAA miktarı bu periyotlarda artma ve azalmalar göstermiş ve tüm inkübasyon

serbest-IAA miktarı ise az da olsa artmıştır (0.56 $\mu\text{g} / \text{mL}$).

9. günde elde edilen toplam-IAA miktarı ile 1. saat, 1., 3., 6., 12., 15., 28., 35. ve 42. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları arasındaki farkın, yapılan istatistik analize göre önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). 18. ve 21. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları ile diğer tüm inkübasyon zamanlarında elde edilen toplam-IAA miktarları arasındaki farkın da yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

3.1.3.1.b. 222 nm dalga boyunda

Kültür periyoduna bağlı olarak miselden elde edilen ve spektrofotometre'de 222 nm dalga boyunda okunan serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarları, Tablo 3.7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7 ve Şekil 3.7'den görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-IAA miktarı 0.26 $\mu\text{g} / \text{mL}$, bağlı-IAA miktarı 0.52 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-IAA miktarı 0.78 $\mu\text{g} / \text{mL}$ iken, 1. günde serbest-IAA 0.51 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye yükselmiş, bağlı-IAA 0.21 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye, toplam-IAA miktarı ise 0.72 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye düşmüştür. 3. günde her üç formdaki IAA miktarları bir azalma gösterirken, 6. günde bağlı-IAA azalmaya devam etmiş, serbest- ve toplam-IAA artma göstermiştir. 9. günde 6. güne göre serbest-IAA miktarı 1/2 oranında azalma gösterirken, bağlı-IAA miktarında yaklaşık olarak 10 kat, toplam-IAA miktarında ise az artma gözlenmiştir. Bu artışla bağlı- ve toplam-IAA miktarı inkübasyonun 9. gününde tüm diğer inkübasyon günlerine göre maksimum seviyeye ulaşmıştır ($P < 0.05$). Her üç formdaki IAA miktarları, fungusun sekonder metabolizma fazına girdiği 12. günde azalma göstermiştir. Bağlı-IAA miktarı 15. günde de az da olsa azalmaya devam ederken, serbest- ve toplam-IAA miktarları artış göstermiştir. 18. günde serbest-, bağlı- ve toplam-IAA

miktarlarının sırasıyla 2, 6 ve 2.5 kat arttığı gözlenmiştir. Serbest- ve toplam-IAA miktarları 21. günden 42. güne kadar belirgin bir şekilde azalırken, aynı periyotlarda bağlı-IAA miktarında azalma ve artmalar olmuş ancak, belirgin değişiklikler görülmemiştir.

1. saat, 1., 28. ve 35. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları ile 12. ve 15. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları arasındaki farkların ve 6. ve 21. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları ile 3., 12. ve 15. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları arasındaki farkların, yapılan istatistik analize göre önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). 9. ve 18. günlerde elde edilen toplam-IAA miktarları ile 3., 12., 15., 35. ve 42. günler arasındaki farkların da yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

3.1.3.2. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarlarının değişimi

Kültür periyoduna bağlı olarak miselden elde edilen serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarları, Tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3.8 ve Şekil 3.8'den görüldüğü gibi, 1. saatte serbest- GA_3 miktarı $6.16 \mu g / mL$, bağlı- GA_3 miktarı $3.08 \mu g / mL$ ve toplam- GA_3 miktarı ise $9.24 \mu g / mL$ olarak saptanmıştır. 1. günde bu değerlere göre, serbest- GA_3 miktarı yarısı kadar azalırken, bağlı- GA_3 miktarı 6 kat, toplam- GA_3 miktarı ise 2.5 kat artmıştır. 3. günde serbest- GA_3 miktarı 25 kat, toplam- GA_3 miktarı ise 4 kat artarak sırasıyla $92.36 \mu g / mL$ ve $96.87 \mu g / mL$ 'ye ulaşmıştır. Bağlı- GA_3 miktarı aksine yaklaşık 4 kat bir azalma göstermiştir ($4.51 \mu g / mL$). Buna karşılık, 6. günde bağlı- GA_3 miktarı $4.51 \mu g/mL$ 'den $77.17 \mu g/mL$ 'ye yükselerek diğer inkübasyon sürelerine göre maksimum düzeye ulaşmış,

serbest-GA₃ miktarı ise azalmıştır (52.03 µg / mL). Toplam-GA₃ miktarı ise yine bir artma göstermiştir. 9. günde 6. günün aksine serbest-GA₃ miktarı artarken, bağlı-GA₃ miktarının belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Toplam-GA₃ miktarı ise az da olsa artmaya devam etmiştir. Fungusun sekonder metabolizma fazına girdiği 12. günde serbest- ve toplam-GA₃ miktarları belirgin bir şekilde artarak diğer inkübasyon sürelerine göre maksimum düzeylere sırasıyla 339.40 µg / mL ve 351.43 µg / mL'ye ulaşmıştır. Bu kültür periyodunda bağlı-GA₃ miktarı da hemen hemen aynı oranda bir artma göstermiştir. Fungusun sekonder metabolizma fazının 15. gününden itibaren 42. güne kadar 21. gün hariç, serbest-GA₃ miktarı devamlı bir şekilde azalma göstermiştir. Bağlı-GA₃ miktarı ise 28. güne kadar bir azalma göstermiştir (3.08 µg / mL). 35. günde bağlı-GA₃ miktarı 47.41 µg / mL'ye yükselmiş, 42. günde ise tekrar azalarak 27.71 µg / mL'ye düşmüştür. Yine de bu değer 6. ve 35. günler hariç, diğer inkübasyon sürelerindeki değerlerinden yüksektir. Toplam-GA₃ miktarında da serbest- ve bağlı-GA₃ gibi 35. gün hariç, sürekli bir azalma saptanmıştır.

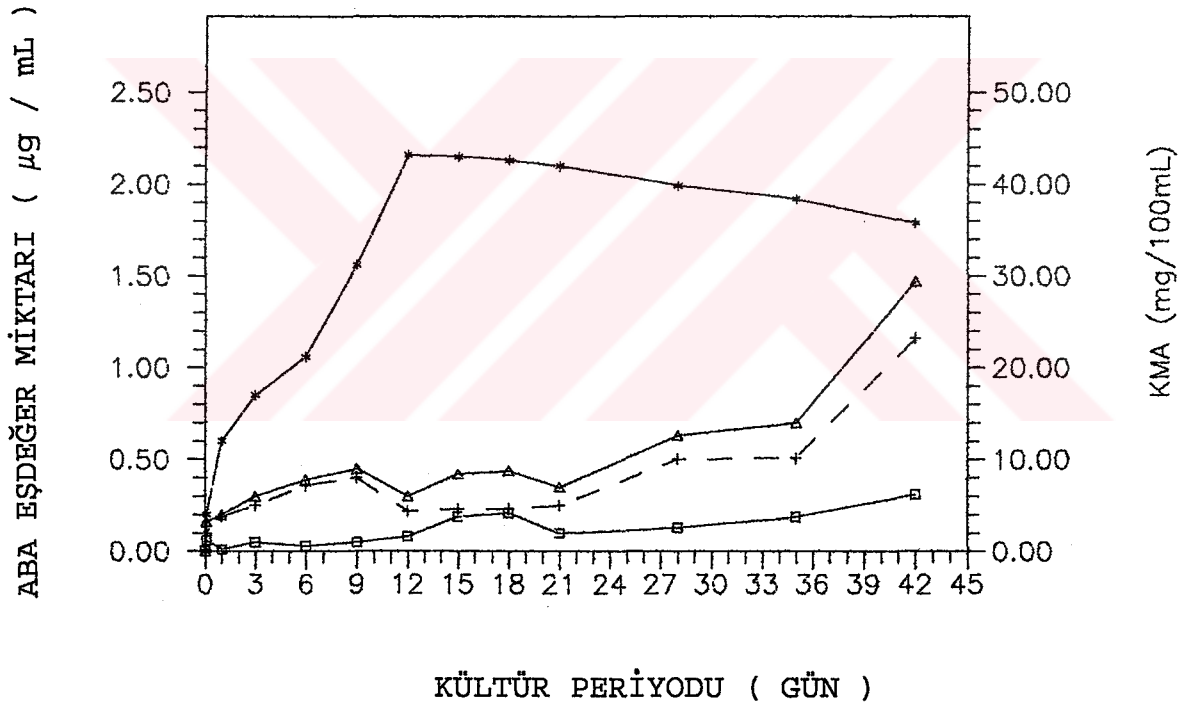
6., 18. ve 21. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları ile 1. saat, 1., 3., 28., 35. ve 42. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları arasındaki farkların ve 9. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 1. saat, 1., 3., 21., 28., 35. ve 42. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları arasındaki farkın, yapılan istatistik analize göre önemli olduğu bulunmuştur (P < 0.05). 12. ve 15. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları ile diğer bütün inkübasyon zamanları arasındaki farkların da yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır (P < 0.05).

3.1.3.3. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarının değişimi

Kültür periyoduna bağlı olarak miselden elde edilen serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları, Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9 ve Şekil 3.9'dan görüldüğü gibi, 1. saatte $0.10 \mu\text{g} / \text{mL}$ olan serbest-ABA miktarı, $0.16 \mu\text{g} / \text{mL}$ olan toplam-ABA miktarı 9. güne kadar sürekli artmış ve sırasıyla $0.40 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $0.45 \mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye ulaşmıştır. 9. günden sonra gerek serbest-ABA gerekse toplam-ABA değerleri 21. güne kadar pek değişiklik göstermemiş, 28. günde ise her iki ABA formu da 21. güne göre yaklaşık 2 katı bir artma göstermiş ve bu artış 42. güne kadar devam etmiştir. Bu kültür periyodundaki serbest- ve toplam-ABA değerlerinin diğer kültür periyotlarına göre maksimum düzeyde oldukları saptanmıştır. Buna karşılık, 1. saatte $0.06 \mu\text{g}/\text{mL}$ olan bağlı-ABA miktarı ise 12. güne kadar zamana bağlı olarak az da olsa azalma ve artmalar göstermiştir. Oysa, 15. ve 18. günlerde bağlı-ABA miktarı ilk 12 günlük kültür periyotlarına göre belirgin bir artma göstermiştir. 21. günde $1/2$ oranında azalma gösteren bağlı-ABA, daha sonraki kültür periyotlarında az da olsa azalma ve artmalar göstermiştir.

9. günde elde edilen toplam-ABA miktarı ile 1. saat, 1., 3., 12. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farkın, yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). 28., 35. ve 42. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları ile diğer bütün inkübasyon zamanlarında elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farklar da yapılan istatistik analize göre önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).



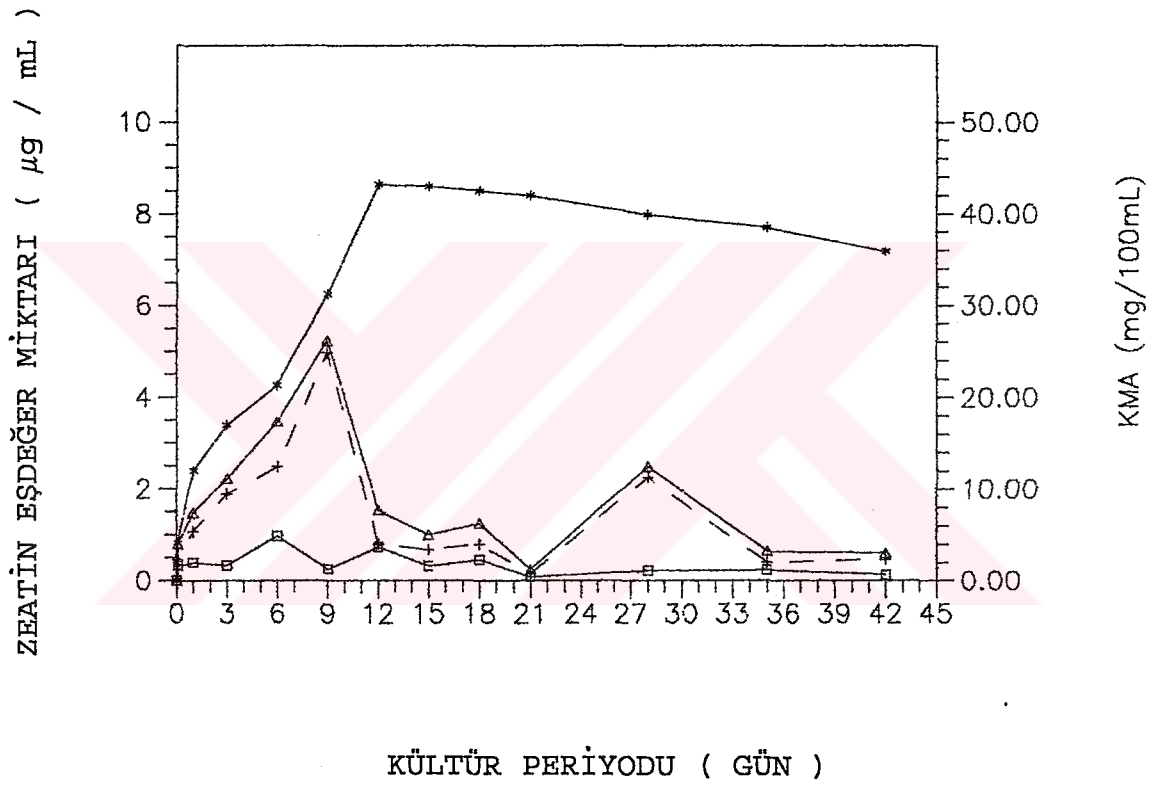
Şekil 3.9. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da miselde 263 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-ABA *-----* KMA
 □-----□ Bağlı-ABA
 Δ-----Δ Toplam-ABA

3.1.3.4. Kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarlarının değişimi

Kültür periyoduna bağlı olarak miselden elde edilen serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları, Tablo 3.10'da verilmiştir.

Tablo 3.10 ve Şekil 3.10'dan görüldüğü gibi, 1. saatte $0.47 \mu\text{g} / \text{mL}$ olan serbest-zeatin miktarı 9. güne kadar belirgin bir şekilde artarak tüm kültür periyotlarındaki en yüksek düzeyine ulaşmıştır ($4.97 \mu\text{g} / \text{mL}$). Bağlı-zeatin miktarı 1. saatte $0.33 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, 3. gün hariç sürekli artma göstererek 6. günde tüm kültür periyotlarına göre maksimum düzeyine ($0.98 \mu\text{g} / \text{mL}$) ulaşmış ancak, 9. günde ise azalma göstererek $0.26 \mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye düşmüştür. Serbest-zeatin'de olduğu gibi toplam-zeatin miktarı da ilk 9 günlük inkübasyon süresinde sürekli bir artma göstermiş ve 9. günde en yüksek düzeyine ulaşmıştır ($5.23 \mu\text{g} / \text{mL}$). 12. günde hem serbest- ve hem de toplam-zeatin miktarları önemli bir azalma göstermiş, buna karşılık, bağlı-zeatin miktarında bir yükselme saptanmıştır. 15. günden itibaren 42. güne kadarki inkübasyon sürelerinde her üç formdaki zeatin miktarlarında 28. gün hariç, önemli olmayan azalma ve artmalar saptanmıştır. 28. günde hem serbest- ve hem de toplam-zeatin miktarları 15., 18., 21., 35. ve 42. günlerdeki değerlerinden belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. 3. ve 28. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile 1. saat, 1., 12., 15., 18., 21., 35. ve 42. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları arasındaki farklar, yapılan istatistik analize göre önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). 6. ve 9. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile diğer bütün inkübasyon zamanlarında elde edilen toplam-zeatin miktarları arasındaki farkların da yapılan istatistik analize göre önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).



Şekil 3.10. *Phanerochaete chrysosporium* ME446'da miselde 269 nm dalga boyunda kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarlarının ve kuru misel ağırlığının değişimi

+-----+ Serbest-Zeatin *———* KMA
 □———□ Bağlı-Zeatin
 Δ———Δ Toplam-Zeatin

3.2. Değişik Konsantrasyonlarda Standart Sentetik-IAA, -GA₃ , -ABA , -Zeatin ve *P. chrysosporium* ME446 'dan Elde Edilen IAA, GA₃, ABA ve Zeatin'in Biyolojik Aktivitelerinin Tayini

3.2.1. Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve Fungal-IAA'nın Yulaf koleoptil büyümesi üzerine etkisi

Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve fungal-IAA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen koleoptil boyları, Tablo 3.11'de gösterilmiştir.

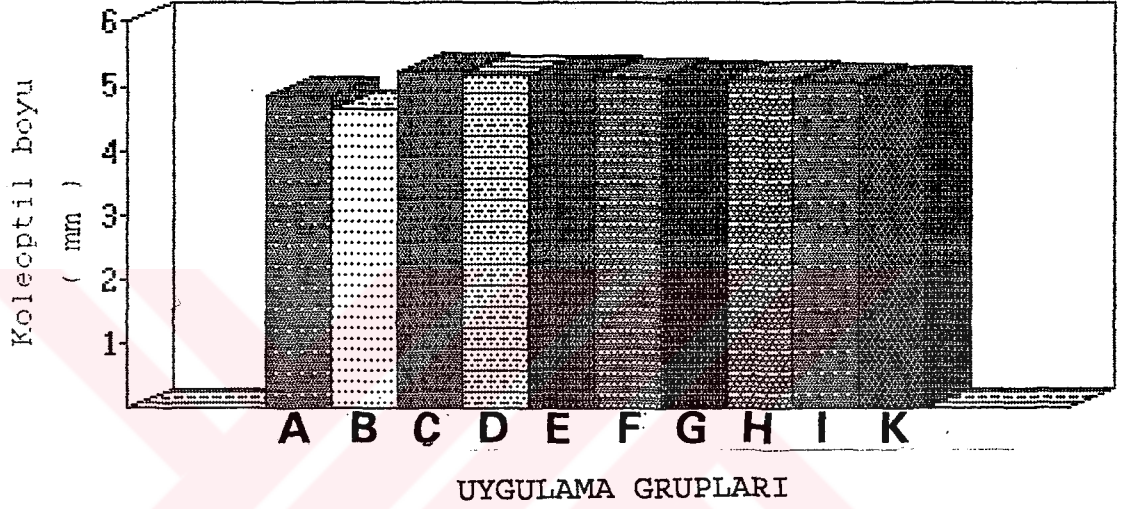
Tablo 3.11 ve Şekil 3.11'den görüldüğü gibi, koleoptil boyu, kontrol gruplarından 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisinde 4.85 mm, 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi + metanol'de ise 4.63 mm olarak ölçülmüştür. Her iki kontrol grubundaki koleoptil boyları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Koleoptil boyu, standart sentetik 10^{-5} M IAA'da 5.22 mm, fungal 10^{-5} M IAA'da ise 5.20 mm, standart sentetik 10^{-6} M IAA'da 5.18 mm, fungal 10^{-6} M IAA'da ise 5.14 mm, standart sentetik 10^{-7} M IAA'da 5.10 mm, fungal 10^{-7} M IAA'da ise 5.11 mm, standart sentetik 10^{-8} M IAA'da 5.07 mm, fungal 10^{-8} M IAA'da ise 5.01 mm olarak ölçülmüştür.

Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve fungal-IAA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen koleoptil boyları arasındaki farklar, tüm konsantrasyonlar için önemsiz bulunmuştur. Standart sentetik-IAA'nın 10^6 M ile 10^{-7} M ve 10^{-8} M konsantrasyonlarındaki koleoptil boyları arasındaki farklar, önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarında elde edilen koleoptil boyları arasındaki farkların, önemsiz olduğu belirlenmiştir. Fungal-IAA'nın 10^{-5} M ile 10^{-8} M ve 10^{-7} M ve 10^{-8} M konsantrasyonlarında koleoptil boyları arasındaki farklar, önemli

Tablo 3.11.Kontrol, Değişik Konsantrasyonlarda Standart Sentetik-IAA ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 Fungusundan Elde edilen IAA Eşdeğerleri Uygulanarak Yulaf Koleoptil Büyüme Testi ile Elde Edilen Yulaf Koleoptil Boyları (Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

UYGULAMA GRUPLARI	KOLEOPTİL BOYU (mm)
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi (Kontrol)	4.85 \pm 0.09
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi + Metanol (Kontrol)	4.63 \pm 0.03
Sentetik 10^{-5} M IAA	5.22 \pm 0.02
Fungal 10^{-5} M IAA	5.20 \pm 0.08
Sentetik 10^{-6} M IAA	5.18 \pm 0.06
Fungal 10^{-6} M IAA	5.14 \pm 0.15
Sentetik 10^{-7} M IAA	5.10 \pm 0.07
Fungal 10^{-7} M IAA	5.11 \pm 0.01
Sentetik 10^{-8} M IAA	5.07 \pm 0.06
Fungal 10^{-8} M IAA	5.01 \pm 0.01



Şekil 3.11. Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-IAA ve *P. chrysosporium* ME446 fungusundan elde edilen IAA eşdeğerleri uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boylarının değişimi

- A: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi (kontrol)
- B: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + Metanol (kontrol)
- C: Sentetik 10^{-5} M IAA
- D: Fungal 10^{-5} M IAA
- E: Sentetik 10^{-6} M IAA
- F: Fungal 10^{-6} M IAA
- G: Sentetik 10^{-7} M IAA
- H: Fungal 10^{-7} M IAA
- I: Sentetik 10^{-8} M IAA
- K: Fungal 10^{-8} M IAA

bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarındaki koleoptil boyları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur. Ancak, tüm standart sentetik-IAA gruplarındaki koleoptil boyları ile her iki kontrol grubundaki koleoptil boyları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Bununla birlikte, fungal-IAA'nın 10^{-8} M grubundaki koleoptil boyu ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi (kontrol) uygulanan gruptaki koleoptil boyu arasındaki fark önemsiz bulunurken, fungal-IAA'nın 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M grupları ile aynı kontrol grubundaki koleoptil boyu arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Ayrıca, tüm fungal-IAA gruplarındaki koleoptil boyları ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki (kontrol) koleoptil boyu arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

3.2.2. Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- GA_3 ve Fungal- GA_3 ' ün çüce piriñ varyetesinde ikinci yaprak kın uzunluğu üzerine etkisi

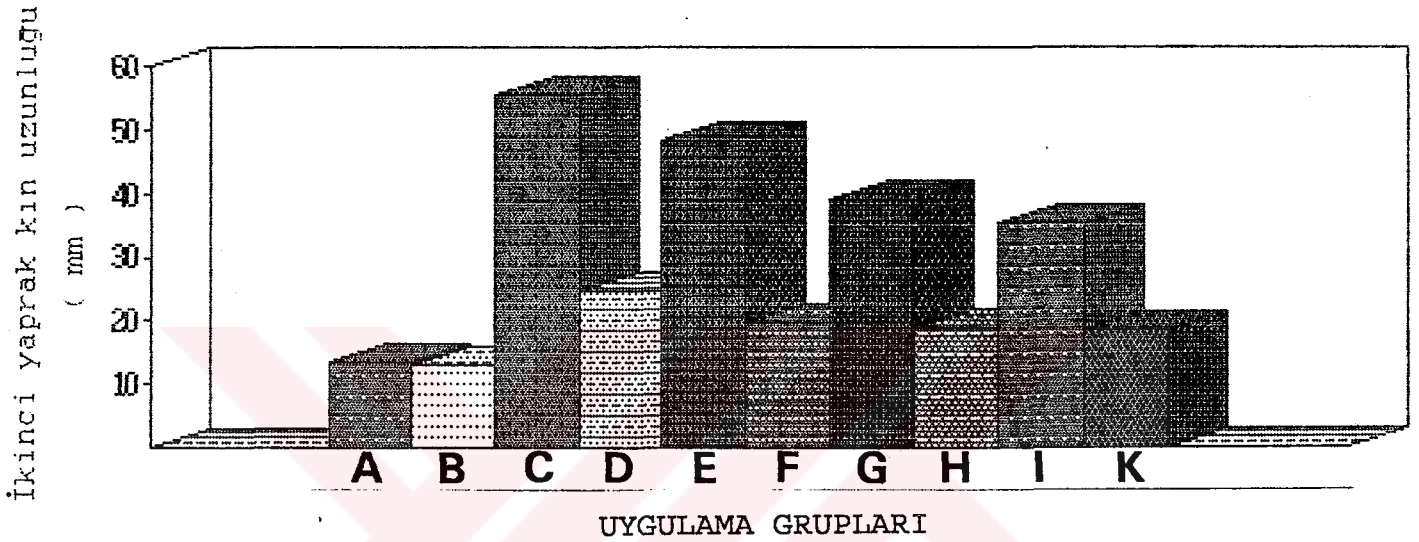
Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- GA_3 ve fungal- GA_3 uygulanarak piriñ çimlendirme testi ile elde edilen **Tan-ginbozu** çüce piriñ varyetesi ikinci yaprak kın uzunlukları, Tablo 3.12'de gösterilmiştir.

Tablo 3.12 ve Şekil 3.12'den görüldüğü gibi, ikinci yaprak kın uzunluğu, kontrol gruplarından 1/2 N Hoagland kültür çözeltisinde 13.52 mm, 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol'de 12.91 mm olarak ölçülmüştür. Her iki kontrol grubundaki ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

İkinci yaprak kın uzunluğu, standart sentetik 10^{-4} M GA_3 ' de 55.61 mm, fungal 10^{-4} M GA_3 'de ise 24.88 mm, standart sentetik 10^{-5} M GA_3 'de 48.42 mm, fungal 10^{-5} M GA_3 'de ise 19.59 mm, standart sentetik 10^{-6} M GA_3 'de 39.11 mm, fungal 10^{-6} M GA_3 'de ise 18.87 mm, standart sentetik 10^{-7} M

Tablo 3.12. Kontrol, Değişik Konsantrasyonlarda Standart Sentetik GA_3 ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 Fungusundan Elde Edilen GA_3 Eşdeğerleri Uygulanarak Pirinç Çimlendirme Testi ile Elde Edilen Tan-ginbozu Cüce Pirinç Varyetesi İkinci Yaprak Kin Uzunlukları (Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

UYGULAMA GRUPLARI	İKİNCİ YAPRAK KİN UZUNLUĞU (mm)
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi (Kontrol)	13.52 \pm 0.03
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi + Metanol (Kontrol)	12.91 \pm 0.05
Sentetik 10^{-4} M GA_3	55.61 \pm 0.19
Fungal 10^{-4} M GA_3	24.88 \pm 0.47
Sentetik 10^{-5} M GA_3	48.42 \pm 0.65
Fungal 10^{-5} M GA_3	19.59 \pm 0.09
Sentetik 10^{-6} M GA_3	39.11 \pm 1.66
Fungal 10^{-6} M GA_3	18.87 \pm 0.28
Sentetik 10^{-7} M GA_3	35.23 \pm 0.99
Fungal 10^{-7} M GA_3	18.61 \pm 0.04



Şekil 3.12. Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- GA_3 ve *P. chrysosporium* ME446 fungusundan elde edilen GA_3 eşdeğerleri uygulanarak pirinç çimlendirme testi ile elde edilen **Tan-ginbozu** cüce pirinç varyetesi ikinci yaprak kın uzunluklarınının değişimi

- A: 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi (kontrol)
 B: 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi + metanol (kontrol)
 C: Sentetik 10^{-4} M GA_3
 D: Fungal 10^{-4} M GA_3
 E: Sentetik 10^{-5} M GA_3
 F: Fungal 10^{-5} M GA_3
 G: Sentetik 10^{-6} M GA_3
 H: Fungal 10^{-6} M GA_3
 I: Sentetik 10^{-7} M GA_3
 K: Fungal 10^{-7} M GA_3

GA₃ 'de 35.23 mm, fungal 10⁻⁷ M GA₃ 'de ise 18.61 mm olarak saptanmıştır.

Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-GA₃ ve fungal-GA₃ uygulanarak pirinç çimlendirme testi ile elde edilen **Tan-ginbozu** cüce pirinç varyetesi ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki farklar, tüm konsantrasyonlar için önemli bulunmuştur (P<0.05). Ayrıca, tüm standart sentetik -GA₃ gruplarındaki ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki farklar da önemli bulunmuştur (P < 0.05). Bununla birlikte, fungal-GA₃' ün 10⁻⁵ M ile 10⁻⁶ M ve 10⁻⁶ M ile 10⁻⁷ M gruplarındaki ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki farklar önemsiz bulunurken, diğer tüm konsantrasyonlarındaki ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır (P<0.05). Ayrıca, tüm konsantrasyonlarda standart sentetik-GA₃ ve fungal-GA₃ gruplarındaki ikinci yaprak kın uzunlukları ile kontrol gruplarındaki ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki farkların da önemli olduğu belirlenmiştir (P < 0.05).

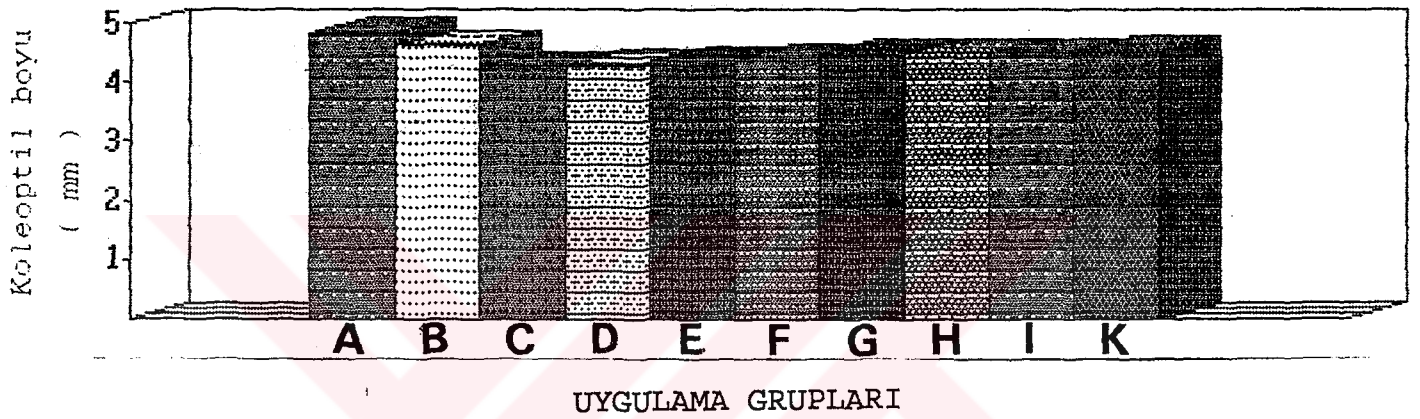
3.2.3. Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve fungal-ABA'nın yulaf koleoptil büyümesi üzerine etkisi

Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve fungal-ABA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boyları, Tablo 3.13'de gösterilmiştir.

Tablo 3.13 ve Şekil 3.13'den görüldüğü gibi, koleoptil boyu kontrol gruplarından 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisinde 4.85 mm, 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi+ metanol'de ise 4.63 mm olarak ölçülmüştür. Her iki kontrol grubundaki koleoptil boyları arasındaki fark önemli bulunmuştur (P < 0.05).

Tablo 3.13. Kontrol, Değişik Konsantrasyonlarda Standart Sentetik-ABA ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 Fungusundan Elde edilen ABA Eşdeğerleri Uygulanarak Yulaf Koleoptil Büyüme Testi ile Elde Edilen Yulaf Koleoptil Boyları (Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

UYGULAMA GRUPLARI	KOLEOPTİL BOYU (mm)
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi (Kontrol)	4.85 \pm 0.09
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi + Metanol (Kontrol)	4.63 \pm 0.03
Sentetik 10^{-6} M ABA	4.27 \pm 0.02
Fungal 10^{-6} M ABA	4.30 \pm 0.18
Sentetik 10^{-7} M ABA	4.36 \pm 0.11
Fungal 10^{-7} M ABA	4.39 \pm 0.04
Sentetik 10^{-8} M ABA	4.47 \pm 0.01
Fungal 10^{-8} M ABA	4.50 \pm 0.04
Sentetik 10^{-9} M ABA	4.51 \pm 0.03
Fungal 10^{-9} M ABA	4.53 \pm 0.02



Şekil 3.13. Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve *P. chrysosporium* ME446 fungusundan elde edilen ABA eşdeğerleri uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boylarınının değişimi

- A: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi (kontrol)
 B: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol (kontrol)
 C: Sentetik 10^{-6} M ABA
 D: Fungal 10^{-6} M ABA
 E: Sentetik 10^{-7} M ABA
 F: Fungal 10^{-7} M ABA
 G: Sentetik 10^{-8} M ABA
 H: Fungal 10^{-8} M ABA
 I: Sentetik 10^{-9} M ABA
 K: Fungal 10^{-9} M ABA

Koleoptil boyu, standart sentetik 10^{-6} M ABA'da 4.27 mm, fungal 10^{-6} M ABA'da ise 4.30 mm, standart sentetik 10^{-7} M ABA'da 4.36 mm, fungal 10^{-7} M ABA'da ise 4.39 mm, standart sentetik 10^{-8} M ABA'da 4.47 mm, fungal 10^{-8} M ABA'da ise 4.50 mm, standart sentetik 10^{-9} M ABA'da 4.51 mm, fungal 10^{-9} M ABA'da ise 4.53 mm olarak ölçülmüştür.

Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-ABA ve fungal-ABA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen koleoptil boyları arasındaki farklar, tüm konsantrasyonlar için önemsiz bulunmuştur. Ayrıca, standart sentetik-ABA'nın 10^{-6} M ile 10^{-8} M ve 10^{-6} M ile 10^{-9} M gruplarındaki koleoptil boyları arasındaki farklar önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarındaki koleoptil boyları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte, fungal-ABA'nın 10^{-7} M ile 10^{-9} M gruplarındaki koleoptil boyları arasındaki fark önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarındaki koleoptil boyları arasındaki farkların önemsiz olduğu saptanmıştır. Ayrıca, standart sentetik-ABA ve fungal-ABA'nın tüm konsantrasyonlarındaki koleoptil boyları ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi grubundaki (kontrol) koleoptil boyu arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Bununla birlikte, standart sentetik-ABA'nın tüm konsantrasyonlarında koleoptil boyları ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki (kontrol) koleoptil boyu arasındaki farkların önemli olduğu belirlenirken ($P < 0.05$), fungal-ABA'nın 10^{-8} M ve 10^{-9} M gruplarındaki koleoptil boyları ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki (kontrol) koleoptil boyu arasındaki farkların önemsiz, diğer konsantrasyonlarındaki koleoptil boyları ile aynı kontrol grubundaki koleoptil boyu arasındaki farkların ise önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

3.2.4. Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve Fungal-zeatin'in klorofil miktarı üzerine etkisi

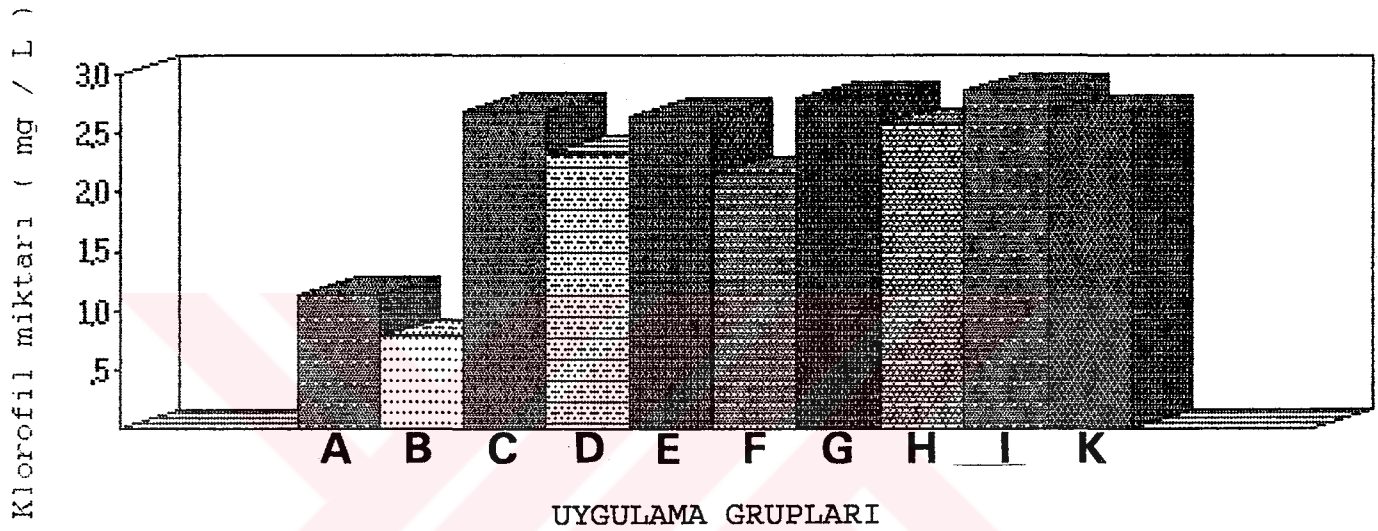
Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin uygulanarak klorofil miktar tayini testi ile elde edilen klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları, Tablo 3.14'de gösterilmiştir.

Tablo 3.14 ve Şekil 3.14, 3.15 ve 3.16'dan görüldüğü gibi, klorofil a, b ve toplam klorofil miktarları 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisinde sırasıyla 1.13 mg / L, 1.26 mg / L ve 2.39 mg / L iken, 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi + metanol'de ise sırasıyla 0.78 mg / L, 0.94 mg / L ve 1.72 mg / L olarak bulunmuştur. Her iki kontrol grubundaki klorofil a ve toplam klorofil miktarları arasındaki farklar önemli bulunurken ($P < 0.05$), klorofil b miktarları arasındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Standart sentetik 10^{-6} M zeatin'de klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları sırasıyla 2.69 mg / L, 1.40 mg / L ve 4.09 mg / L, fungal 10^{-6} M zeatin'de ise sırasıyla 2.33 mg / L, 1.39 mg / L ve 3.72 mg / L olarak bulunmuştur. Standart sentetik 10^{-7} M zeatin'de klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları sırasıyla 2.64 mg / L, 1.38 mg / L ve 4.02 mg / L, fungal 10^{-7} M zeatin'de ise sırasıyla 2.16 mg / L, 1.11 mg / L ve 3.27 mg / L olarak bulunmuştur. Standart sentetik 10^{-8} M zeatin'de klorofil a 2.79 mg / L, klorofil b 1.47 mg / L ve toplam-klorofil 4.26 mg / L bulunurken, fungal 10^{-8} M zeatin'de ise sırasıyla 2.56 mg / L, 1.31 mg / L ve 3.87 mg / L olarak saptanmıştır. Standart sentetik 10^{-9} M zeatin'de klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları sırasıyla 2.85 mg / L, 1.61 mg / L ve 4.46 mg / L iken, fungal 10^{-9} M zeatin'de ise sırasıyla 2.67

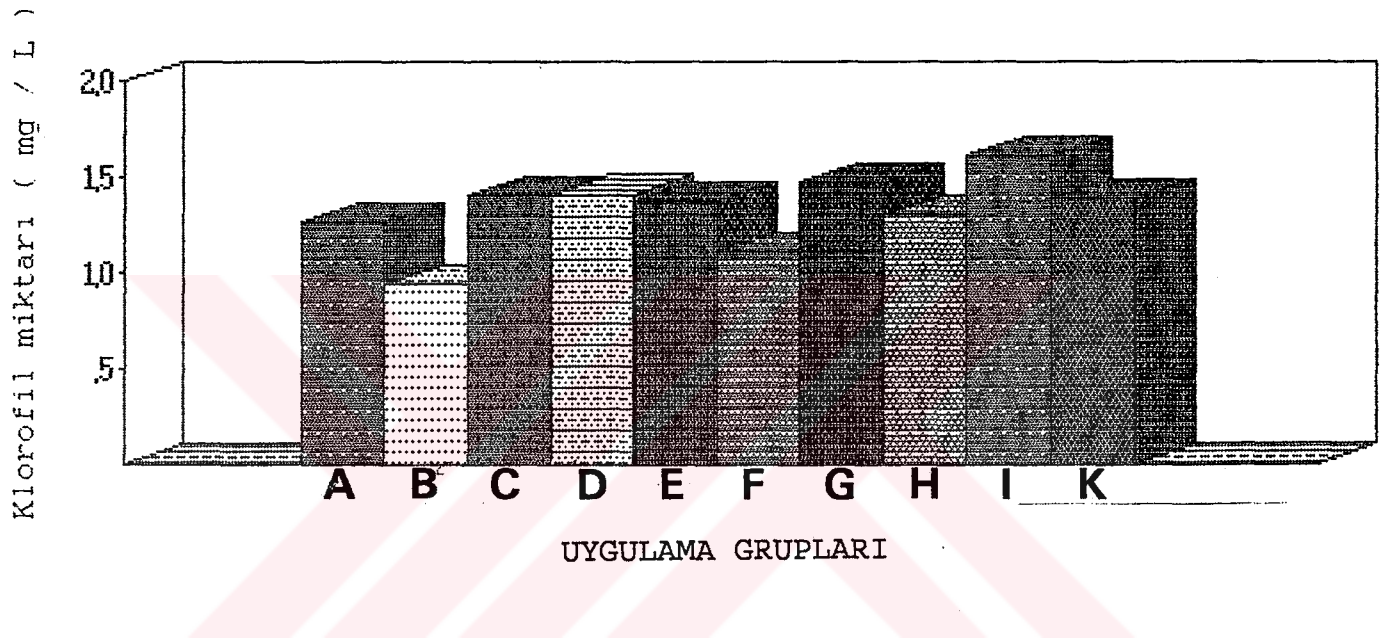
Tablo 3.14. Kontrol, Değişik Konsantrasyonlarda Standart Sentetik-Zeatin ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 Fungusundan Elde Edilen Zeatin Eşdeğerleri Uygulanarak Klorofil Miktarı Tayini Testi ile Elde Edilen Klorofil a , Klorofil b ve Toplam Klorofil Miktarları (Değerler 3 tekrarın ortalaması \pm standart hata olarak verilmiştir)

UYGULAMA GRUPLARI	KLOROFİL a MIKTARI (mg/L)	KLOROFİL b MIKTARI (mg/L)	TOPLAM KLOROFİL MIKTARI (mg/L)
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi (kontrol)	1.13 \pm 0.08	1.26 \pm 0.19	2.39 \pm 0.17
1/2 N Hoagland Kültür Çözeltisi+Metanol (Kontrol)	0.78 \pm 0.08	0.94 \pm 0.23	1.72 \pm 0.32
Sentetik 10^{-6} M Zeatin	2.69 \pm 0.26	1.40 \pm 0.10	4.09 \pm 0.37
Fungal 10^{-6} M Zeatin	2.33 \pm 0.09	1.39 \pm 0.06	3.72 \pm 0.52
Sentetik 10^{-7} M Zeatin	2.64 \pm 0.21	1.38 \pm 0.11	4.02 \pm 0.16
Fungal 10^{-7} M Zeatin	2.16 \pm 0.33	1.11 \pm 0.17	3.27 \pm 0.10
Sentetik 10^{-8} M Zeatin	2.79 \pm 0.34	1.47 \pm 0.17	4.26 \pm 0.32
Fungal 10^{-8} M Zeatin	2.56 \pm 0.08	1.31 \pm 0.01	3.87 \pm 0.55
Sentetik 10^{-9} M Zeatin	2.85 \pm 0.40	1.61 \pm 0.15	4.46 \pm 0.17
Fungal 10^{-9} M Zeatin	2.67 \pm 0.17	1.41 \pm 0.06	4.08 \pm 0.21



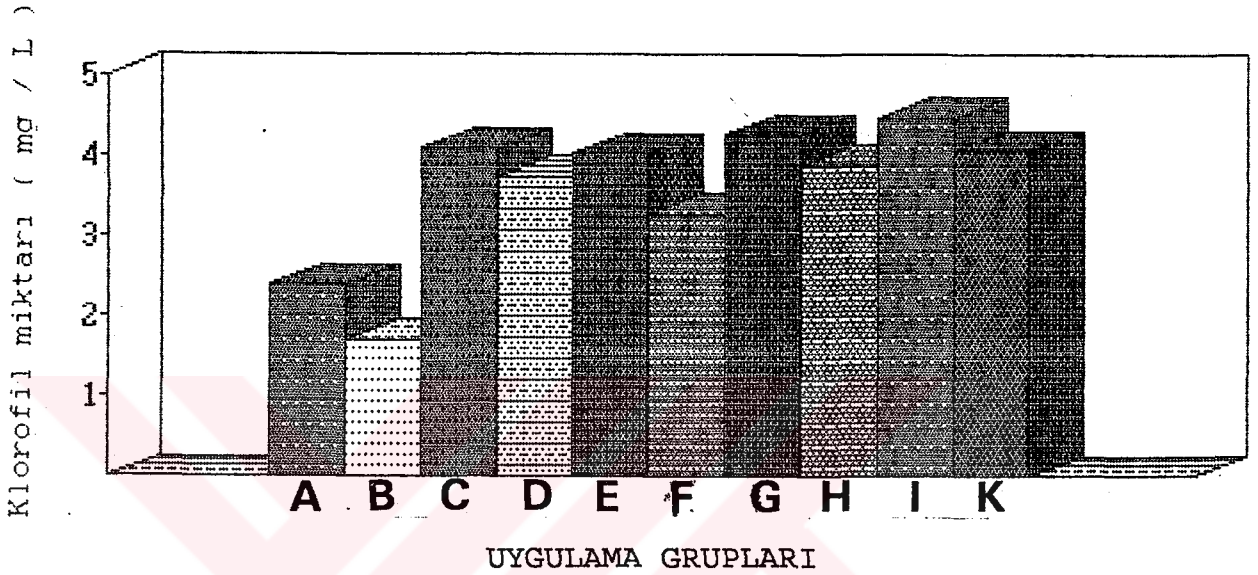
Şekil 3.14. Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve *P. chrysosporium* ME446 fungusundan elde edilen zeatin eşdeğerleri uygulanarak klorofil miktar tayini testi ile elde edilen klorofil miktarlarının değişimi

- A: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi (kontrol)
- B: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol (kontrol)
- C: Sentetik 10^{-6} M Zeatin
- D: Fungal 10^{-6} M Zeatin
- E: Sentetik 10^{-7} M Zeatin
- F: Fungal 10^{-7} M Zeatin
- G: Sentetik 10^{-8} M Zeatin
- H: Fungal 10^{-8} M Zeatin
- I: Sentetik 10^{-9} M Zeatin
- K: Fungal 10^{-9} M Zeatin



Şekil 3.15. Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve *P. chrysosporium* ME446 fungusundan elde edilen zeatin eşdeğerleri uygulanarak klorofil miktar tayini testi ile elde edilen klorofil b miktarlarının değişimi

- A: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi (kontrol)
- B: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol (kontrol)
- C: Sentetik 10^{-6} M Zeatin
- D: Fungal 10^{-6} M Zeatin
- E: Sentetik 10^{-7} M Zeatin
- F: Fungal 10^{-7} M Zeatin
- G: Sentetik 10^{-8} M Zeatin
- H: Fungal 10^{-8} M Zeatin
- I: Sentetik 10^{-9} M Zeatin
- J: Fungal 10^{-9} M Zeatin
- K: Fungal 10^{-9} M Zeatin



Şekil 3.16. Kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve *P. chrysosporium* ME446 fungusundan elde edilen zeatin eşdeğerleri uygulanarak klorofil miktarı tayini testi ile elde edilen toplam klorofil miktarlarının değişimi

- A: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi (kontrol)
 B: 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol (kontrol)
 C: Sentetik 10^{-6} M Zeatin
 D: Fungal 10^{-6} M Zeatin
 E: Sentetik 10^{-7} M Zeatin
 F: Fungal 10^{-7} M Zeatin
 G: Sentetik 10^{-8} M Zeatin
 H: Fungal 10^{-8} M Zeatin
 I: Sentetik 10^{-9} M Zeatin
 K: Fungal 10^{-9} M Zeatin

mg / L, 1.41 mg / L ve 4.08 mg / L olarak saptanmıştır.

10^{-7} M standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin gruplarında klorofil a miktarları arasındaki fark önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarında klorofil a miktarları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur. Standart sentetik-zeatin'in tüm konsantrasyonlarında klorofil a miktarları arasındaki farkların önemsiz olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, fungal-zeatin'in 10^{-6} M ile 10^{-9} M gruplarında klorofil a miktarları arasındaki fark önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarında klorofil a miktarları arasındaki farkların önemsiz olduğu saptanmıştır. Tüm standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin gruplarındaki klorofil a miktarları ile kontrol gruplarındaki klorofil a miktarları arasındaki farklar, önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin'in 10^{-7} M ve 10^{-9} M gruplarındaki klorofil b miktarları arasındaki fark önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarında klorofil b miktarları arasındaki farkların önemsiz olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, standart sentetik-zeatin'in 10^{-6} M ile 10^{-9} M gruplarında klorofil b miktarları arasındaki fark önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğer tüm konsantrasyonlarında klorofil b miktarları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte, tüm standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin gruplarında klorofil b miktarları ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi grubundaki klorofil b miktarı arasındaki farkların önemsiz olduğu belirlenmiştir. Ancak, standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin'in 10^{-6} M, 10^{-8} M ve 10^{-9} M gruplarındaki klorofil b miktarları ile 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki klorofil b miktarı arasındaki farklar önemli bulunurken ($P < 0.05$), gerek standart sentetik- ve gerekse fungal-zeatin'in 10^{-7} M konsantrasyonlarındaki klorofil b miktarları ile aynı kontrol grubundaki klorofil b miktarı arasındaki farkların önemsiz olduğu saptanmıştır.

Değişik konsantrasyonlarda standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin uygulanarak klorofil miktar tayini testi ile elde edilen toplam klorofil miktarları arasındaki farklar, tüm konsantrasyonlar için önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Ayrıca, standart sentetik-zeatin'in tüm konsantrasyonlarındaki toplam klorofil miktarları arasında ve fungal-zeatin'in tüm konsantrasyonlarındaki toplam klorofil miktarları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Bununla birlikte, tüm standart sentetik-zeatin ve fungal-zeatin gruplarındaki toplam klorofil miktarları ile kontrol gruplarındaki toplam klorofil miktarları arasındaki farklar da önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

4. TARTIŞMA

P.chryso sporium ME446'da ABA sentezinin olduğu daha önceki çalışmalarımızda belirtilmiştir (Ünyayar ve Bozcuk 1992). Bununla birlikte, literatür bilgilerimize göre, **P.chryso sporium ME446**'da diğer bitki büyüme maddelerinden IAA, GA₃ ve zeatin'in sentezi ve izolasyonu konusunda dünyada henüz bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, **P. chryso sporium ME446** fungusunda primer ya da sekonder bir metabolit olarak IAA, GA₃ ve zeatin sentezi, izolasyonu ve biyolojik aktivitelerinin saptanması, en yüksek IAA, GA₃ ve zeatin düzeylerinin elde edilebileceği fungus türlerinin belirlenmesine ve seçimine katkı getirebilmek amacı ile yapılan bu çalışmada, **P.chryso sporium ME446** fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kültür ortamında ve hem de miselde IAA, GA₃ ve zeatin'in üretimi ve ABA ile birlikte bu bitki büyüme maddelerinin ortak bir ekstraksiyon ve saflaştırma işlemi ile eldesi ilk defa laboratuvarımızda yapılmıştır.

Bulgularımıza göre, hem kültür ortamında ve hem de miselde tüm kültür periyotlarında 280 nm dalga boyunda her üç formdaki IAA miktarları 222 nm dalga boyundaki değerlerinden belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. Kültür ortamında ve miselde hem 280 nm ve hem de 222 nm dalga boylarında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-IAA miktarları incelendiğinde (Tablo 3.6, 3.7 ve Şekil 3.1,3.2, 3.6, 3.7); fungus primer metabolizma fazının 1. saatinde misel ve kültür ortamında her üç formdaki IAA miktarları dikkate alındığında kültür ortamındaki değerlerin miseldeki değerlerine göre çok belirgin bir şekilde yüksek düzeylerde olduğu görölmektedir. Bu kültür periyodunda kültür ortamında 280 nm dalga boyunda serbest-IAA miktarı 101.04 µg / mL, bağlı-IAA miktarı 7.98 µg / mL ve toplam-IAA miktarı 109.02 µg / mL ve 222 nm dalga boyunda serbest-IAA miktarı 14.00 µg

/ mL, bağılı-IAA miktarı 1.69 μg / mL ve toplam-IAA miktarı 15.69 μg / mL iken, miselde bu değerler sırasıyla 280 nm dalga boyunda 0.27 μg / mL, 0.65 μg / mL ve 0.92 μg / mL ve 222 nm dalga boyunda sırasıyla 0.26 μg / mL, 0.52 μg / mL ve 0.78 μg / mL olarak bulunmuştur. Kültür periyodununun 1., 3., 6., 9. ve 12. günlerinde hem misel ve hem de kültür ortamında her üç formdaki IAA miktarları iki dalga boyunda da incelendiğinde kültür periyoduna bağılı olarak sekonder metabolizma fazına kadar (12. gün) miseldeki değerlerinin düşük düzeylerde olduğu ve az da olsa azalma ve artmalara rağmen hemen hemen aynı kaldığı oysa, kültür ortamındaki değerlerin yüksek düzeylerde olduğu ve sürekli belirgin azalmalar gösterdiği görülmektedir (Tablo 3.6 ve 3.7). Bu bulgumuz Nishinari ve Yamaki (1976) tarafından desteklenmektedir.

Primer metabolizma fazınının 1. saatinde hem 280 nm ve hem de 222 nm dalga boylarında kültür ortamındaki toplam-IAA + miseldeki toplam-IAA miktarınının yüksek oluşu (Tablo 3.6 ve 3.7), fungus büyüme eğrisine göre lac. fazında mRNA, enzim ve protein gibi (Berry 1988) büyüme ve gelişme ile ilgili maddelerin sentezinin yanısıra bitki büyüme maddesi olarak IAA'nın da sentezlenebileceğini, bundan dolayı primer metabolizma fazınının 1. saatinde de olsa yüksek bulunabileceğini akla getirmektedir. 1. saatten itibaren KMA'nın 12. güne kadar artmaya devam etmesine karşın (Tablo 3.6), IAA miktarının sürekli azalma göstermesi başlangıçta yüksek düzeyde sentezlenen IAA'nın fungus büyümesini stimüle ettiği ve mevcut IAA'nın metabolitlerine yıkıldığı fikrini vermektedir. Tüm bu değerlerden, fungusun primer metabolizma fazınının 1. saatinde IAA sentezlediği ve sentezlenen IAA'nın hemen hemen hepsinin serbest- ve bağılı- formlarda kültür ortamına verildiği, 12. güne kadar diğer kültür periyotlarında ise sentezin gerçekleşmediği aksine mevcut IAA'nın metabolitlerine yıkıldığı anlaşılmaktadır.

Sekonder metabolizma fazında miselde hem 280 nm ve hem

de 222 nm dalga boylarında her üç formdaki IAA miktarları primer metabolizma fazında olduğu gibi oldukça düşük düzeylerde olup, önemli değişiklikler göstermemektedir (Tablo 3.6, 3.7 ve Şekil 3.6 ve 3.7). Oysa, kültür ortamında 15. günde 12. güne göre serbest- ve toplam-IAA miktarları belirgin bir artma göstermiş ($P < 0.05$) ve bu artış 28. güne kadar devam etmiştir ($P < 0.05$). Bağlı-IAA miktarlarında ise az da olsa artma ve azalmalar saptanmıştır. 35. günde toplam-IAA miktarında oldukça az bir azalma gözlenirken, 42. günde hem serbest- ve hem de toplam-IAA miktarları belirgin bir azalma göstererek, primer metabolizma düzeylerine inmiştir. Hem 280 nm ve hem de 222 nm dalga boylarında kültür ortamındaki toplam-IAA + miseldeki toplam-IAA miktarları incelendiğinde (Tablo 3.6 ve 3.7), 1. saatte 280 nm'de 109.94 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 222 nm'de 16.47 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunmuştur. Bu değerler, 1. günde 280 nm ve 222 nm'de sırasıyla 25.29 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 6.36 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye düşmüştür. Fungusun sekonder metabolizma fazına girdiği 12. günden itibaren her iki dalga boyunda da kültür ortamındaki toplam-IAA + miseldeki toplam-IAA miktarlarında kültür periyoduna bağlı olarak 28. güne kadar artma ($P < 0.05$), 35. günde az bir azalma, 42. günde ise belirgin bir azalma saptanmıştır. 12. günden itibaren KMA'nın az da olsa azalma göstermesi ve 15., 18. ve 21. günlerde IAA miktarının artması, ortamda besin maddelerinin giderek azalması sonucunda büyümedeki gerilemeye bir tepki olarak IAA'nın sentezlenebileceği ve ölen hücrelerin parçalanması ile de ortama bir miktar IAA'nın katılabileceği fikrini vermektedir. Tüm bu değerler, fungusun 42. gün hariç sekonder metabolizma fazı boyunca IAA sentezlediğini ve sentezlenen IAA'nın hemen hemen hepsinin serbest- ve bağlı- formlarda kültür ortamına verildiğini ifade etmektedir. Ayrıca, 42. günde IAA'nın büyük oranda metabolitlerine yıkıldığı ve yeni IAA sentezinin olmadığı fikrini de vermektedir.

Gerek primer metabolizma gerekse sekonder metabolizma

fazlarındaki IAA miktarları dikkate alındığında, **P. chryso-
sporium ME446** fungusunda IAA'nın hem primer ve hem de sekonder metabolit olduğunu söyleyebiliriz.

Tablo 3.6 ve 3.7'den görüldüğü gibi, 280 nm dalga boyunda kültür ortamındaki toplam-IAA + miseldeki toplam-IAA miktarı bütün kültür periyotlarında 222 nm'deki değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. 280 nm'de IAA miktarlarının daha yüksek oluşu IAA'nın maksimum soğurmasının 222 nm'de değil 280 nm'de olduğu fikrini vermektedir. Bu görüşümüz Fletcher ve Zalık (1963) tarafından desteklenmektedir.

**P.chryso-
sporium ME446** fungusu ile yaptığımız bu çalışmada, maksimum toplam-IAA miktarı kültür ortamında 28. günde 280 nm dalga boyunda 115.74 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (Tablo 3.6), 222 nm dalga boyunda 19.59 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (Tablo 3.7) olarak, miselde ise, 280 nm dalga boyunda 18. günde 3.71 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (Tablo 3.6), 222 nm dalga boyunda 9. günde 1.05 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (Tablo 3.7) olarak bulunmuştur.

Tuomi ve ark. (1993) tarafından yapılan bir çalışmada, **Botrytis cinerea**, **Cladosporium cladosporioides** ve **Aerobasidium pullulans** funguslarının kültür ortamlarında elde edilen maksimum IAA miktarları ise sırasıyla 0.717 ng / mL, 6.11 ng / mL ve 43.8 ng / mL olarak bulunmuştur. Aynı araştırmacıların misellerde elde ettikleri maksimum IAA miktarları ise **B. cinerea**'da 128 ng / g, **C. cladosporioides**'te 91.2 ng / g ve **A.pullulans** 'ta 84 ng / g'dır.

Bakterilerde de bitki büyüme maddeleri ile ilgili benzer çalışmalar yapılmıştır. **Bradyrhizobium japonicum**'un genotip II suşu kültür ortamında 20 μM IAA elde edildiği bildirilmektedir (Minamisawa ve Fukai 1991). Ayrıca, bakteriler ile infekte olmuş bitki dokularından da IAA ekstre edilmiştir (Epstein vd. 1991). Bu araştırmacılar, **Agrobacterium rhizogenes** ile infekte olmuş havuç dokularında 31.50 ng / g IAA elde etmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada da, **Cotinus coggygia**

bitkisinin çeliklerinde serbest- ve bağlı-IAA miktarları incelenmiş ve maksimum serbest-IAA gövdede 405.5 ng / g, bağlı-IAA ise 22 ng / g olarak saptanmıştır (Blakesley vd. 1991).

Görüldüğü gibi, diğer funguslar, bitki ve bakteriler ile yapılan çalışmalarda ng / mL veya ng / g düzeyinde IAA elde edilmesine karşılık, bizim çalışmamızda IAA miktarı μg / mL düzeyinde saptanmıştır. Tüm bu değerler dikkate alındığında, **P. chrysosporium ME446**'daki IAA'nın daha yüksek değerlerde olduğu fikrini vermektedir.

Kültür ortamı ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarları incelendiğinde (Tablo 3.8 ve Şekil 3.3 ve 3.8); fungus primer metabolizma fazının 1. saatinde misel ve kültür ortamında her üç formdaki GA_3 miktarları dikkate alındığında kültür ortamındaki değerlerin miseldeki değerlerine göre çok belirgin bir şekilde yüksek düzeylerde olduğu görülmektedir. Bu kültür periyodunda kültür ortamında serbest- GA_3 miktarı 86.41 μg / mL, bağlı- GA_3 miktarı 12 μg / mL ve toplam- GA_3 miktarı 98.40 μg / mL iken, miselde bu değerler sırasıyla 6.16 μg / mL, 3.08 μg / mL ve 9.24 μg / mL olarak bulunmuştur. Kültür periyodunun 1., 3., 6., 9. ve 12. günlerinde hem misel ve hem de kültür ortamında her üç formdaki GA_3 miktarları incelendiğinde, kültür periyoduna bağlı olarak miseldeki değerlerin düşük , kültür ortamındaki değerlerin ise yüksek düzeylerde olduğu ve 12. güne kadar azalma ve artmalar gösterdikleri görülmektedir. Primer metabolizma fazında, kültür ortamındaki toplam- GA_3 + miseldeki toplam- GA_3 miktarı incelendiğinde (Tablo 3.8), kültür periyodunun 1. saatinde GA_3 miktarının 107.64 μg / mL olduğu ve 1. günde bir azalma, daha sonra 12. güne kadar bir artma gösterdiği görülmektedir ($P < 0.05$).

Sekonder metabolizma fazının hem kültür ortamında hem de miselde 12. günde serbest- ve toplam- GA_3 miktarlarının belirgin bir artma göstermesi yeni GA_3 sentezinin olduğu ve

sentezlenen GA_3 'ün yaklaşık yarısının kültür ortamına verildiği fikrini vermektedir (Tablo 3.8). Bu kültür periyodunda bağlı- GA_3 miktarı kültür ortamında azalma, miselde az da olsa artma göstermiştir.

Kültür periyodunun 1. gün hariç 12. güne kadar KMA'daki artışa paralel olarak, kültür ortamındaki toplam- GA_3 + miseldeki toplam- GA_3 miktarının az da olsa sürekli bir artma göstererek, 12. günde 9. güne göre yaklaşık 3 kat artışla maksimum düzeye ulaşmıştır ($738.06 \mu g / mL$) ($P < 0.05$). 12. günden sonra 21. güne kadar giderek azalma göstermiş ($314.08 \mu g / mL$) fakat 28. ve 35. günlerde bir artma (sırasıyla $414.38 \mu g / mL$ ve $505.27 \mu g / mL$) göstermiştir. 12. günden sonra 21. güne kadar kültür ortamındaki toplam- GA_3 + miseldeki toplam- GA_3 miktarının azalmasına paralel olarak KMA'nın da azaldığı görülmektedir (Tablo 3.8). Tüm bu değerler, fungusun sekonder metabolizma fazının başlangıcında maksimum GA_3 sentezlediği ve 21. güne kadarki kültür periyotlarında ise sentezin gerçekleşmediği aksine mevcut GA_3 'ün metabolitlerine yıkıldığı fikrini vermektedir. Buna karşılık, sekonder metabolizma fazının 28. ve 35. günlerinde ise yeniden GA_3 sentezinin olduğu ve sentezlenen GA_3 'ün önemli bir kısmının serbest- ve bağlı- formlarda kültür ortamına verildiği, 42. günde ise GA_3 'ün büyük oranda metabolitlerine yıkıldığı ve yeni GA_3 sentezinin olmadığı düşünülmektedir. Yine, fungusun primer metabolizma fazında kültür ortamındaki toplam- GA_3 + miseldeki toplam- GA_3 miktarının artışına paralel olarak KMA'nın artışı, sekonder metabolizma fazında ise 21. güne kadar aynı formdaki GA_3 miktarının azalışına paralel olarak KMA'nın da azalması GA_3 'ün fungusun büyüme ve gelişmesinde stimülatör rolünü akla getirmektedir.

Ayrıca, bitki büyüme ve gelişmesinde bir stimülatör olan GA_3 'ün primer metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezinin fungusun sekonder metabolizma fazına girdiği 12. günde olduğu görülmektedir. Bu da,

gibberellinlerin sekonder bir metabolit olduğu literatür bilgisi (Ratledge 1992) ile uyum göstermektedir.

Cihangir (1992), **Aspergillus niger**'in 5 ayrı suşunda GA₃ verimini araştırmıştır. Bu suşlardan **A.niger NRRL 567**'de 100.29 mg / L, **A.niger Fürsan**'da 150.35 mg / L, **A.niger NRRL 328**'de 67.50 mg / L, **A.niger ATTC 2601**'de 52.50 mg / L ve **A.niger NRRL 334**'de 45.00 mg / L GA₃ elde etmiştir. **Gibberella fujikuroi G₅** suşu ile yapılan bir çalışmada da, elde edilen GA₃ miktarının 120.00 mg / L olduğu bildirilmiştir (Aksöz vd. 1994). Saucedo ve ark. (1989) ise, **Gibberella fujikuroi** fungusunda 15. günde 45.00 mg / L GA₃ sentezlendiğini bulmuşlardır. Kumar ve Lonsane (1988), **Gibberella fujikuroi P-3** suşunda 0.58-0.66 mg / L / saat GA₃ üretildiğini saptamışlardır.

P.chryso sporium ME446 fungusunda kültür ortamından ve miselden birlikte elde ettiğimiz maksimum toplam-GA₃ miktarı 12. günde 738.06 µg / mL'dir. Buna göre **P. chryso sporium ME 446**'da, Cihangir'in (1992) bulguları olan **A.niger NRRL 567** suşuna göre yaklaşık 7 misli, **A.niger Fürsan**'a göre 5 misli, **A.niger NRRL 328**'e göre 11 misli, **A.niger ATTC 2601**'e göre 15 misli ve **A.niger NRRL 334**'e göre 16 misli daha fazla GA₃ sentezlendiği görülmektedir. Ayrıca, çalışmamızda kullandığımız **P.chryso sporium ME446**'da, **Gibberella fujikuroi G₅** (Aksöz vd. 1994) suşuna göre yaklaşık 6 misli, **Gibberella fujikuroi**'ye (Saucedo vd. 1989) göre ise 16 misli daha fazla GA₃ sentezlendiği saptanmıştır.

Literatür bilgilerimize göre, GA₃' ün yüksek bitkilerde de sentezlendiği bilinmektedir. Örneğin, Potter vd. (1993), Safran (**Carthamus tinctorius**) bitkisinde ng / gövde düzeyinde GA₃ bulunduğunu bildirmişlerdir. Yüksek bitkilerde ve funguslarda elde edilen GA₃ miktarları incelendiğinde, gerek çalışmamızda kullandığımız **P. chryso sporium ME446** gerekse GA₃ sentezlediği bildirilen funguslardaki GA₃ miktarlarının yüksek bitkilerdeki ortalama GA₃ miktarlarına göre daha yüksek

değerlerde olduğunu söyleyebiliriz.

Kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları incelendiğinde (Tablo 3.9 ve Şekil 3.4 ve 3.9); fungus primer metabolizma fazının 1. saatinde misel ve kültür ortamında her üç formdaki ABA miktarları dikkate alındığında kültür ortamındaki değerlerin miseldeki değerlere göre yüksek düzeylerde olduğu görülmektedir. Bu kültür periyodunda kültür ortamında serbest-ABA miktarı $4.42 \mu\text{g} / \text{mL}$, bağlı-ABA miktarı $0.25 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-ABA miktarı $4.67 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, miselde bu değerler sırasıyla $0.10 \mu\text{g} / \text{mL}$, $0.06 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $0.16 \mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunmuştur. Kültür periyodunun 1., 3., 6. ve 9. günlerinde kültür ortamında serbest- ve toplam-ABA miktarlarının sürekli belirgin azalmalar gösterdiği oysa, miselde serbest- ve toplam-ABA miktarları giderek artma gösterdiği görülmektedir.

Primer metabolizma fazında kültür ortamındaki toplam-ABA + miseldeki toplam-ABA miktarı incelendiğinde (Tablo 3.9), kültür periyodunun 1. saatinde $4.83 \mu\text{g} / \text{mL}$ olan ABA miktarı 9. güne kadar belirgin bir şekilde azalma göstermiştir ($0.99 \mu\text{g} / \text{mL}$). Primer metabolizma boyunca kültür ortamındaki toplam-ABA + miseldeki toplam-ABA miktarının giderek azalma göstermesi ve KMA'nın bu kültür periyodu boyunca artmaya devam etmesi primer metabolizma fazı boyunca ABA sentezinin olmadığını ve bunun sonucu olarak da büyümenin engellenmediğini akla getirmektedir.

Tüm bu değerler, fungusun primer metabolizma fazı boyunca ABA sentezinin olmadığını ve mevcut ABA'nın metabolitlerine yıkıldığını göstermektedir.

Sekonder metabolizma fazında miselde (Tablo 3.9 ve Şekil 3.9) serbest- ve toplam-ABA miktarları primer metabolizma fazında olduğu gibi oldukça düşük düzeylerde olup, önemli değişiklikler göstermemektedir. Buna karşılık, kültür ortamında (Tablo 3.9 ve Şekil 3.4), serbest- ve

toplam-ABA miktarları 12. ve 15. günlerde belirgin bir artma göstermiştir ($P < 0.05$). 21. güne kadar her üç formdaki ABA miktarları giderek azalma göstermiş, 28. ve 35. günlerde yeniden az da olsa bir artma göstermiştir. Bağlı-ABA miktarlarında ise az da olsa artma ve azalmalar saptanmıştır. 42. günde hem serbest- ve hem de toplam-ABA miktarları belirgin bir azalma göstererek primer metabolizma düzeylerine inmiştir.

Sekonder metabolizma fazında kültür ortamındaki toplam - ABA + miseldeki toplam-ABA miktarı incelendiğinde (Tablo 3.9), 12. günde 9. güne göre yaklaşık 7 kat, 15. günde 12. güne göre yaklaşık 1.5 kat artarak sırasıyla $7.49 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $13.58 \mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye ulaşmıştır ($P < 0.05$). Oysa, 21. güne kadar giderek azalma ve 28. ve 35. günlerde ise bir artma göstermiştir. 42. günde ise yeniden azalma göstermiştir. Sekonder metabolizma fazı başlangıcı olan 12. ve 15. günlerde ABA miktarları belirgin bir şekilde artarken, KMA azalmaya başlamıştır. Bu kültür periyotlarında ABA miktarının artması ile birlikte KMA'nın giderek azalma göstermesi, ortamdaki besin maddelerinin azalması ile birlikte mevcut ABA'nın büyüme inhibisyonuna neden olabileceği fikrini vermektedir.

Tüm bu değerler, fungusun 18., 21. ve 42. gün hariç, sekonder metabolizma fazında ABA sentezlendiğini ve sentezlenen ABA'nın hemen hemen hepsinin serbest- ve bağlı- formlarda kültür ortamına verildiğini ifade etmektedir. Ayrıca, 18., 21. ve 42. günlerde ABA'nın metabolitlerine yıkıldığı ve yeni ABA sentezinin olmadığı düşünülmektedir.

Gerek primer metabolizma gerekse sekonder metabolizma fazlarındaki ABA miktarları dikkate alındığında, en fazla ABA sentezinin sekonder metabolizma fazına girilmesi ile birlikte olduğunu ve *P. chrysosporium* ME446 fungusunda sentezlenen ABA'nın sekonder metabolit olduğunu söyleyebiliriz.

ABA sentezinin primer metabolizma fazının sonunda belirgin bir şekilde başladığı ve arttığını gösteren bulgularımız,

Griffin ve Walton (1982) tarafından da desteklenmektedir. Bu araştışıcılar, yaptıkları bir çalışmada, çalkalamalı kültür ortamında üretilen **Cercospora rosicola** fungusunda 25. günde ABA miktarınının 27 mg / L olduğunu saptamışlardır. Oysa, Assante vd. (1977), **Cercospora rosicola**'da 30. günde 6 mg / 100 mL ABA sentezlendiğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, Kettner ve Dörffling (1987) adlı araştışıcılar da **Ceratocystis coerulescens** fungusunda maksimum ABA miktarını kültür ortamında 30. günde 3.5 ng / mL, miselde ise 50. günde 218 ng / g olarak saptamışlardır. Bir başka çalışmada, **Pleurotus florida** fungusunda çalkalamalı kültür ortamında maksimum ABA miktarı 24. günde 2.78 mg / L, statik kültür ortamında ise 1. günde 2.55 mg / L olarak saptanmıştır (nyayar 1990). Yeşilada vd. (1990) adlı araştışıcılar da 20 gün statik kültür ortamında üretilen **Polyporus versicolor** fungusunda 1.39 mg / L, **Pleurotus ostreatus**'da 1.28 mg / L maksimum ABA elde etmişlerdir.

Yüksek bitkilerde ABA eldesine ilişkin yapılan bazı çalışmalarda rneğin, Kobriger vd. (1984), **Pisum sativum L. cv. Alsweet** bitkisinde 62.90 ng / g, Castonguay vd. (1993), alfa alfa (yonca)'nın yaprak ve köklerinde, sırasıyla 0.8 μ g / g ve 1 μ g / g düzeyinde ABA olduğunu bildirmişlerdir..

Gerek alışmamızda kullandığımız **P. chryso sporium ME446** fungusunda gerekse ABA sentezlediği bildirilen funguslardaki ABA miktarları dikkate alındığında, funguslardan ABA eldesinin yüksek bitkilerdekine göre yüksek olduğunu söyleyebiliriz. Nitekim bu görüşümüz Assante vd. (1977) tarafından desteklenmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız **P.chryso sporium ME446**'da sentezlenen maksimum toplam-ABA değerleri ile karşılaştırıldığında; **P.chryso sporium ME446**'da toplam-ABA miktarı kültür ortamında 15.günde 13.16 μ g / mL, miselde ise 42. günde 1.47 μ g / mL olup, **Ceratocystis coerulescens** fungusu kültür ortamında elde edilen maksimum ABA miktarına göre yaklaşık 3760

kat, miselde elde edilen maksimum ABA miktarına göre ise yaklaşık 7 kat fazla olduğu görülmektedir. Oysa, *P. chryso-sporium* ME446'da kültür ortamından elde edilen maksimum toplam-ABA miktarlarına göre, *Cercospora rosicola* (Griffin ve Walton 1982) kültür ortamında 25. günde elde edilen maksimum ABA miktarı 2 kat, Assante vd.'nin (1977) aynı fungusla yaptıkları çalışmada ise 30. günde elde edilen maksimum ABA miktarı ise 4.5 kat daha yüksektir.

Kültür ortamında ve miselde kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları incelendiğinde (Tablo 3.10 ve Şekil 3.5 ve 3.10); fungus primer metabolizma fazının 1. saatinde misel ve kültür ortamında her üç formdaki zeatin miktarları dikkate alındığında kültür ortamındaki değerlerin miseldeki değerlerine göre çok belirgin bir şekilde yüksek düzeylerde olduğu görülmektedir. Bu kültür periyodunda kültür ortamında serbest-zeatin miktarı $9.09 \mu\text{g} / \text{mL}$, bağlı-zeatin miktarı $1.14 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve toplam-zeatin miktarı $10.23 \mu\text{g} / \text{mL}$ iken, miselde bu değerler sırasıyla $0.47 \mu\text{g} / \text{mL}$, $0.33 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $0.80 \mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunmuştur. Kültür periyodunun 1., 3., 6. ve 9. günlerinde hem misel ve hem de kültür ortamında her üç formdaki zeatin miktarları incelendiğinde, kültür periyoduna bağlı olarak kültür ortamındaki değerlerin artma ve azalmalar gösterdiği oysa, miseldeki bağlı- değerlerin artma ve azalma, serbest- ve toplam- değerlerin ise sürekli bir artma gösterdiği görülmektedir ($P < 0.05$).

Primer metabolizma fazında kültür ortamındaki toplam-zeatin + miseldeki toplam-zeatin miktarı incelendiğinde (Tablo 3.10), kültür periyodunun 1. saatinde $11.03 \mu\text{g} / \text{mL}$ olan zeatin miktarı 9. güne kadar artma ve azalmalar gösterdiği görülmektedir. Primer metabolizma fazının 1. saatinde kültür ortamındaki toplam-zeatin + miseldeki toplam-zeatin miktarının çok yüksek oluşu fungus büyüme eğrisine göre Lac. fazında mRNA, enzim, protein vb. büyüme ve gelişme ile ilgili

maddelerin sentezinin yanısıra (Berry 1988), mitoz bölünmeyi uyarıcı fizyolojik etkiye sahip bir bitki büyüme maddesi olarak zeatin'in de sentezlenebileceğini, bu nedenle primer metabolizma fazının 1. saatinde de olsa yüksek bulunabileceğini akla getirmektedir. Bu düşüncemiz, Phillips ve Torrey'in (1972) *Rhizobium* ile yaptıkları çalışma ile desteklenmektedir.

Kültür periyodununun 1. saatinden itibaren KMA'nın 12. güne kadar artmaya devam etmesine karşılık zeatin miktarının 9. güne kadar artma ve azalmalar göstermesi başlangıçta yüksek düzeyde sentezlenen zeatin'in hücre bölünmesini ve bunun bir sonucu olarak da fungus büyümesini stimüle ettiği, bu stimülasyonun 12. güne kadar devam ettiği fikrini vermektedir.

Tüm bu değerler, fungusun primer metabolizma fazının 1. saat, 3. ve 9. günlerinde zeatin sentezlendiğini ve sentezlenen zeatin'in 9. gün hariç önemli bir kısmının serbest- ve bağlı- formlarda kültür ortamına verildiğini, 9. günde sentezlenen zeatin'in büyük bir kısmının miselde kaldığını, diğer kültür periyotlarında ise sentezin gerçekleşmediğini aksine, mevcut zeatin'in metabolitlerine yıkıldığını akla getirmektedir.

Sekonder metabolizma fazında miselde (Tablo 3.10 ve Şekil 3.10), her üç formdaki zeatin miktarlarının primer metabolizma fazındaki değerlerinden daha düşük düzeylerde olduğu ve sekonder metabolizma fazı boyunca artma ve azalmalar gösterdiği görülmektedir. Oysa, kültür ortamında (Tablo 3.10 ve Şekil 3.5), sekonder metabolizma fazının başlangıcında (12. gün) serbest- ve toplam-zeatin miktarları belirgin bir artma gösterirken ($P < 0.05$), sekonder metabolizma fazı boyunca her üç formdaki zeatin miktarlarında az da olsa artma ve azalmalar gözlenmiştir. Sekonder metabolizma fazında kültür ortamındaki toplam-zeatin + miseldeki toplam-zeatin miktarı incelendiğinde (Tablo 3.10), 12. günde 9. güne göre

yaklaşık 1.5 kat artış göstererek tüm kültür periyotlarının en yüksek değeri olan 11.85 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'ye ulaşmıştır ($P < 0.05$), 42. güne kadar ise artma ve azalmalar meydana gelmiştir.

Tüm bu değerler, fungusun sekonder metabolizma fazının 12. ve 28. günlerinde zeatin sentezlendiği ya da hücrelerin otolizise uğramasının bir sonucu olarak ortama zeatin salındığı (Phillips and Torrey 1972) fikrini vermektedir. Sekonder metabolizma fazının diğer günlerinde ise zeatin'in metabolitlerine yıkıldığı ve yeni zeatin sentezinin olmadığına ifade etmektedir.

Verilerden de anlaşıldığı gibi, hem primer ve hem de sekonder metabolizma fazlarının başlangıç safhasında maksimum düzeyde zeatin sentezlendiği düşünülmektedir.

Johnston ve Trione (1974) yaptıkları bir çalışmada, *Taphrina deformans* ve *Taphrina cerasi* funguslarında üretilen kinetin eşdeğerli sitokin miktarlarını araştırmışlardır. *T. deformans*'ın 4 $\mu\text{g} / \text{L}$ ve *T. cerasi*'nin 2 $\mu\text{g} / \text{L}$ sitokin ürettiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, çalışmamızda, *P. chrysosporium* ME446'nın kültür ortamındaki toplam-zeatin + miseldeki toplam-zeatin miktarı 12. günde 11.85 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'dir. Görüldüğü gibi, *P. chrysosporium* ME446'da *T. deformans*'ın ve *T. cerasi*'nin kinetin eşdeğerli ürettiği sitokin miktarlarının sırasıyla yaklaşık 3000 ve 6000 katı daha fazla sitokin sentezlenmektedir.

Bakterilerle yapılan bir çalışmada da, *Rhizobium japonicum*'un kültür ortamında 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ kinetin eşdeğerli sitokin sentezlendiği belirtilmiştir (Phillips ve Torrey 1972).

Literatür bilgilerimize göre, bitki dokularında pmol /g (Nandi vd. 1989) ya da ng / g (Cutting 1991) düzeyinde sitokin sentezlenmektedir. Gerek çalışmamızda kullandığımız *P. chrysosporium* ME446 gerekse sitokin sentezlediği bildirilen fungus ve bakterilerden elde edilen sitokin değerleri yüksek bitkilerdeki değerleri ile karşılaştırıldığında, fun-

gus ve bakterilerde, yüksek bitkilerden daha fazla sitokin sentezlendiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, *P. chrysosporium* ME446 fungusunda bir metabolit olarak elde ettiğimiz IAA, GA₃, ABA ve zeatin'in biyolojik aktiviteleri de araştırılmıştır.

IAA'nın biyolojik aktivitesinin tayininde; kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- ve fungal-IAA uygulanarak yulaf koleoptil büyüme testi ile yulaf koleoptil boyları ölçülmüştür. Tablo 3.11 ve Şekil 3.11 'den görüldüğü gibi, kontrol grupları olan 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi ve 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol uygulama gruplarındaki koleoptil boylarına göre standart sentetik-IAA'nın tüm gruplarında koleoptil boyları önemli derecede daha uzun bulunmuştur ($P < 0.05$). Bununla birlikte, kontrol gruplarından 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki koleoptil boylarına göre fungal-IAA'nın tüm gruplarında koleoptil boylarının, 1/2 N Hoagland kültür çözeltisindeki koleoptil boylarına göre ise 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M gruplarında koleoptil boylarının önemli derecede daha uzun olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Bu da, hem standart sentetik- ve hem de fungal-IAA'nın yulaf koleoptillerinde büyümeyi stimüle ettiği başka bir deyişle biyolojik aktiviteye sahip oldukları fikrini vermektedir. Ayrıca, yapılan bu çalışmada standart sentetik-IAA ve fungal- IAA'nın aynı konsantrasyonlarında koleoptil boylarının birbirine oldukça yakın değerlerde olduğu ve koleoptil boyları arasındaki farklılığın önemsiz olduğu saptanmıştır. Bu da bize standart sentetik-IAA ile fungal IAA'nın aynı biyolojik aktiviteye sahip olduklarını ifade etmektedir. Maksimum koleoptil boyu, 10^{-5} M standart sentetik-IAA (5.22 mm) ve 10^{-5} M fungal-IAA (5.20 mm) uygulama gruplarında elde edilmiştir. Bu konudaki bulgularımız, Scott vd. (1974) tarafından desteklenmektedir. Bu araştırmacılar, *Aspergillus terreus* thom. kültürlerinden elde ettikleri IAA'nın biyolojik aktivitesini belirlemek için, yulaf kole-

optil büyüme testi yapmışlar ve en fazla aktivitenin 10^{-5} M IAA uygulama grubunda olduğunu saptamışlardır. Yine Tablo 3.11 ve Şekil 3.11 incelendiğinde, gerek standart sentetik- ve gerekse fungal-IAA konsantrasyonu azaldıkça koleoptil boyunun kısaldığı görülmektedir. Bu da bize, IAA konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak uzamayı teşvik edici etkilerinin başka bir deyişle biyolojik aktivitelerinin azaldığını ifade etmektedir. Çalışmamızda, en fazla aktivitenin 10^{-5} M fungal-IAA'da meydana geldiği saptanmıştır.

GA₃' ün biyolojik aktivitesinin tayininde, kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- ve fungal-GA₃ uygulanarak pirinç çimlendirme testi ile elde edilen **Tan-ginbozu** cüce pirinç varyetesi ikinci yaprak kın uzunlukları ölçülmüştür. Tablo 3.12 ve Şekil 3.12 incelendiğinde, kontrol gruplarına göre standart sentetik- ve fungal-GA₃' ün bütün konsantrasyonlarında ikinci yaprak kın uzunluklarının daha fazla olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Ayrıca, standart sentetik-GA₃ ve fungal-GA₃ 'ün tüm konsantrasyonlarındaki ikinci yaprak kın uzunlukları arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Gerek standart sentetik-GA₃ ve gerekse fungal-GA₃' de maksimum ikinci yaprak kın uzunluğu 10^{-4} M'da (sırasıyla 55.61 mm ve 24.88 mm) elde edilmiştir. Ayrıca, standart sentetik- ve fungal-GA₃ konsantrasyonları azaldıkça uygulama gruplarında ikinci yaprak kın uzunluklarının da giderek azaldığı saptanmıştır. Başka bir deyişle, konsantrasyon azalmasına bağlı olarak, hem standart sentetik- ve hem de fungal-GA₃' ün biyolojik aktivitelerinin azaldığı belirlenmiştir (Tablo 3.12 ve Şekil 3.12).

Cihangir ve Aksöz (1993), **Gibberella fujikuroi**'den elde ettikleri GA₃' ün 100 μ g'ını **Tan-ginbozu** cüce pirinç tohumlarına uyguladıklarında ikinci yaprak kın uzunluğunu 53 mm olarak bulmuşlardır. Oysa, çalışmamızda 100 μ g'a karşılık gelen 10^{-4} M fungal-GA₃ ile elde ettiğimiz ikinci yaprak kın uzunluğu 24.88 mm olup sonuçla uyum göstermemektedir. Çalış-

mamızda hem standart sentetik- hem de fungal-GA₃ konsantrasyonu arttıkça ikinci yaprak kın uzunlukları da artmaktadır. Hoad ve Kuo (1970) adlı araştırmacılar, **Tanginozu** cüce pirinç fidelerine değişik konsantrasyonlarda GA₃ uyguladıklarında GA₃ konsantrasyonu arttıkça ikinci yaprak kın uzunluklarının da arttığını göstermişlerdir. Bu da bizim bulgumuzu destekler niteliktedir. Ayrıca, bu konudaki bulgumuz, Hiller vd. (1979)'nın, Coalbaugh vd. (1982)'nin ve Juntilla (1993)'nin gibberellinlerle yaptıkları çalışmalarla da desteklenmektedir. Çalışmamız sonucunda, fungal-GA₃' ün kontrollere göre daha etkili olduğu, buna karşılık standart sentetik-GA₃' e göre ise daha az etkili olduğu saptanmıştır. Buna göre, **P. chrysosporium ME446**'dan elde edilen GA₃' ün bitki büyüme ve gelişmesinde kısmen etkili olabileceğini söyleyebiliriz.

ABA'nın biyolojik aktivitesinin tayininde; kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- ve fungal-ABA uygulanarak, yulaf koleoptil büyüme testi ile elde edilen yulaf koleoptil boyları ölçülmüştür. Tablo 3.13 ve Şekil 3.13'den görüldüğü gibi, kontrol gruplarındaki koleoptil boylarına göre standart sentetik-ABA'nın tüm gruplarında koleoptil boyları daha kısa bulunmuştur ($P < 0.05$). Bununla birlikte, kontrol gruplarından 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi grubundaki koleoptil boylarına göre fungal-ABA'nın tüm gruplarında koleoptil boylarının, 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki koleoptil boylarına göre ise 10^{-7} M ve 10^{-9} M gruplarında koleoptil boylarının önemli derecede daha kısa olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Bu da, standart sentetik- ve fungal-ABA'nın, yulaf koleoptillerinde büyümeyi inhibe ettiği fikrini vermektedir. Ayrıca, gerek standart sentetik- ve gerekse fungal- 10^{-6} M ABA'nın (sırasıyla 4.27 mm ve 4.30 mm) en fazla inhibisyona neden olduğu da saptanmıştır (Tablo 3.13 ve Şekil 3.13). Yine, aynı tablo ve şekil incelendiğinde, standart sentetik- ve fungal-

ABA'nın aynı konsantrasyonlarında koleoptil boylarının birbirine oldukça yakın olduğu ve koleoptil boyları arasındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir. ABA'nın koleoptil uzamasını inhibe ettiği bazı araştırmacılar (Addicott vd. 1964: Addicott ve Lyon 1969) tarafından da bildirilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız gerek standart sentetik- ve gerekse fungal-ABA'nın konsantrasyonlarına göre meydana getirdikleri inhibisyon oranları birbirine benzemektedir. Bu da bize, **P. chrysosporium ME446**'dan elde edilen ABA'nın biyolojik olarak aktif olduğunu ve bitki büyüme ve gelişmesinde kullanılabileceği fikrini vermektedir.

Zeatin'in biyolojik aktivitesinin tayininde; kontrol, değişik konsantrasyonlarda standart sentetik- ve fungal-zeatin uygulanarak klorofil miktar tayini testi ile elde edilen klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları saptanmıştır. Tablo 3.14 ve Şekil 3.14, 3.15 ve 3.16 incelendiğinde, standart sentetik- ve fungal-zeatin uygulama gruplarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarlarının kontrol gruplarına göre daha fazla olduğu görülecektir*. Ayrıca, standart sentetik- ve fungal-zeatin'in 10^{-7} M konsantrasyonunda klorofil a miktarı (sırasıyla 2.64 mg /L ve 2.16 mg / L) ve klorofil b miktarı (sırasıyla 1.38 mg / L ve 1.11 mg / L) ve toplam klorofil miktarı (sırasıyla 4.02 mg / L ve 3.27 mg / L) miktarı en az, 10^{-9} M konsantrasyonda ise en fazla bulunmuştur (klorofil a için sırasıyla 2.85 mg / L, 2.67 mg / L ve klorofil b için 1.61 mg / L, 1.41 mg / L, toplam klorofil için 4.46 mg/ L, 4.08 mg / L).

Dumbroff ve Walker (1979), yulaf yapraklarına değişik konsantrasyonlarda uyguladıkları zeatin'in yüksek konsantrasyonlarında senesensi (yaşlanma) geciktirici etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Bulgularımıza göre, kontrol grupları olan 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi ve 1/2 N Hoagland kültür çözeltilisi + metanol uygulama gruplarındaki klorofil a ve toplam klorofil miktarları ile standart sentetik-zeatin ve

fungus-zeatin'in tüm konsantrasyonlarındaki klorofil a ve toplam klorofil miktarları arasındaki fark önemli ($P < 0.05$), 1/2 N Hoagland kültür çözeltisindeki klorofil b miktarları ile standart sentetik-zeatin ve fungus-zeatin gruplarındaki klorofil b miktarları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte, 1/2 N Hoagland kültür çözeltisi + metanol grubundaki klorofil b miktarları ile standart sentetik-zeatin'in 10^{-6} M ve 10^{-9} M gruplarındaki ve fungus-zeatin'in 10^{-7} M grubundaki klorofil b miktarları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). Fungus-zeatin'in ve standart sentetik-zeatin'in aynı konsantrasyonlarının klorofil a, b ve toplam klorofil miktarları üzerine etkisi birbirine benzer bulunmuştur ve istatistik analizine göre gerek standart sentetik-zeatin ve gerekse fungus-zeatin'in aynı konsantrasyonlarındaki klorofil a, b ve toplam klorofil miktarları arasındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir. Bu veriler bize, kullandığımız fungusun sentezlediği zeatin'in biyolojik yönden aktif olduğu ve bitki büyüme ve gelişmesinde kullanılabileceği fikrini vermektedir.

Çalışmamız sonucunda elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, *P. chrysosporium* ME446 fungusunda primer ya da sekonder bir metabolit olarak IAA, GA_3 , ABA ve zeatin'in sentezlendiği, sentezlenen bu bitki büyüme maddelerinin ilk kez ortak bir ekstraksiyon metodu ile elde edilebileceği tarafımızdan gösterilmiştir. Bunlardan IAA, ABA ve zeatin'in tam, GA_3 'ün ise kısmen bir biyolojik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca, IAA maksimum absorpsiyon gösterdiği farklı iki dalga boyundan 280 nm'de 222 nm'ye göre daha yüksek değerlere sahiptir.

Çalışmamızda kullandığımız fungusun literatür bilgilerine göre IAA, GA_3 ve zeatin üretimi konusunda dünyada henüz çalışılmamış olması, IAA, GA_3 ve zeatin sentezlediği literatürde belirtilen fungusların çeşitliliğini arttırmaktadır.

Tüm bunlara ilaveten, *P. chrysosporium* ME446'da bu bitki

büyüme maddelerinin sentezlerinin arttırılması ve ortak ekstraksiyon metodunu dikkate alarak daha ekonomik eldeleri yönünde çalışmaların da yapılması gereğine inandığımızı söyleyebiliriz.



KAYNAKLAR

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

Aksöz, N., Cihangir, N., Aksöz, E., " Fungal Gibberellik Asit Eldesinde Biyodisk Reaktör Kullanım Olanaklarının Araştırılması ", Doğa Türk Biyoloji Dergisi, Cilt:18, Sayı:1, 1-7 (1994).

Allen, P.J., " Physiological Aspects of Fungus Diseases of Plants ", Ann. Rev. Plant Physiol., 5, 225-248 (1954).

Aloni, R., " The Role of Cytokinin in Organised Differentiation of Vascular Tissues ", Aust. J. Plant Physiol., 20, 601-608 (1993).

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

Applewhite, P.B., K-Sawhney, R. and Galston, A.W., " Isolation as an Auxin Source Favoring Floral and Vegetative Shoot Regeneration from Calli Produced by Thin Layer Explants of Tomato Pedicel ", Plant Growth Regulation, 15, 17-21 (1994).

Arigayo, S., Fujisawa, S., Sakurai, A., Kamiya, Y., Adisewoja, S.S. and Takahashi, N., " Fluctuation of Endogenous Levels of Free and Conjugated Gibberellins throughout Seed Maturation in *Leucaena leucocephala* (Lmk)

- De Wit, Plant and Cell Physiol., 25 (8), 1395-1402 (1984).
- Armstrong, D.J., Scarbrough, E., Skoog, F., Cole, D.L. and Leonard, N.J., " Cytokinins in **Corynebacterium fascians** Cultures ", Plant Physiol., 58, 749-752 (1976).
- Assante, G., Merlini, L. and Nassini, G., " (+)- Absciscic Acid, A Metabolite of The Fungus **Cercospora rosicola** ", Experientia, 33, 1556-1557 (1977).
- Bandurski, R.S. and Schulze, A., " Concentrations of Indole-3-acetic Acid and Its Esters in Avena and Zea ", Plant Physiol., 54, 257-262 (1974).
- Bandurski, R.S. and Schulze, A., " Concentration of Indole-3-acetic Acid and Its Derivatives in Plants ", Plant Physiol., 60, 211-213 (1977).
- Banerjee, S.N., " Changes in the Amounts of Gibberellin-Like and Cytokinin-Like Substances in Developing Seeds of **Ginkgo biloba** L. ", Bot. Mag. Tokyo, 81, 67-73 (1968).
- Bano, A., Hansen, H., Dörffling, K. and Hahn, H., " Changes in the Contents of Free and Conjugated Absciscic Acid, Phaseic Acid and Cytokinins in Xylem Sap of Drought Stressed Sunflower Plants ", Phytochemistry, 21, 2, 345-347 (1994).
- Bennett, R.D., Norman, S.M. and Maier, V.P., " Biosynthesis of Absciscic Acid from Farnesol Derivatives in **Cercospora rosicola** ", Phytochemistry, 9, 1913-1915 (1984).
- Bentley, R. and Bennett, J.W., Biosynthesis of Secondary Metabolites " Physiology of Industrial Fungi ", Berry, D.R. (Eds), ISBN 0-632-01632-8 (1988).

Berry, D.R., Products of Primary Metabolic Pathways
" Physiology of Industrial Fungi ", ISBN 0-632-01672-8
(1988).

Blakesley, D., Weston, G.D. and Elliott, M.C., " Endogeneous Levels of Indole-3-acetic Acid and Abscisic Acid During the Rooting of **Cotinus coggygria** Cuttings Taken at Different Times of the Year ", Plant Growth Regulation, 10, 1-12 (1991).

Bopp, M. and Bhatla, S.C., Hormonal Regulation of Development in Mosses:" Hormonal Regulation of Plant Growth and Development ", Purohit S.S. (Eds), ISBN 90-247-3435-5 (1987).

Bozcuk, S., " Domates (**Lycopersicum esculentum** Mill), Arpa (**Hordeum vulgare** L.) ve Pamuk (**Gossypium hirsutum** L.) Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmesinde Tuz-kinetin Etkileşimleri Üzerinde Araştırmalar ", Doçentlik tezi, H. Ü. Fen Fak., Ankara (1978).

Breviario, D., Giani, S., Vietri, P.D. and Coraggio, I., " Auxin and Growth Regulation of Rice Coleptile Segments ", Plant Physiol., 98, 488-495 (1992).

Buckley, N.G. and Pugh, G.J.F., " Auxin Production by Phylloplane Fungi ", Nature, 231-332 (1971).

Caruso, J.L., " The Auxin Conjugates ", Hort. Science, 22, 1201-1207 (1987).

Castonguay, Y., Nadeau, P. and Simard, R.R., " Effects of Flooding on Carbohydrate and ABA Levels in Roots and Shoots of Alfalfa ", Plant, Cell and Environment, 16, 695-702 (1993).

Cihangir, N., " **Aspergillus niger**'den Gibberellik Asit Üretimi ", Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (1992).

Cihangir, N. ve Aksöz, N., " **Aspergillus niger**'den Gibberellik Asit Eldesi ve Uygun Fizyolojik Koşulların Saptanması ", Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 17, 2, 63-74 (1993).

Cihangir, N., Aksöz, N., " **Aspergillus niger** Kültür Ortamından Elde Edilen Gibberellik Asit'in Biyoaktifliğinin Saptanması ", Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 17, 4, 303-309 (1993).

Coolbaugh, R.C., Heil, D.R. and West C.A., " Comparative Effects of Substituted Pyrimidines on Growth and Gibberellin Biosynthesis in **Gibberella fujikuroi** ", Plant Physiol., 69, 712-716 (1982).

Cornish, K. and Zeevaart, J.A.D., " Abscisic Acid Metabolism in Relation to Water Stress and Leaf Age in **Xanthium strumarium** ", Plant Physiol., 76, 1029-1035 (1984).

Cross, B.E. and Myers, P.L., " The Effect of Plant Growth Retardants on the Biosynthesis of Diterpenes By **Gibberella fujikuroi** ", Phytochemistry, 8, 79-83 (1969).

Cutting, J.G.M., " Determination of the Cytokinin Complement in Healthy and Witchesbroom Malformed Proteas", J. Plant Growth Regul., 10, 85-89. (1991).

David Ho, T.H., " Hormone and Stress-Regulated Gene Expression in Cereal Plants ", Bot. Bull. Acad. Sin., 34, 103-113 (1993).

Davies, P.J., " Current Theories on the Mode of Action of Auxin ", The Botanical Review, 39, 2, 139-171 (1973).

Dendsay, J.P.S., " Activation of Peroxidase by Auxin in Cotyledons of **Vigna radiata L.** ", Indian Journal of Experimental Biology, 27, 360-362 (1989).

Doumas, P., Imbault, N., Moritz, T. and Oden, P.C., " Detection and Identification of Gibberellins in Douglas Fir (**Pseudotsuga menziesii**) Shoots ", Physiologia Plantarum, 85, 489-494 (1992).

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., Izmir, 1971, Verlag Chemie, Weinheim, 281-295 (1972).

Dörffling, K., Petterson, W., Sprceher, E., Urbasch, I. and Hanssen, H.P., " Abscisic Acid in Phytopathogenic Fungi of the Genera Botrytis, Ceratocystis, Fusarium and Rhizoctonia ", Naturfosch, 39, 683-684 (1984).

Dumbroff, E.B. and Walker, M.A., " The Oat-leaf Senescence Test for Cytokinins Reconsidered ", Ann. Bot., 44, 767-769 (1979).

Dunberg, A., " Gibberellin-like Substances from Norway Spruce (**Picea abies**) ", Physiol. Plant., 28, 358-360 (1973).

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

Elwy, E.E.A., " Effect of Plant Growth Regulators on Growth and Reproduction in the Fungus **Dipodascopsis uninucleata** ", Can. J. Bot., 67, 2425-2428 (1989).

Engvild, K.C., The Chloroindole Auxins of Pea and Related Species: " Hormonal Regulation of Plant Growth and Development ", Prohit (Eds), ISBN 90-247-3435-5 (1987).

Epstein, E., Chen, K.H. and Cohen, J., " Identification of Indole-3-Butyric Acid as an Endogenous Constituent of Maize Kernels and Leaves ", Plant Growth Regul., 8, 215-223 (1989).

Epstein, E., Nissen, S.J. and Sutter, E.G., " Indole-3-Acetic Acid and Indole-3-Butyric Acid in Tissues of Carrot Inoculated with **Agrobacterium rhizogenes** ", J. Plant Growth Regul., 10, 97-100 (1991).

Fett, W.F., Osman, S.F. and Dunn, M.F., " Auxin Production by Plant-Pathogenic Pseudomonads and Xanthomonads ", Applied and Environmental Microbiology, 53, 8, 1839-1845 (1987).

Fletcher, R.A. and Zalík, S., " Quantitative Spectrophotometric Determination of IAA ", Nature, 199, 903-904 (1963).

Friedlander, M., Atsmon, D. and Galun, E., " Sexual Differentiation in Cucumber: Abscisic Acid and Gibberellic Acid Contents of Various Sex Genotypes ", Plant and Cell Physiol., 18, 681-691 (1977).

Gonzalez-Lopez, Salmeron, V., Martinez-Toledo, M.V., Ballesteros, F. and Ramos-Cormenzana, F., " Production of Auxins, Gibberellins and Cytokinins by **Azotobacter vinelandii ATCC12837** in Chemically-Defined Media and Dialysed Soil Media ", Soil Biol. Biochem., 18, 1, 119-120 (1986).

Griffin, D.H. and Walton, D.C., " Regulation of Absciscic Acid Formation in **Mycosphaerella (Cercospora) rosicola** by Phosphate ", *Mycologia*, 74, 4, 614-618 (1982).

Gruen, H.E., " Auxins and Fungi ", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 10, 405-440 (1959).

Guinazu, M., Abdala, G. and Tizio, R., " Effect of Free and Conjugated Gibberellins on Roots of Potato Cuttings Treated with CCC ((2-chloroethyl) trimethylammonium chloride) in Relation to Tuber Formation ", *J. Plant Physiol.* 132, 725-730 (1988).

Guinn, G. and Brummett, D.L., " Changes in Free and Conjugated Indole-3-Acetic Acid and Absciscic Acid in Young Cotton Fruits and Their Abscission Zones in Relation to Fruit Retention During and after Moisture Stress ", *Plant Physiol.*, 86, 0028-0031 (1988).

Güneş, T., " Bazı Rosa Türleri (**R. hemisphaerica J. Herrm**, **R. heckeliana Tratt. Subsp. Orientalis**, **R. canina L.**)'nin Sürgün Çeliklerinde Köklenme Davranışlarının Fizyolojik ve Anatomik İncelenmesi ", Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi (1988).

Hanson, J.R. and Willis, C.L., " The Effect of Some Ent-Kauren Alcohols on Gibberellic Acid Biosynthesis in **Gibberella fujikuroi** ", *Phytochemistry*, 31, 8, 2709-2712 (1992)

Harada, H. and Lang, A., " Effect of Some (2-Chloroethyl) trimethylammonium Chloride Analogs and Other Growth Reterdants on Gibberellin Biosynthesis in **Fusarium moniliforme** ", *Plant Physiol.*, 40, 176-183 (1965).

Harrison, M.A. and Walton, D.C., " Abscisic Acid metabolism in Water-stressed Bean Leaves ", *Plant Physiol.*, 56, 250-254 (1975).

Hasson, E. and Poljakoff-Mayber, A., " Changes in Osmolarity and Solute Content of Pea Plants Exposed to Salinity and Abscisic Acid ", *Aust. J. Plant Physiol.*, 10, 573-583 (1983).

Hayashi, F., Boerner, D.R., Peterson, C.E. and Sell, H.M., " The Relative Content of Gibberellin in Seedlings of Gynoecious and Monoecious Cucumber (*Cucumis sativus*), *Phytochemistry*, 10, 57-62 (1971).

Hiller, L.K., Kelly, W.C. and Powell, L.E., " Temperature Interactions with Growth Regulators and Endogenous Gibberellin-like Activity During Seedstalk Elongation in Carrots ", *Plant Physiol.*, 63, 1055-1061 (1979).

Hoad, G.V. and Kuo, C.C., " Activity of Gibberellin A₁₇ in 13 Bioassay Systems ", *Can. J. of Botany*, 48, 1423-1429 (1970).

Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., " The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil ", *Circ. Calif. Agr. Exp. Sta.*, 347-461 (1938).

Holbrook, A.A., Edge, W.J.W. and Bailey, F., " Spectrophotometric Method for Determination of Gibberellic Acid in Gibberellin A.C.S. ", *Washington D.C.*, 159-167 (1961).

Hopson, J.L. and Wessell, N.K., " *Essentials of Biology* ", ISBN 0-07-100738-5 (1990).

Horgan, R., Neill, S.L., Walton, D.C. and Griffin, D., " Biosynthesis of Absciscic Acid ", Biochem. Soc. Trans., 11, 553-557 (1983).

Huber, W. and Sankhla, N., " Effect of Absciscic Acid on Betaine Accumulation in *Pennisetum typhoides* Seedlings ", Z. Pflanzen. Physiol., 97, 179-182 (1980).

Hutton, M.J., Staden, J.V. and Davey, J.E., " Cytokinins in Germinating Seeds of *Phaseolus vulgaris* L. I. Changes in Endogenous Levels Within The Cotyledons ", Ann. Bot., 49, 685-691 (1982).

Inoue, M., Maeda, E., Yoshida, R. and Oritani, T., " On the Occurrence of a High Content of Cytokinins in Rice Callus Tissues ", Plant and Physiol., 20, 5, 917-924 (1979).

Izumi, K., Nakagawa, S., Kobayashi, M., Oshio, H., Sakurai, A. and Takahashi, N., " Levels of IAA, Cytokinin, ABA and Ethylene in Rice Plants as Affected by a Gibberellin Biosynthesis Inhibitor, Uniconazole-P. ", Plant Cell Physiol. 29, 1, 97-104 (1988).

Jacobsen, J.V. and Higgins, T.J.V., " Characterization of the α -Amylases Synthesized by Aleurone Layers of Himalaya Barley in Response to Gibberellic Acid ", Plant Physiol., 70, 1647-1653 (1982).

Jhon, P.C.L., Zhang, K., Dong, C., Diederich, L. and Wightman, F., " p34^{cdc2} Related Proteins in Control of Cell Cycle Progression, The Switch Between Division and Differentiation in Tissue Development, and Stimulation of Division by Auxin and Cytokinin ", Aust. J. Plant Physiol., 20, 503-526 (1993).

Johnston, J.C. and Trione, E.J., " Cytokinin Production by the Fungi **Taphrina cerasi** and **T. deformans** ", Can. J. Botany, 52, 1583-1588 (1974).

Junttila, O., " Interaction of Growth Retardants, Daylength and Gibberellins A_{19} , A_{20} and A_1 on Shoot Elongation in Birch and Alder ", J. Plant Growth Regul., 12, 123-127 (1993).

Kaşka, N., " Zerdali ve Kütahya Vişnesi Çekirdeklerinde Absisik Asit Miktarları ve Katlanma İşlemi Süresince Bu Miktarlarda Ortaya Çıkan Değişiklikler Üzerine Araştırmalar", A.Ü. Ziraat Fak. Yay., 431, 104 (1970).

Kawaguchi, M., Fujioka, S., Sakurai, A., Yamaki, Y.T. and Syono, K., " Presence of a Pathway for the Biosynthesis of Auxin via Indole-3-Acetamide in Trifoliata Orange ", Plant Cell Physiol., 34, 1, 121-128 (1993).

Kefeli, V.I., " Natural Plant Growth Inhibitors and Phytohormones ", Dr.W. Junk b.v. Publishers, the Hague / Boston, 7-263 (1978).

Kettner, J. and Dörffling, K., " Abscisic Acid Metabolism in **Ceratocystis coerulescens** ", Physiol. Plantarum, 69, 278-282 (1987).

Khryanin, V.N., Hormonal Regulation of Sex Expression in Plants: " Hormonal Regulation of Plant Growth and Development", Purohit, S.S. (Eds), ISBN 90-247-3435-5 (1987).

Knox, J.P. and Wareing, P.F., " Apical Dominance in **Phaseolus vulgaris** L.: The Possible Roles of Abscisic and Indole-3-Acetic Acid ", J. of Experimental Botany, 35, 239-244 (1984).

Kobriger, J.M., Tibbitts, T.W. and Brenner, M.L., " Injury, Stomatal Conductance, and Abscisic Acid Levels of Pea Plants Ozone Plus Sulfur Dioxide Exposure at Different Times of the Day ", Plant Physiol., 76, 823-826 (1984).

Koshimizu, K., Kusaki, T. and Mitsui, T., " Isolation of a Cytokinin, (-)-Dihydrozeatin, From Immature Seeds of **Lupinus luteus** ", Tetrahedron Letters, 14, 1317-1320 (1967).

Kudoyarova, G.R., Cheredova, E.P., Gyuli-zade, V.Z., Mustafina, A.R. and Krut'kov, V.M., " Effect of Glyphosate on Content of Free and Bound Auxins in Corn Seedlings ", Soviet Plant Physiol., 35, 5, 1, 680-683 (1989).

Kumar, P.K.R. and Lonsane, B.K., " Immobilized Growing Cells of **Gibberella fujikuroi P-3** for Production of gibberellic Acid and Pigment in Batch and Semi-continuous Cultures ", Appl. Microbiol. Biotechnol., 28, 537-542 (1988).

Kutsal, A. ve Muluk, Z.F., " Uygulamalı Temel İstatistik ", H.Ü. Yayınları, A₂ , Ankara (1975).

Leo, P.D. and Sacher, J.A., " Control of Ribonuclease and Acid Phosphatase by Auxin and Abscisic Acid During Senescence of Rhoeo Leaf Sections ", Plant Physiol., 46, 806-811 (1970).

Leuba, V. ve Letourneau, D., " Auxin Activity of Phenylacetic acid in tissue culture " Journal of Plant growth regulation, 9, 71-76 (1990).

Lin, L.S. and Ho, T.H.D., " Mode of Action of Abscisic Acid in Barley Aleurone Layers: Induction of New Proteins by Abscisic Acid ", Plant Physiol., 82, 289-297 (1986).

Loescher, W. and Nevins, D.J., " Auxin-induced Changes in Avena Coleoptile Cell Wall Composition ", Plant Physiol., 50, 556-563 (1972).

Louis, J., Augur, C. and Teller, G., " Cytokinins and Differentiation Processes in *Mercurialis annua* ", Plant Physiol., 94, 1535-1541 (1990).

Loveys, B.R., " The Intracellular Location of Abscisic Acid in Stressed and Non-stressed Leaf Tissue: Physiol. Plant., 40, 6-10 (1977).

MaaB, H. and Klambt, D., " Cytokinin Effect on Protein Synthesis in vivo in Higher Plants ", 133, 117-120 (1977).

Mace, M.E., " Isolation and Identification of 3-Indoleacetic Acid from *Fusarium oxysporum* f. *cubense* ", 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).

Marumo, S., Katayama, M., Komori, E., Ozaki, Y., Natsume, M. and Konda, S., " Microbial Production of Abscisic Acid by *Botrytis cinerea* ", Agric. Biol. Chem., 46, 1967-1968 (1982).

Matsubara, S., " Structure-Activity Relationships of Cytokinins ", Plant Sciences, 9, 17-57 (1990).

Mert, H.H., " Tuzlu Koşullarda Pamuk Kültürleri Tohumlarının İçsel ABA Seviyelerinin Araştırılması ", Doğa Türk Botanik

Dergisi, 17, 4, 201-205 (1993).

Milborrow, B.V., " Identification of (+)-Abscisin II ((+) Dormin) in Plants and Measurement of Its Concentration ", *Planta (Berl.)*, 76, 93-113 (1967).

Milborrow, B.V., " The Metabolism of Absciscic Acid ", *J. Exp. Bot.*, 21, 17-29 (1970).

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

Minamisawa, K. and Fukai, K., " Production of Indole-3-Acetic Acid by *Bradyrhizobium japonicum*: A Correlation with Genotype Grouping and Rhizobitoxine Production ", *Plant Cell Physiol.*, 32, 1, 1-9 (1991).

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

Mondal, H. and Biswas, B.B., " Absciscic Acid as an Inhibitor of RNA Synthesis by RNA Polymerase in vitro ", *Plant and Cell Physiol.*, 13, 965-970 (1972).

Mounla, M.A.KH., " Gibberellin-like Substances in Parts of Developing Barley Grain ", *Physiol. Plant.*, 44, 268-272 (1978).

Murakami, Y., " The Microdrop Method, a New Rice Seedling Test for Gibberellins and Its Use for Testing Extracts of Rice and Morning Glory ", *Bot. Mag.*, 81, 33-43 (1968).

Nakayama, I., Miyazawa, T., Kobayashi, M., Kamiya, Y., Abe, H. and Sakurai, A., " Effects of a New Plant Growth Regulator Prohexadione Calcium (BX-112) on Shoot Elongation Caused by Exogenously Applied Gibberellins in Rice (*Oryza sativa* L.) Seedlings ", *Plant Cell Physiol.*, 31, 2, 195-200 (1990).

Nandi, S.K., Palni, L.M.S., Letham, D.S. and Wong, O.C., " Identification of Cytokinins in Primary Crown Gall Tumours of Tomato ", *Plant Cell and Environment.*, 12, 273-283 (1989).

Nishijima, T. and Katsura, N., " A Modified Micro-drop Bioassay Using Dwarf Rice for Detection of Femtomol Quantities of Gibberellin ", *Plant Cell Physiol.*, 30, 5, 623-627 (1989).

Nishinari, N. and Yamaki, T., " Relationship Between Cell Division and Endogenous Auxin in Synchronously-Cultured Tobacco Cells ", *Bot. Mag. Tokyo*, 89, 73-81 (1976).

Nitsch, J.P. and Nitsch, C., " Studies on the Growth of Coleoptile and First Internode Sections. A New Sensitive Straight Growth Test for Auxins ", *Plant Physiol.*, 31, 94-111 (1956).

Norman, S.M., Poling, M.S., Maier, V.P. and Orme, E.D., " Inhibition of Abscisic Acid Biosynthesis in *Cercospora rosicola* by Inhibitors of Gibberellin Biosynthesis and Plant Growth Retardants ", *Plant Physiol.*, 71, 15-18 (1983).

Norman, S.M., Poling, M.S., Maier, V.P. and Pond, D.L., " Abscisic Acid Biosynthesis in *Cercospora rosicola*: Sensitivity to Inhibitors of Sterol Biosynthesis ", *Agric. Biol. Chem.*, 52, 5, 1309-1310 (1988).

Oetiker, J., Gebhardt, C. and King, P.J., " A Temperature-Sensitive Auxin Auxotroph Not Deficient in Indole-3-Acetic Acid ", *Planta*, 180, 220-228 (1990).

Oritan, T. and Yamashita, K., " Biosynthesis of (+)-Abscisic Acid in *Cercospora cruenta* ", *Agric. Biol. Chem.*, 49, 243-249 (1985).

Osborne, D.J. and McCalla, D.R., " Rapid Bioassay for Kinetin and Kinins Using Senescing Leaf Tissue ", *Plant Physiol.*, 36, 1, 219-221 (1961).

Overbeek, J.V., " Auxins ", *The Botanical Review*, 25, 2, 269-349 (1959).

Önder, N., " Bitki Fizyolojisi ", *Istanbul Üniv. Fen Fak. Basımevi, Istanbul* (1985).

Özmen, N., " *Phanerochaete chrysosporium* ME446 Tarafından Üretilen Absisik Asit, Sentetik Absisik Asit ve Metil Esterlerinin Biyolojik Aktivitelerinin Karşılaştırılması ", *Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (1991).

Palavan-Ünsal, N., " Bitki Büyüme Maddeleri ", *İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul*, 1993.

Parry, A.D. and Horgan, R., " Carotenoids and ABA Biosynthesis ", *J. of Experimental Botany*, 42, 238, 8 (1991).

Pegg, G.F., " Gibberellin-like Substances in the Sporophores of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach ", *J. of Experimental Botany*, 24, 81, 675-688 (1973).

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 Review on The principles of Promotion and Inhibition of Growth in Plants ", Kaldawey, H. and Vardar, Y. (Eds), Hormonal Regulation in Plant Growth and Development, Proc. Adv. Study Inst., Izmir, 1971, Verlag Chemie, Weinheim, 1-17 (1972).

Phillips, I.D.J. and Torrey, J.G., " Studies on Cytokinin Production by **Rhizobium** ", Plant Physiol., 49, 11-15(1972).

Pilate, G., Sossountzov, L. and Miginiac, E., " Hormone Levels and Apical Dominance in the Aquatic Fern **Marsiilea drummondii** A. Br. ", Plant Phisiol. 90, 907-912 (1989).

Pilet, P.E., " ABA Effects on Growth in Relation to Auxin, RNA and Ultrastructure: Kaldewey, H. and Vardar, Y. (Eds), Hormonal Regulation in Plant Growth and Development, Proc. Adv. Study Inst., Izmir, 1971, Verlag Chemie, Weinheim, 297-315 (1972).

Porter, N.G., " The Role of Abscisic Acid in Flower Abscission of **Lupinus luteus** ", Physiol. Plant., 40, 50-54 (1977).

Potter, T.I., Zanewich, K.P. and Rood, S.B., " Gibberellin Physiology of Safflower: Endogenous Gibberellins and Response to Gibberellic Acid ", Plant Growth Regulation, 12, 133-140

(1993).

Powell, L.E. and Seeley, S.D., " The Metabolism of Abscisic Acid to a Water Soluble Complex in Apple ", J. Am. Soc. Hort. Sci., 99, 439-441 (1974).

Prakash, L. and 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).

Prohit, S.S., " Hormonal Regulation of Plant Growth and Development ", ISBN 90-247-3435-5 (1987).

Rachiev, R. CH., Pavlova-Rouseva, R., Bojkova, S.V. and Gancheva, U.K., " Isolation of Gibberellic acid Produced by *Fusarium moniliforme* ", J. of Natural Products, 56, 7, 1168-1170 (1993).

Rademacher, W., " Occurrence of Gibberellins in Different Species of the Fungal Genera *Sphaceloma* and *Elsinoe* ", Phytochemistry, 12, 4155-4157 (1992).

Ratledge, C., " Secondary Products and Fungal Biochemistry ", Extended Summaries-Biotechnology Group Meeting, 219-222 (1992).

Roberts, A.J. and Hooley, R., " Plant Growth Regulators" ISBN 0-412-01661-3 (1988).

Rood, S.B., Mandel, R. and Pharis, R.P., " Endogenous Gibberellins and Shoot Growth and Development in *Brassica napus* ", Plant Physiol., 89, 269-273 (1989).

Sabater, F., Acosta, M., Sanchez-Bravo, J., Cuello, J. and Rio, J.A., " Indole-3-Methanol as an Intermediate in the Oxidation of Indole-3-Acetic Acid by Peroxidase ", *Physiol. Plant.*, 57, 75-78 (1983).

Salisbury, F.B. and Ross, C.W., " *Plant Physiology* ", Wardsworth Publishing Company, Belmont, California 94002, (1992).

Saucedo, J.E.N.S., Barbotin, J.N. and Thomas, D., " Continuous Production of Gibberellic Acid in a Fixed-bed Reactor by Immobilized Mycelia of *Gibberella fujikuroi* in Calcium Alginate Beads ", *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30, 226-233 (1989).

Scott, T., Ünsal, U., Ekmekçi, S. ve Dizbay, M., " Üç Farklı Ortamda Yetiştirilen *Aspergillus terreus thom.* Kültürlerinde Auxin (IAA) Muhtevası Üzerinde Araştırmalar ", *Ege Üniv., Fen Fakültesi İlmî Raporlar Serisi*, 182, 1-6 (1974).

Semiz, B.D., " Kök Yapısı ve Kök Hormonlarının Bitki Büyümesindeki Rolü ", *Doğa Bilim Dergisi*, A, 7, 3, 557-571 (1983).

Sequeira, L. and Williams, P.H., " Synthesis of Indoleacetic Acid by *Pseudomonas solanacearum* ", *Phytopathology*, 54, 1240-1246 (1964).

Setter, T.L., Brenner, M.L., Brun, W.A. and Krick, T.P., " Identification of a Dihydrophaseic Acid Aldopyranoside from Soybean Tissue ", *Plant Physiol.*, 68, 93-95 (1981).

Shukla, A. and Sawhney, V.K., " Cytokinins in a Genic Male Sterile Line of *Brassica napus* ", *Physiol. Plant.*, 85, 23-29 (1992).

Staden, J.V. and Dimalla, G.G., " Endogenous Cytokinins and the Breaking of Dormancy and Apical Dominance in Potato Tubers ", J. of Exper. Botany, 29, 112, 1077-1084 (1978).

Staden, J.V. and Brown, N.A.C., " Investigations into the Possibility that Potato Buds Synthesize Cytokinins ", J. of Exper. Botany, 30, 116, 391-397 (1979).

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 Incorporate (8-¹⁴ C) Adenine into Cytokinins ", Pysiological and Molecular Plant Pathology, 35, 423-431 (1989).

Sturtevant, D.B. and Taller, B.J., " Cytokinin Production by **Bradyrhizobium japonicum** ", Plant Physiol., 89, 1247-1252 (1989).

Szweykowska, A.M., Hormonal Control of Protein Synthesis in Plant: " Hormonal Regulation of Plant Growth and Development ", Purohit, S.S. (Eds), ISBN 90-247-3435-5 (1987).

Takahashi, N.B.O., Phinney and Macmillan, J. (Eds), " Gibberellins", Springer-Verlag, Berlin (1990).

Tamas, I.A. and Engels, C.J., " Role of Indoleacetic Acid and Abscisic Acid in the Correlative Control by Fruits of Axillary Bud Development and Leaf Senescens ", Plant Physiol., 68, 476-481 (1981).

Tang, Y.W. and Bonner, J., " The Enzymatic Inactivation of Indole Acetic Acid. II. The Physiology of The Enzyme ", Am. J. of Botany, 33, 570-578 (1948).

Thimann, K.V., Koefli, J.B., " Identity of The Growth-Promoting and Root-Forming Substances of Plants ", Nature, 135, 101-102 (1935).

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

Tillberg, E., " Levels of Endogenous Indole-3-Acetic Acid in Achenes of *Rosa rugosa* During Dormancy Release and Germination ", Plant Physiol., 76, 84-87 (1984).

Topcuoğlu, Ş. F., " Tuz Stresi Koşullarında Büyütülen Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkisinde Yaşa bağlı Olarak Absisik Asit (ABA) Seviyelerinin Değişimi ", Doktora Tezi, Hacettepe Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara (1987).

Tsao, T.H., Zhong, H.W., Jiao, S.P. and Tan, Z.Y., " Changes in Endogenous ABA and GA Contents During Floral Induction of *Lemna aequinoctialis* ", Acta Bot. Neerl., 35, 4, 443-448 (1986).

Tucker, D.J., " Effects of Far-red Light on the Hormonal Control of Side Shoot Growth in the Tomato ", Ann. Bot., 40, 1033-1042 (1976).

Tuomi, T., Ilvesoksa, J., Laakso, S. and Rosenqvist, H., " Interaction of Abscisic Acid and Indole-3-Acetic Acid Producing Fungi with *Salix* Leaves ", J. Plant Growth Regul., 12, 149-156 (1993).

Tuomi, T., Laakso, S. and Rosenqvist, H., " Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production by a Biofungicide *Streptomyces griseoviridis* Strain ", Ann. Bot. Fennici, 31, 59-63 (1994).

Uknes, S.J. and Ho, T.H.D., " Mode of Action of Absciscic Acid in Barley **Hordeum vulgare** Aleurone Layers Absciscic Acid Induces Its Own Conversion to Phaseic Acid ", Plant Physiol. (Bethesda), 75, 4, 1126-1132 (1984).

Ünyayar, A. ve Kolankaya, N., " Kağıt Hamuru Eldesi İçin Biyoteknolojik Yaklaşım ", Türk Doğa Biyoloji Dergisi, 14, 1, 51-58 (1990).

Ünyayar, A., Topcuoğlu, Ş.F., Yeşilada, Ö., Ünyayar, S., Fıskın, K. ve Bozcuk, S., " Çalkalamalı ve Statik İnkübasyon Ortamlarında Üretilen **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da Absisik Asit (ABA) Üretimi ve Enzim Sentezi ", X.Ulusal Biyoloji Kongresi, Erzurum(1990).

Ünyayar, S., " Bazı Funguslarda (**Phanerochaete chrysosporium ME446** ve **Pleurotus florida**) Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Absisik Asit Üretimi ve Büyüme ile İlişkisi ", Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya (1990).

Ünyayar, S. ve Bozcuk, S., " **Phanerochaete chrysosporium ME446** Fungusunda Kültür Periyodu ve Üretim Koşullarına Bağlı Olarak Absisik Asit Üretimi ve Büyüme ile İlişkisi ", Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 16, 75-83 (1992).

Vreman, H.J. ve Skoog, F., Frihart, C.R. and Leonard, N.J., " Cytokinins in **Pisum** Transfer Ribonucleic Acid ", Plant Physiol., 49, 848-851 (1972).

Walbot, V., Clutter, M. and Sussex, I., " Effects of Absciscic Acid on Growth, RNA Metabolism, and Respiration in Germinating Bean Axes ", Plant Physiol., 56, 570-574 (1975).

Walton, D.C., Dashek, W. and Galson, E., " A Radioimmunoassay for Absciscic Acid ", *Planta*, 146, 139-145 (1979).

Walton, D.C., " Biochemistry and Physiology of Absciscic 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).

Weiler, E.W., " Radioimmunoassay for the Differential and Direct Analysis of Free and Conjugated Absciscic 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).

Went, F.W., " On Growth Accelerating Substances in the Coleoptile of *Avena sativa* ", *Proc. K. Akad. Wet. Amsterdam*, 30, 10-19 (1926).

White, J.C. and Mansfield, T.A., " Correlative Inhibition of Lateral Bud Growth in *Pisum sativum* and *Phaseolus vulgaris* L. Studies of the Role of Absciscic Acid ", *Ann. Bot.*, 41, 1163-1170 (1977).

Wilson, J.W., Walker, E.S., Wilson, P.M.W. and Hall, P.J., " Morphogenetic, Inductive and Inhibitory Effects of IAA Conjugates on Abscission in Stem Explants of *Impatiens sultani* ", *Ann. of Botany*, 60, 687-691 (1987).

Wright, S.T.C., " An Increase in the " Inhibitor β " Content of Detached Wheat Leaves Following a Period of Wilting ", *Planta*, 86, 10-20 (1969).

Yamamoto, K.T., Mori, H. and Imaseki, H., " Novel mRNA Sequences Induced by Indole-3-Acetic Acid in Sections of Elongating Hypocotyls of Mung Bean (*Vigna radiata*) ", *Plant Cell Physiol.*, 33, 1, 13-20 (1992).

Yeşilada, Ö., Topcuoğlu, Ş.F., Ünyayar, A., Ünyayar, S., Fıskın, K. ve Bozcuk, S., " Şlempe (Vinnase) İçeren İnkübasyon Ortamında Bazı Beyaz-Çürükçül Funguslarda Absisik Asit Üretimi ", X. Ulusal Biyoloji Kongresi, Erzurum (1990).

Young, H. and Letham, D.S., " 6- (Substituted Amino) Purines: Synthesis by a New Method and Cytokinin Activity ", *Phytochemistry*, 8, 1199-1203 (1969).

Yürekli, A.K., " Tepe Tomurcuğunun Dekapitasyonundan Sonra Geçen Süreye Bağlı Olarak *Pisum*'un İlk İnternodyumundaki İçsel Hormon Değişimlerine İlişkin Bir Araştırma ", E.Ü. Fen Fak. Dergisi, B, IV, 1, 2, 3, 4, 191-201 (1980).

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

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

ÖZGEÇMİŞ

3.3.1965 tarihinde Bolvadin'de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Bilecik'te tamamladı. 1983-84 öğretim yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 1987 yılında mezun oldu. Aynı yıl Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans başladı. Şubat 1988'de İnönü Üniversitesinde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Bu nedenle Yüksek Lisans programını İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne transfer ettirdi. 1990 yılında "Bazı Funguslarda (*Phanerochaete chrysosporium* ME446 ve *Pleurotus florida*) Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Absisik Asit Üretimi Ve Büyüme İle İlişkisi" adlı Yüksek Lisans Tezi ile Biyoloji de Bilim Uzmanlığı ünvanını aldı. 1990 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde doktora programına başladı. 1994 yılından beri Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Yayınlanan eserleri aşağıdadır:

- 1) Topcuoğlu,Ş.F., Yeşilada,Ö., Ünyayar,A., Ünyayar,S., Bozcuk,S., Fışkın,K., **Polyporus versicolor** Fungusunda Bir Metabolit Olarak Absisik Asit Üretimi, Çevre Biyolojisi Sempozyumu 17-19 Ekim, Ankara, 1990.
- 2) Yeşilada, Ö., Topcuoğlu,Ş.F., Ünyayar,A., Ünyayar,S., Fışkın,K., Bozcuk,S., Şlempe (Vinnase) İçeren İnkübasyon Ortamında Bazı Beyaz-Çürükçül Funguslarda Absisik Asit

Üretimi, X. Ulusal Biyoloji Kongresi 18-20 Temmuz 1990, Erzurum.

3) Ünyayar, A., Topcuoğlu, Ş.F., Yeşilada, Ö., Ünyayar, S., Fışkın, K., Bozcuk, S., Çalkalamalı Ve Statik İnkübasyon Ortamlarında Üretilen **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da Absisik Asit (ABA) Üretimi ve Enzim Sentezi, X.Ulusal Biyoloji Kongresi, 18-20 Temmuz 1990, Erzurum.

4) Ünyayar, S., Bozcuk, S., **Phanerochaete chrysosporium ME 446** Fungusunda Kültür Periyodu ve Üretim Koşullarına Bağlı Olarak Absisik Asit Üretimi ve Büyüme İle İlişkisi, Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 16, 75-83, 1992.

5) Bozcuk, S., Topcuoğlu, S.F., Fışkın, K., Yeşilada, Ö., Ünyayar, A. ve Ünyayar, S., " Farklı İnkübasyon Koşullarında Üretilen Bazı Beyaz Çürükçül Funguslarda Absisik Asit (ABA), Nükleik Asit (DNA) Miktarlarının ve Sekonder enzim Aktivitelerinin Saptanması ", İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu, Proje No: I.Ü.A.F. 89-09, Malatya (1994).

6) Ünyayar, S. ve Topcuoğlu, Ş.F., " **Phanerochaete chrysosporium ME446**'da Kültür Periyoduna Bağlı Olarak İndol-3-Asetik Asit (IAA) ve Gibberellik Asit (GA₃) Üretimi ", XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Temmuz 1994, Edirne.