

**Onobrychis altissima Gross. ve Onobrychis radiata (Desf.) Bieb.  
FİDELERİNİN DEĞİŞİK KİNETİN ve GİBBERELLİKASİT  
KONSANTRASYONLARINA KARŞI BAZI BÜYÜME CEVAPLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

Fikriye ZENGİN\*

Fırat Üniversitesi, Fen- Edb. Fakültesi, Biyoloji Bölümü Elazığ, TÜRKİYE,  
fzengin@firat.edu.tr

H. Murat ŞAN

Süleyman Demirel Üniversitesi, Burdur Eğitim Fak, Biyoloji Böl. Burdur, TÜRKİYE

**ÖZET**

Fabaceae familyasına ait yabani türler olan *Onobrychis altissima* ve *Onobrychis radiata* tohumlarından elde edilen fidelerin kotiledonları üzerinde kinetin, hipokotil ve kök büyümesi üzerinde ise gibberellik asitin ( $GA_3$ ) değişik konsantrasyonlarının şimdiye kadar yalnızca kültür bitkilerinde saptanmış olan bazı etkileri araştırıldı. Belirli bir konsantrasyona kadar kinetin, izole kotiledonlarının büyümesi gözlemlendi.  $GA_3$ 'te ise belirli bir konsantrasyona kadar hipokotil büyümesi linear olarak artmaktadır.

*Anahtar Kelimeler: Onobrychis altissima, Onobrychis radiata, gibberellik asit, kinetin*

**INVESTIGATION OF THE GROWTH RESPONSE OF THE *Onobrychis altissima* Gross. ve *Onobrychis radiata* (desf.) Bieb. AGAINST DIFFERENT KINETIN AND GIBBERELIC ACID CONCENTRATIONS**

**ABSTRACT**

Some effects of different concentrations of kinetin and  $GA_3$  which had been researched only on cultured plants have been investigated on hypocotyl and root growth cotyledon of seedling formed by *Onobrychis altissima* and *Onobrychis radiata* (Fabaceae) wild type seeds. Result showed that the kinetin leads to linear increase in growth of isolated cotyledon and chlorophyll formation in them, depending on concentration. On the other hand,  $GA_3$  gives to rise linearly in growth of hypocotyl up to a certain concentration.

*Key Words: Onobrychis altissima, Onobrychis radiata, gibberellic acid, kinetin*

**1. GİRİŞ**

Bitkide gerek vejetatif, gerekse reproduktif büyüme ve farklılaşmayı kontrol eden bazı maddelerin

bulunduğu ve büyüme artırıcı veya yavaşlatıcı etkilere sahip olan bu maddelerin karşılıklı etkileşimleri ile büyümenin düzenlediği, uzun zaman süren araştırmalar sonucu ortaya çıkarılmıştır. Bitkisel hormonlar dediğimiz bu tür maddeler, bitkinin belli bir kısmında sentezlenip ve etkin olacağı yere taşınıp, taşındığı yerde çok düşük konsantrasyonlarda bile fizyolojik bir davranış meydana getirebilirler veya frenledikleri, böylece büyüme düzenledikleri bilinmektedir (1).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda 84'e yakın gibberellin ortaya çıkarılmıştır (2). Bununla birlikte 2 bakteri türünde de gibberellinlere rastlanmıştır (3). Genetik ve fizyolojik cücelik durumunu ortadan kaldıran etki yalnız gibberellinlere özgüdür. Hatta gibberellinlerin bu etkilerinin, bazı gibberellinler için uygulanan doz ile linear bir şekilde artış gösterdiği anlaşıldığından (1), genetik cücelik üzerindeki etkiden yararlanılarak kantitatif gibberellin tayinlerinde cüce bezelye testi (4), ışığın yol açtığı büyüme engelleyici etkisini bertaraf edici etkiden yararlanılarak salatalık hipokotil testi (5) ve marul hipokotil testi (6) gibi kantitatif biyolojik testler geliştirilmiştir. Bu son iki test bu bitki fidelerinde gibberellinlerin ışığın büyüme engelleyici etkisini bertaraf etme özelliğinden yararlanılarak geliştirilmiştir.

Sitokininlerin 200'den fazla doğal ve sentetik yapıları olduğu bilinmektedir (7). Bakteri, fungus ve bunların bir formu olan mikorhiza ve kök nodüllerinde de rastlanmıştır (8). Sitokininlerin bitki dokularında yaşlanmayı geciktirdiği (9), dolayısıyla katabolizmayı durdurucu veya yavaşlatıcı etkileri olduğu bilinmektedir. Ayrıca sitokininlerin bazı dikotillerin kotiledonlarında hücre genişlemesine dolayısıyla kotiledonun hacim ve ağırlıkça artmasına yol açarlar. İşte bazı bitki materyalinde uygulanan, sitokinin dozuna paralel olarak kotiledon genişlemesinin linear bir şekilde artması, bu özelliğin sitokininlerin kantitatif tayini için bir biyolojik test olarak kullanılması imkanı sağlamıştır. Bu amaçla turp (10) ve kolza (11) kotiledonlarının kullanıldığı biyolojik testler geliştirilmiştir. Karanlıkta yetişen fideler yapılarındaki karotenoidlerden dolayı sarıdırlar ve kloroplastın iç membranı prolamellar yapı şeklindedir. Işığa maruz bırakıldığı zaman prolamellar tilakoid sistemini oluşturur. Işığa maruz bırakılan bu materyaller özellikle grana oluşumunu teşvik ederek etioplastların kloroplastlara dönüşümünü hızlandırır ve klorofil oluşumunu da artırır. Bunun için salatalık bitkisi kotiledonları kullanılarak bir ekstratta sitokinin miktarının kantitatif belirlenmesini sağlayan bir biyolojik test geliştirilmiştir (12).

Bütün bu denemelerde deney materyali olarak hep kültür bitkileri kullanılmıştır. Muhtemelen kültür bitkilerinin tohumlarında dormansi sorunu bulunmadığı ve ıslah edilmiş kültür formlarının fideleri daha üniform bir gelişme niteliğine sahip oldukları için biyolojik test amacıyla teminindeki güçlükte düşünülürse herhangi bir yabancı tür ele alınmamıştır. Bu çalışmada ilk kez iki yabancı bitki türü ele alınarak, sitokinin için bir biyolojik test materyali olup olamayacağı araştırılmıştır.

## 2. MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada Elazığ ili ve civarından toplanan Fabaceae familyasına ait olan *Onobrychis radiata* (Desf.) Bieb. ve *Onobrychis altissima* Gross. türlerinin tohumları kullanıldı.

Çalışmalarımızda kullanılan kinetin tartılarak 1-2 damla 0,5 NHCL ile çözüldürüldü ve saf su ile tamamlanarak 25 ppm'lik stok çözelti elde edildi. pH'ı 7'ye ayarlandı ve bu stok çözeltiden 20, 15, 10, 5, 1 ve 0 (saf su) ppm konsantrasyonlarda kinetin çözeltileri hazırlandı. Aynı şekilde gibberellik asit tartılarak bir kaç damla % 50'lik etanolde çözüldü. 25 ppm'lik stok çözeltiden kinetin için belirlenen konsantrasyonlarda gibberellin çözeltileri hazırlandı.

Deneylerde çimlendirme, fide yetiştirilmesi ve büyüme maddeleri uygulaması, bütün deney serileri boyunca, sıcaklığı 22-25°C arasında değişen bitki yetiştirme dolabında gerçekleştirildi.

### 2.1. Kinetinin Kotiledon Büyümesi Üzerine Etkisi

*Onobrychis radiata* ve *Onobrychis altissima* tohumlarından alınarak petri kutularına ekildi ve karanlık ortamda çimlenmeye bırakıldı. *Onobrychis altissima* ekimden 72 saat sonra tohumlardan çıkan fidelerin kotiledonlar hipokotillerinden ayrıldı. Böylece birbirinden ayrılmış kotiledonlar (her bir konsantrasyon için 12 kotiledon) petri kutularının içinde bulunan 20'şer ml hormon çözeltilerinin içine yerleştirildi. *Onobrychis radiata* tohumlarından oluşan fidelerde ise ıslatmanın başlangıcından

96 saat sonra kotiledonlar alınarak aynı işlemler uygulandı. Her iki deney serisinde de içinde kotiledonlar bulunan petripler 1500 lüks şiddetindeki devamlı floresan ışığı altına yerleştirildi. Işıklandırmanın başlangıcından 41 saat sonra *Onobrychis altissima*'nın, 63 saat sonra ise *Onobrychis radiata* kotiledonlarının tartımları yapıldı ve ortalamaları alındı (10).

## 2.2 Gibberellik Asidin Hipokotile Uygulanması

Bu deney serisinde yine *Onobrychis altissima* ve *Onobrychis radiata* tohumları bir önceki deney serisinde olduğu gibi çimlenmeye bırakıldı. Ekimden 44 saat sonra *Onobrychis altissima* ve 78 saat sonra *Onobrychis radiata* fideleri (her bir konsantrasyon için 6 fide kullanıldı), değişik  $GA_3$  konsantrasyonlarına aktarılarak 1500 lüks şiddetindeki floresan ışığı altında gelişmeye bırakıldı. 69 saat sonra *Onobrychis altissima*, 72 saat sonra ise *Onobrychis radiata* fidelerinin hipokotil ve kök boyları ölçüldü.

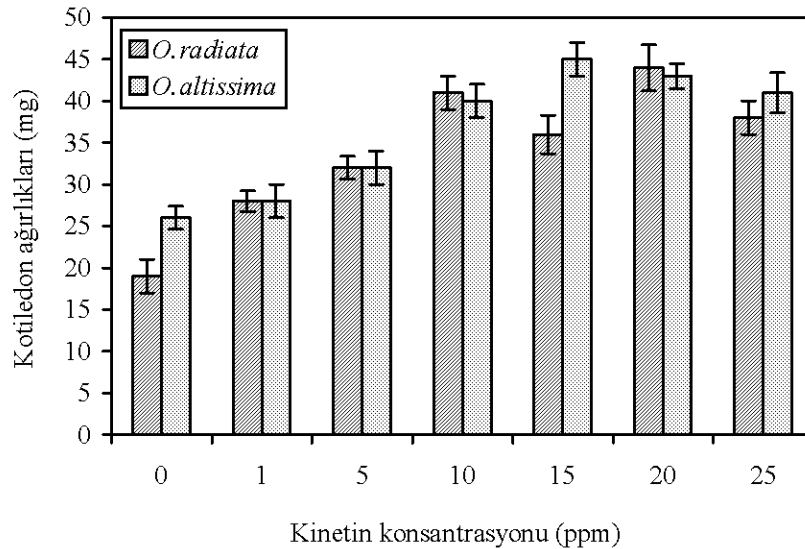
## 2.3. Kinetinin Uygulanmasında Klorofil Miktarının Belirlenmesi

Bu deney serisinde yalnızca *Onobrychis altissima* tohumları kullanıldı. Tohumlar çimlenmeye bırakıldı. Ekimden 105 saat sonra tohumlardan beliren fideler alındı. Petri kutuları içine yerleştirilmiş olan kotiledonlar (her bir konsantrasyon için 12 kotiledon) yerleştirildi, 4 saat süreyle 3000 lüks floresan ışığı altına bırakıldı. Bu süre sonunda her bir kinetin konsantrasyonundaki kotiledonlar tartıldı ve 3 ml aseton ile havanda ezilerek klorofil ekstresi elde edildi. Üstte kalan sıvı kısım deney tüpüne alınarak 7 ml'ye tamamlandı ve her kinetin konsantrasyonunda bekletilen kotiledonlardan elde edilen ekstrelerin 652 nm'de absorbansları ölçüldü (13). Beer kanunundan yararlanarak (14) dokunun gramı başına mg olarak klorofil miktarı hesaplandı.

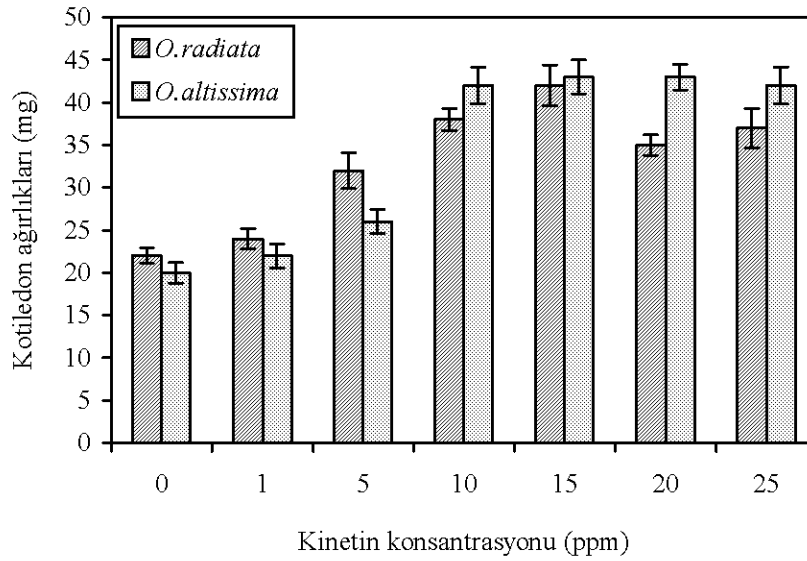
Bütün deneyler 3 tekrerrür halinde yapıldı. Sonuçlar ortalamanın standart hatası alınarak yapıldı. Ortalamanın standart hatası histogramlar üzerinde dikey çizgiler (bar) şeklinde verildi.

## 3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Kullandığımız bitki büyüme maddelerinin *Onobrychis radiata* ve *Onobrychis altissima* kotiledonları üzerindeki etkisi Şekil 1 ve 2' de görülmektedir.



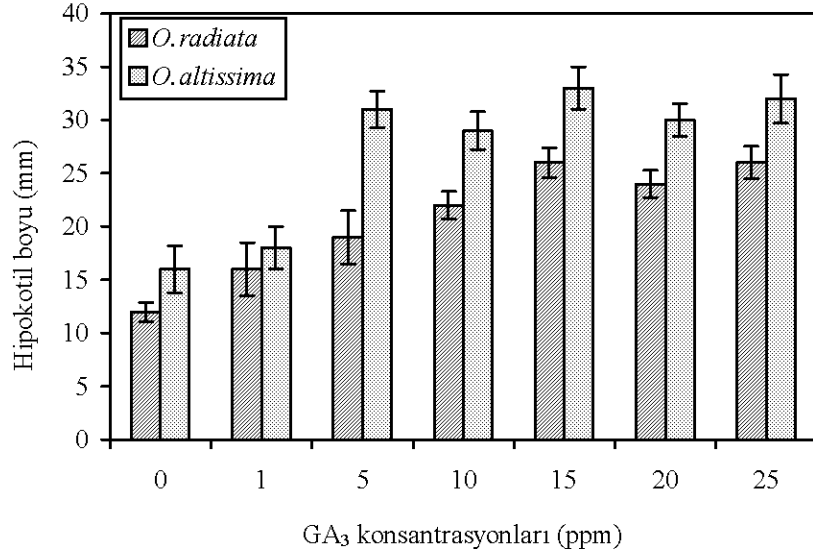
**Şekil 1.** Değişik konsantrasyonlarda kinetin çözeltilerinde yuzdürülen *Onobrychis radiata* ve *Onobrychis altissima* kotiledonlarının deney sonundaki ortalama ağırlıkları



**Şekil 2.** Değişik konsantrasyonlarda kinetin çözeltileri ile ıslatılmış filtre kağıtları üzerine bırakılan *Onobrychis radiata* ve *Onobrychis altissima* kotiledonlarının deney sonundaki ortalama ağırlıkları

Şekillerde görüldüğü üzere kinetin çözeltilerinde bırakılan kotiledonların ağırlıkları, 15 ppm kinetin konsantrasyonuna kadar, hormon konsantrasyonuna paralel olarak linear bir artış göstermiştir. Mesela kinetin çözeltilerinde yüzdürülen *Onobrychis radiata*'nın saf suda (0)'da kotiledon ağırlığı  $19 \pm 2$ ; 1 ppm kinetin konsantrasyonunda  $28 \pm 1,2$ ; 5 ppm'de  $32 \pm 1,4$ ; 10 ppm'de  $41 \pm 2$ ; 15 ppm'de  $36 \pm 2,3$ ; 20 ppm'de  $44 \pm 2,8$ ; 25 ppm kinetin konsantrasyonunda ise  $38 \pm 2$  mg olarak bulunmuştur. *Onobrychis altissima*'nın ise kotiledon ağırlıkları saf su (0)  $26 \pm 1,4$ ; 1 ppm kinetin konsantrasyonunda  $28 \pm 2$ ; 5 ppm'de  $32 \pm 2$ ; 10 ppm'de  $40 \pm 2$ ; 15 ppm'de  $45 \pm 2$ ; 20 ppm'de  $43 \pm 1,5$ ; 25 ppm'de  $41 \pm 2,4$  mg olarak tespit edilmiştir (Şekil 1). Değişik kinetin çözeltileri ile ıslatılmış filtre kağıtları üzerinde bırakılan *Onobrychis radiata*'nın saf suda (0)'da kotiledon ağırlığı  $22 \pm 0,9$ ; 1 ppm kinetin konsantrasyonunda  $24 \pm 1,2$ ; 5 ppm'de  $32 \pm 2,1$ ; 10 ppm'de  $38 \pm 1,3$ ; 15 ppm'de  $42 \pm 2,4$ ; 20 ppm'de  $35 \pm 1,2$ ; 25 ppm kinetin konsantrasyonunda ise  $37 \pm 2,3$  mg olarak bulunmuştur. *Onobrychis altissima*'nın ise kotiledon ağırlıkları saf su (0)  $20 \pm 1,2$ ; 1 ppm kinetin konsantrasyonunda  $22 \pm 1,4$ ; 5 ppm'de  $26 \pm 1,42$ ; 10 ppm'de  $42 \pm 2,1$ ; 15 ppm'de  $43 \pm 2$ ; 20 ppm'de  $43 \pm 1,5$ ; 25 ppm'de  $42 \pm 2,2$  mg olarak tespit edilmiştir (Şekil 2). Sitokininler kotiledon büyümesini sağladığından çimlenmeleri için ışığa ihtiyaç duyan bazı tohumlarda, ışık verilmeden de çimlenmeyi sağlamaktadırlar. Bu durum, sitokinin etkisi ile genişleyen kotiledonların, tohum gömleği veya endospermi yırtarak çimlenmeyi kolaylaştırması bakımından önemlidir (15).

Şekil 3'de çeşitli konsantrasyonlarda GA<sub>3</sub> çözeltilerinde bırakılan çimlenmiş tohumlardan oluşan fidelerde deney sonundaki hipokotil boyları görülmektedir.

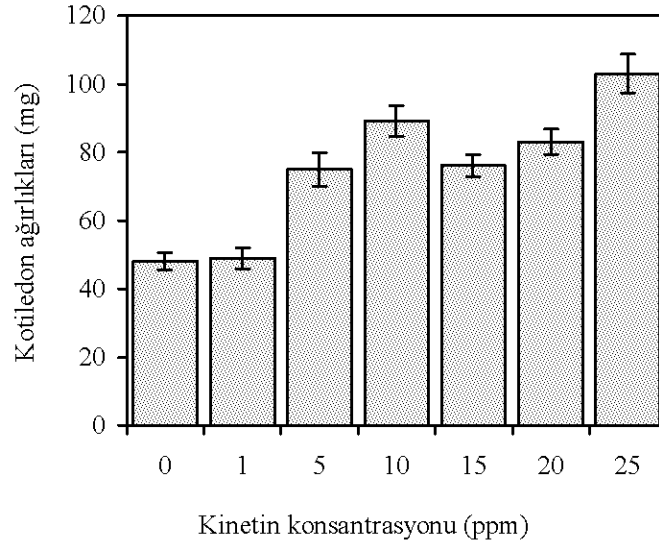


**Şekil 3.** Değişik konsantrasyonlarda GA<sub>3</sub> uygulanan *Onobrychis radiata* ve *Onobrychis altissima* fidelerinin deney sonundaki ortalama hipokotiledon boyları

Şekil 3'ün incelenmesinden anlaşılacağı gibi değişik konsantrasyonlardaki GA<sub>3</sub> iki türün (*O. radiata* ve *O. altissima*) hipokotil boylarını arttırdığı tespit edilmiştir. *O. radiata*'nın saf su (0)'da hipokotil boyu 12,09; 1 ppm GA<sub>3</sub> konsantrasyonunda 16 ± 2; 5 ppm'de 19 ± 2,5; 10 ppm'de 22 ± 1,3; 15 ppm'de 26 ± 1,4; 20 ppm'de 24 ± 1,3; 25 ppm GA<sub>3</sub> konsantrasyonunda 26 ± 1,5 mm olarak bulunmuştur. *O. altissima* için bu değerler saf suda (0) 16 ± 2,2; 1 ppm GA<sub>3</sub> konsantrasyonunda 18 ± 2; 5 ppm'de 31 ± 1,7; 10 ppm'de 29 ± 1,8; 15 ppm'de 33 ± 2; 20 ppm'de 30 ± 1,5 ve 25 ppm'de 32 ± 2,3 mm olarak tespit edilmiştir. Burada gibberellinler ışığın yol açtığı büyüme inhibisyonunu büyük ölçüde gidermiştir. Bu etki 5 ppm'e kadar linear bir görünüm arz etmektedir.

Bilindiği gibi gibberellinler dokunulmamış bitkiler üzerinde etkili olup bitkilerde uzama büyümesini arttırmırlar. Fizyolojik ve genetik olarak cüce olan bitkilere gibberellin uygulanınca normal bitki kadar büyüebilmektedir. Internodyumları çok kısa olan lahanaya gibberellin uygulanması ile bitkinin uzadığı ve hatta çiçeklendiği görülmüştür (16). Genetik olarak cüce olan pirince 3,5 pikogram GA<sub>3</sub> uygulanarak bitkinin bu durumdan kurtulduğu görülmüştür (17). Cüce mısır üzerinde yapılan bir çalışmada ise gibberellin etkisi ile bitkinin boyunun uzadığı tespit edilmiştir (18). Bu konu ile ilgili mısır, bezelye, buğday bitkileri üzerinde bir çok çalışma yapılmış (19) ve sonuçta gibberellinlerin etkisi bir çok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (20, 21).

Şekil 4' de değişik konsantrasyonlarda kinetin çözeltilerinde bırakılan *O. altissima* kotiledonlarında deney sonunda sentezlenen klorofil miktarı görülmektedir.



**Şekil 4.** Değişik konsantrasyonlarda kinetin çözeltilerinde bırakılan *O. altissima* kotiledonlarında deney sonunda sentezlenen klorofil miktarı.

Şekil 4'de değişik konsantrasyonlarda kinetin genelinde kotiledonlarda klorofil biyosentezini hızlandırdığını, ancak bunda belirli bir lineerlik bulunmadığı görülmektedir. Kallus hücrelerinde ışık altında kalıtsal bir kloroplast oluşturma yeteneği vardır. Karanlıkta sitokin verilmesi ile kallusta sadece lamellere sahip kloroplastlar oluşabilir. Işık ve sitokin birlikte verilirse grana ve klorofil meydana gelir (22).

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen sonuçlar bölgemiz yabancı bitki kaynaklarının bilimsel amaçla kullanılabilmesi bakımından önem taşımaktadır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bizi yönlendiren Prof. Dr. Şener BALTEPE'ye teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Salisbury, F.B. and Ross, C.W., "Plant Physiology (4.ed.)", *Wardsworth Publishing Company Belmont, California*. 357-360 (1992)
2. Takahashi, N., Phinney, B.O. and MacMillan, "J. (eds.)", *Gibberellins. Springer-Verlag*, Berlin (1990).
3. Atzorn, R., Croier, A., Wheeler, C.T. and Sandberg, "G. Production of gibberellins and indole-3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots.", *Planta*, 175, 532-538 (1988).
4. McComb, A.J. and Carr, D.J., "Evidence from a dwarf pea bioassay for naturally occurring gibberellins in the growing plant", *Nature*, 181, 1548-1549 (1958).
5. Brian, P.W. and Hemming, H.C., "Promotion of cucumber hypocotyl growth by two new gibberellins", *Nature*, 189, 74 (1961).
6. Frankland, B. and Wareing, P.F., "Effects of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings", *Nature*, 185, 255-256 (1960).
7. Matsubara, S., "Structure-activity relationships of cytokinins", *Plant Sciences*, 9, 17-57 (1990).
8. Green, E.M., "Cytokinin production by microorganism", *The Botanical Review*, 46, 25-74 (1980).
9. Van Standen, J., Cook, E.L. and Nooden, L.D. "L.D. Nooden and A.C. Leopold (eds.)", *Senescence and aging in plants. Academic press*, New York, 281-328 (1988).
10. Letham, D.S., "Regulators of cell division in plant tissues." XII. A cytokinin bioassay using excised radish cotyledons, *Physiol. Plant.*, 260, 391-396 (1971)
11. Çetingül, V. and Baltepe, Ş., "A new bioassay for cytokinins.", *E.Ü. Faculty of Science Journal*, Series.

Vol. VNr. 1. (1983).

12. Fletcher, R.A. and Cullagh, "D.M. Cytokinin induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons", *Planta*, 101, 88-90 (1971).
13. Witham, F.H., Blaydes, D.F. and Dewlin, "R.M. Experiments in Plant Physiol", **Von Nostrand Reinhold Company**, New York, 55-56 (1971)
14. Ross, C.W., "Plant Physiology Laboratory Manual. Wadsworth Publ. Co." (1974).
15. Ross, C.W. and Royle, "D.L. Evolution of H<sup>+</sup> secretion relative to zeatin- induced growth of detached cucumber cotyledons." *Plant Physiol.*, 70, 1470-1474 (1982)
16. Rood, S.B., Williams P.H., Pearce, D., Murafushi, N., Mander, L.N. and Pharis, R.P. "A mutant gene that increases gibberellin production in Brassica." *Plant Physiol.*, 93, 1168-1174 (1990).
17. Nishijima, T. and Katsura, N. "A modified micro-drop bioassay using dwarf rice for detection of fentamol quantities of gibberellins." *Plant and Cell Physiol.*, 30, 623-627 (1989).
18. Phinney, B.O. and Spray, C.R. "Diterpenes-the gibberellin biosynthetic pathway in *Zea mays*., in P.K. Stumpf, J.B. Mudd and W.D. Nes (eds.)", *The Metabolism, Structure and Function of Plant Lipids. Plenum*, New York 19-27 (1987).
19. Reid, J.B., "Phytohormone mutants in plant research." *Journal of Plant Growth Regulation*, 9, : 97-111 (1990).
20. Reid, J.B., "The genetic control of growth via hormones. in P.J. Davies (ed.)", *Plants Hormones and Their Role in Plant Growth and Development.*, *Mortinus Nijhoff Publishers*, Boston, 318-340 (1987).
21. Hedden, P. and Lenton, J.R., "175-204 in Beltsville Symposia in Agricultural Resources 12", *Kluwer Academic Publishers*, Boston, 175-204 (1990).
22. Lew, R. and Tsuji, H., *Plant Physiol.*, 69: 663-667 (1990).

Geliş Tarihi: 03.09.2002

Kabul Tarihi: 24.04.2003

