

67245

ZEYTİNYAĞI FABRİKASI ATIĞINDA ÜRETİLEN
Lentinus tigrinus ve *Laetiporus sulphureus* FUNGUSLARINDA
KÜLTÜR PERİYODUNA BAĞLI OLARAK GİBBERELLİK ASİT (GA₃),
ABSİSİK ASİT (ABA) VE SİTOKİNİN (ZEATİN) ÜRETİMİ

BİRGÜL ÖZCAN

M.K.Ü
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA
EYLÜL 1997

M.K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU 

Üye : Prof. Dr. Kayhan FIŞKIN 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elçem AKTOKLU 

Kod No : 010

Yukarıdaki imzaların adı geçen Öğretim Üyelerine ait olduğunu onaylım.

12/09/1997

Prof. Dr. Mustafa KAPLANKIRAN
Enstitü Müdürü
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Bu Araştırma M.K.Ü Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiřtir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇİNDEKİLER	I
ÇİZELGE LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	V
ÖZ	VII
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Gibberellinlerden Gibberellik Asit (GA_3)	1
1.1.1. GA_3 'ün Tarihçesi, İzolasyonu, Kimyasal Özellikleri, Biyosentezi ve Fizyolojik Etkileri	1
1.2. Absisik Asit (ABA)	4
1.2.1. ABA'nın Tarihçesi, İzolasyonu, Kimyasal Özellikleri, Biyosentezi ve Fizyolojik Etkileri	4
1.3. Sitokininler	7
1.3.1. Sitokininlerin Tarihçesi, İzolasyonu, Kimyasal Özellikleri, Biyosentezi ve Fizyolojik Etkileri	7
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	12
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Kullanılan Funguslar ve Üretim Yöntemi	13
3.2. GA_3 , ABA ve Zeatin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Analiz İşlemleri	13
3.3. Evaporasyon İşlemleri	18
3.4. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri	18
3.5. GA_3 , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi	19
3.6. GA_3 , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri.	19

	<u>Sayfa</u>
3.7. GA ₃ , ABA ve Zeatin Miktarlarının Spektrofotometre Tekniği İle Tayini	20
3.8. Kuru Misel Ağırlığının (KMA) Tayini	20
3.9. İstatistik Analizler	24
4. BULGULAR	25
4.1. <i>Lentinus tigrinus</i> ve <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Kuru Misel Ağırlığının ve Serbest-, Bağlı- ve Toplam-GA ₃ , ABA ve Zeatin Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlıklarının Değişimi	25
4.1.1. Kuru Misel Ağırlıklarının Değişimi	25
4.1.2. Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-GA ₃ Miktarlarının Değişimi	28
4.1.3. Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Miktarlarının Değişimi	33
4.1.4. Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-Zeatin Miktarlarının Değişimi	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	43
ÖZET	56
SUMMARY	57
KAYNAKLAR	58
TEŞEKKÜR	70
ÖZGEÇMİŞ	71

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. <i>Lentinus tigrinus</i> ve <i>Laetiporus sulphureus</i> fungus türlerinde kültür ortamın da kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları	26
Çizelge 4.2. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.	26
Çizelge 4.3. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak toplam-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları	27
Çizelge 4.4. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.	27
Çizelge 4.5. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak bağlı ve toplam-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları	27
Çizelge 4.6. <i>Lentinus tigrinus</i> ve <i>Laetiporus sulphureus</i> fungus türlerinde kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları	28
Çizelge 4.7. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı	29
Çizelge 4.8. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA ₃ eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı	31

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.9. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı	34
Çizelge 4.10. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı	36
Çizelge 4.11. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı	39
Çizelge 4.12. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı	41

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Gibberellik Asit (GA_3)	2
Şekil 1.2. Bazı Gibberellik Asit'lerin Mevalonik Asit'ten Biyosentezi	3
Şekil 1.3. (S)-absisik Asit'in Yapısı	5
Şekil 1.4. Cis-ABA ve Trans-ABA'nın Yapısı	5
Şekil 1.5. ABA Biyosentez Yolu	6
Şekil 1.6. Zeatin	8
Şekil 1.7. Doğal Sitokinlerin Metabolik Olarak Birbirine Dönüşümleri	9
Şekil 3.1. Bitkisel Hormonlardan GA_3 , ABA ve Zeatin İçin Ekstraksiyon Şeması	14
Şekil 3.2. Spektrofotometre İle Kontrol ve Fungal Ekstraktlarda Gibberellin'in Kantitatif Tayininde Esas Alınan, 254 nm'deki Sentetik GA_3 'ün Standart Eğrisi	21
Şekil 3.3. Spektrofotometre İle Kontrol ve Fungal Ekstraktlarda Absisik Asit'in Kantitatif Tayininde Esas Alınan, 263 nm'deki Sentetik ABA'nın Standart Eğrisi	22
Şekil 3.4. Spektrofotometre İle Kontrol ve Fungal Ekstraktlarda Sitokin'in Kantitatif Tayininde Esas Alınan, 269 nm'deki Sentetik Zeatin'in Standart Eğrisi	23
Şekil 4.1. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam- GA_3 Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi	30
Şekil 4.2. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam- GA_3 Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi	32
Şekil 4.3. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi	35

Şekil 4.4. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi	37
Şekil 4.5. <i>Lentinus tigrinus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-Zeatin Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi	40
Şekil 4.6. <i>Laetiporus sulphureus</i> 'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-Zeatin Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi	42

ÖZ

Bu çalışmada, statik inkübasyon ortamında ve zeytinyağı fabrikası atığı besiyerinde üretilen beyaz-çürükçül fungus *Lentinus tigrinus* ve kahverengi-çürükçül fungus *Laetiporus sulphureus*'un kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- formlarda içsel gibberellik asit (GA_3), absisik asit (ABA) ve sitokinin (zeatin) miktarları ve fungusların kuru misel ağırlıkları saptanmıştır.

İçsel- GA_3 , -ABA ve -zeatin miktarlarının tayininde spektrofotometre tekniği kullanılmıştır.

Çalışmamızın sonucunda çalışmada kullanılan fungusların primer ya da sekonder bir metabolit olarak GA_3 , ABA ve zeatin sentezledikleri ve sentezlenen bu bitkisel hormonların hem serbest ve hem de bağlı formlarda bulunduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Lentinus tigrinus*, *Laetiporus sulphureus*, Fungus, Zeytinyağı fabrikası atığı , Gibberellik asit (GA_3), Absisik asit (ABA), Zeatin, Bitkisel hormonlar.

ABSTRACT

In this study, the levels of endogenous forms of free-, bound- and total-gibberellic acid (GA_3), abscisic acid (ABA) and sytokinin (zeatin) in culture medium and the changes in dry-weight of the mycelium which depend on the culture periods examined through the use of white-rot fungus *Lentinus tigrinus* and brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus* cultured in medium of olive mill waste which in static culture.

The spectrophotometric techniques were used to determine the amounts of endogenous GA_3 , ABA and zeatin.

As a result, fungi which have been used in this study showed that synthesized GA_3 , ABA and zeatin as a primary or secondary metabolite and these plant hormones which have been synthesized, both in either form of free and bound.

Key words: *Lentinus tigrinus*, *laetiporus sulphureus*, Fungi, Olive mill waste water, Gibberellic acid (GA_3), Absciscic acid (ABA), Zeatin, Plant hormones.

1. GİRİŞ

Bitki büyüme ve gelişmesinde rol oynayan en önemli içsel faktör bitki hormonlarıdır (fitohormonlar). Pekçok araştırmacı bunları bitki büyüme maddeleri ya da bitki büyüme düzenleyicileri olarak da adlandırmaktadır. Bitki hormonlarının keşfi ile bitki büyümesini ve büyüme ile ilgili birçok faaliyetleri kontrol altına almak mümkün olmuştur.

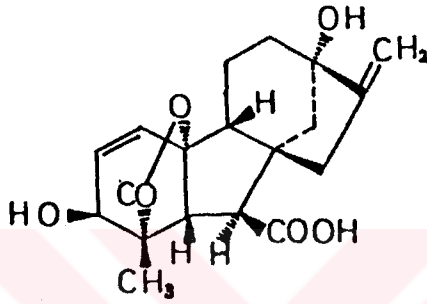
Genel anlamda, doğal olarak bitkilerde sentezlenen, büyüme ve buna bağlı diğer fizyolojik olayları kontrol eden, meydana geldiği yerden bitkilerin diğer kısımlarına taşınarak oralarda da etkin olabilen, çok az yoğunlukta dahi etkisini gösterebilen organik maddelere hormon adı verilmektedir. Bu tanımın kapsamına giren hormonların bir kısmı bitki büyüme ve gelişmesini uyarıp hızlandırdığından stimülatörler (uyaranlar), bir kısmı da büyüme ve gelişmeyi durduran, gerileten etkiye sahip olduğundan inhibitörler (ket vurucular) olarak adlandırılırlar. Örneğin, oksinler, gibberellinler ve sitokininler stimülatörler grubuna girerken, absisik asit (ABA) doğal bir bitki büyüme inhibitörü'dür.

1.1. Gibberellinlerden Gibberellik Asit (GA_3)

1.1.1. GA_3 'ün Tarihçesi, İzolasyonu, Kimyasal Özellikleri, Biyosentezi ve Fizyolojik Etkileri

Gibberellinleri ilk olarak Japon araştırmacı Kurosawa, pirinçlerde *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) mantarının neden olduğu "Bakanea" hastalığını incelerken bulmuştur. İngiliz kimyacılar 1954 yılında, *Gibberella fujikuroi* kültüründen saf bir bileşik izole ederek kimyasal özelliklerini tayin etmişler ve bu yeni maddeye gibberellik asit (GA) adını vermişlerdir. 1994 yılına kadar yüksek organizasyonlu bitkilerde ve mikroorganizmalarda, yüksek biyolojik aktiviteye sahip 90'ın üzerinde farklı gibberellik asit'in (GA) bulunduğu saptanmıştır (Graebe ve Ropers 1978, Hoad 1983, Mander 1992: Rademacher'den 1994). Bunlar GA_1 , GA_2 , ... şeklinde ifade edilmektedir. *Gibberella fujikuroi*'nin 27 adet GA sentezlediği ve bunlardan 13 tanesinin sadece bu türe özgül olduğu saptanmıştır (Bearder 1980, Mander 1992: Rademacher'den 1994). Tüm GA'ların molekül yapısı Gibberellik asit (GA_3) ile benzerdir. Fakat, A halkasındaki doyma derecesi ve özellikle hidroksil gruplarının bulunduğu yerler ve halka sistemindeki bağların sayıları ve pozisyonları nedeni ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar (Salisbury ve Ross 1992).

Gibberellinler ent-gibberellan iskeletinden meydana gelmektedirler. GA'ler bitkilerde doğal olarak meydana gelen terpenoidlerden türevlenen diterpenlerdir. Gibberellik asit (GA₃)'in kapalı formülü C₁₉H₂₂O₆ ve molekül ağırlığı 346.4'dür (Şekil 1.1).



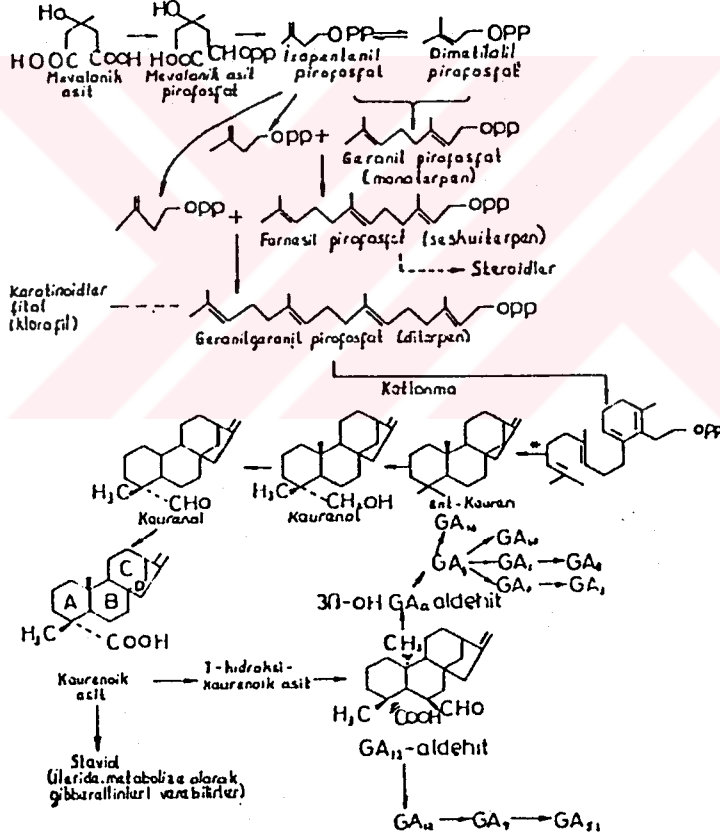
Şekil 1.1. Gibberellik Asit GA₃ (Salisbury ve Ross, 1992).

GA₃ ekstraksiyonunda, etil asetat, metanol veya dietileter gibi organik çözücüler (Dunberg 1973), tayininde ise ince tabaka kromatografisi, gaz-kütle spektroskopisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), UV ve infrared spektroskopisi, spektrofluorodensitometre gibi hassas fizikokimyasal teknikler kullanılmaktadır (Banerjee 1968, Zieslin ve Geller 1983, Kumar ve Lansone 1987, Prakash ve Prathapasanen 1990).

İçsel GA₃'ün maksimum absorpsiyon dalga boyunun 254 nm olduğu rapor edilmektedir (Holbrook ve ark.1961, Cihangir ve Aksöz 1993, Topcuoğlu ve Ünyayar 1995).

Gibberellin metabolizması yüksek organizasyonlu bitkilerden çok *Gibberella fujikuroi* fungusunda incelenmiştir. Gerek bu fungus gerekse diğer funguslar örneğin, *Sphaceloma* türleri, *Phaeosphaeria* türleri azot seviyesinin düştüğü sekonder fazda gibberellinleri sentezlemektedirler (Bentley ve Benett 1988, Cihangir ve Aksöz 1993, Rademacher 1992, Kawaide ve Sassa 1993, Geissman ve ark. 1966).

Yüksek organizasyonlu bitkilerde gibberellin biyosentezi çeşitli organlarda olmaktadır; Örneğin embriyo, genç yapraklar, gelişmekte olan meyve, tohum, uzamakta olan gövde apikal bölgesi ve köklerdir. Yüksek bitkilerde ve funguslarda gibberellin biyosentezinde tek bir yolun olmadığı ve gibberellinlerin mevalonik asit'ten sentezlendiği saptanmıştır. Farklı GA'ler farklı biyosentez yolları ile sentezlenmekte olup (Şekil 1.2), günümüzde sentez yolları henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Palavan-Ünsal 1993).



Şekil 1.2. Bazı Gibberellik Asit'lerin Mevalonik Asit'ten Biyosentezi (Palavan-Ünsal 1993).

GA'ler şeker, protein gibi hücre bileşiklerine bağlanarak aktif olmayan bağlı formlarını oluşturmaktadırlar (Murakami 1968). Gibberellinlerin inaktivasyonu ya gibberellin karbon iskeletinin hidroksilasyonu gibi modifikasyon ile ya da glukoz ile birleşmesi sonucu oluşur. Yüksek organizasyonlu bitkilerde önemli gibberellin inaktivasyon olayı A halkası üzerinde 2 numaralı karbona β pozisyonunda OH grubu eklenmesi ile oluşan 2 β hidroksilasyonudur. Bu olay geriye dönüşümlü değildir. Sonuçta gibberellin kısmen veya tamamen biyolojik aktivitesini yitirir. Gibberellik asit, yüksek sıcaklıkta asit hidrolizi ile bozunmakta, sonuçta gibberellenik asit, allogibberik asit ve gibberik asit oluşmaktadır (Pegg 1973, Arigayo ve ark. 1984, Doumas ve ark. 1992).

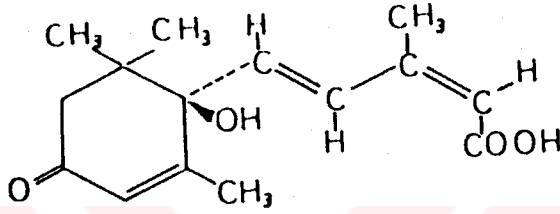
Gibberellinler çok yönlü fizyolojik etkilere sahiptir. Genetik olarak cüce bitkilerde gövde uzamasını (Nakayama ve ark. 1990, Junttila 1993, Potter ve ark. 1993), yaprak absisyonunu (Palavan-Ünsal 1993), çiçeklenmeyi (Rood ve ark. 1989) teşvik etmektedir. Ayrıca kambiyal aktivitenin artmasına, partenokarpik meyva oluşumuna (Salisbury ve Ross 1992), apikal dominansinin artmasına (Palavan-Ünsal 1993), RNA ve protein sentezinin artmasına (Jacobsen ve Higgins 1982, Hopson ve Wessells 1990) neden olmaktadır. Tohum ve tomurcuk dormansisini de ortadan kaldırmaktadır (Mounla 1978, Salisbury ve Ross 1992). *Neurospora crassa*'da da konidial çimlenmeyi ve hif uzamasını artırdığı rapor edilmektedir (Tomita ve ark. 1989).

1.2. Absisik Asit (ABA)

1.2.1. ABA'nın Tarihçesi, İzolasyonu, Kimyasal Özellikleri, Biyosentezi ve Fizyolojik Etkileri

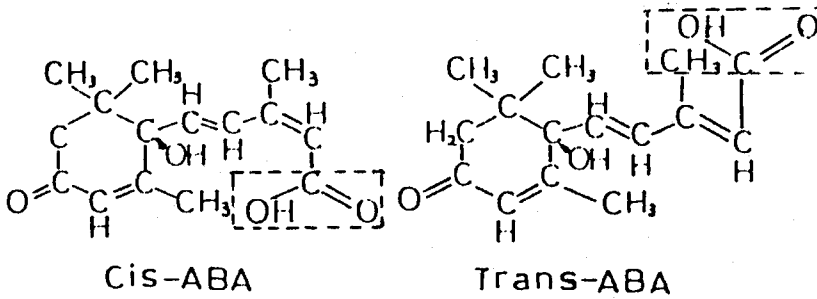
ABA bitkilerde doğal olarak oluşan bir bitki büyüme düzenleyicisidir. ABA'nın, bitki dokularında yaygın olarak bulunduğu bilinen inhibitör- β kompleksinin en aktif ögesi olduğu kimyasal olarak belirlenmiştir (Milborrow 1967, Wright 1969). ABA'nın doğal olarak oluşan formu (S)-(+)-absisik asit'tir (Şekil 1.3).

ABA'nın kapalı formülü $C_{15}H_{20}O_4$, molekül ağırlığı 264'tür. ABA organik çözücülerde ve suda çözünmektedir (Addicott ve Lyon 1969). ABA'nın maksimum dalga boyunun asidik koşullarda 252-263 nm arasında (Addicott ve Lyon 1969, Topcuoğlu ve Ünyayar 1995), bazik koşullarda ise 254 nm (Milborrow 1974) olduğu saptanmıştır.



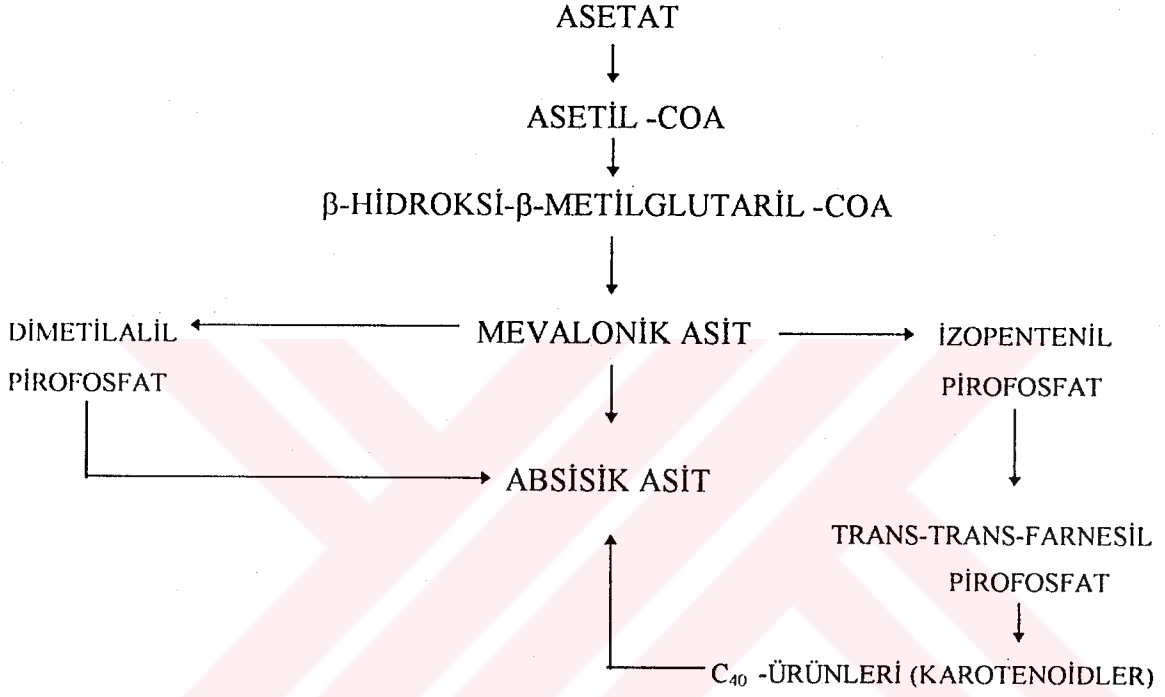
Şekil 1.3. (S)-absisik Asit'in Yapısı (Addicott ve Lyon 1969).

ABA bir sesquiterpenoid'dir ve hem optik hem de geometrik olarak izomerizm göstermektedir (Wareing ve Phillips 1970, Phillips 1971). ABA'nın cis ve trans olmak üzere iki geometrik izomeri vardır (Şekil 1.4). Bitkilerde ABA'nın doğal olarak oluşan izomeri cis-ABA'dır ve ABA şeklinde ifade edilir (Milborrow 1970). ABA molekülü asimetric bir karbon atomu içerdiğinden ya D(+) ya da L(-) formunda optik olarak izomerizm göstermektedir (Wareing ve Phillips 1970, Phillips 1972).



Şekil 1.4. Cis-ABA ve Trans-ABA'nın Yapısı (Addicott ve Lyon 1969).

ABA yüksek organizasyonlu bitkilerde kök, meyva, tohum embriyosu ve yapraklarda, özellikle kloroplastlarda sentezlenmektedir (Loveys 1977). ABA biyosentezinin iki yolla olduğu ileri sürülmektedir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. ABA biyosentez yolu (Kefeli'den 1978, değiştirilerek).

Bunlardan birincisi, ABA direkt olarak mevalonik asit'ten sentezlenmekte, ikincisi 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. İkinci görüş önemini kaybetmiş olmasına rağmen (Kefeli 1978), birçok bitkide ABA biyosentezinin dolaylı olarak plastidlerde bulunan karotenoidlerin parçalanması ile oluştuğu rapor edilmiştir (Zeevaart ve Geelman 1988; Parry ve Horgan'dan 1991). Günümüzde, birinci görüş halen kabul edilmiş durumdadır.

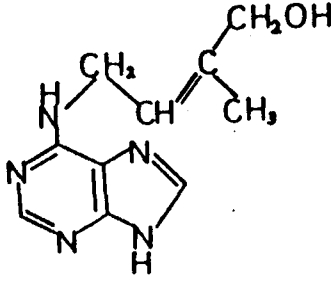
ABA iki yoldan inaktive olmaktadır; başka bir deyişle ABA metabolizmasının yıkım ürünleri, ABA'nın ya okside olmuş (örneğin, fazeik asit, dihidrofazeik asit, 4'-desoksi ABA) ya da bağlı formlarıdır (örneğin, ABA-glukoz esteri) (Topcuoğlu 1987).

ABA'nın bitki büyüme ve gelişmesindeki fizyolojik etkileri konsantrasyonlarına , çevresel faktörlere, bitki türlerine ve bitkinin yaşına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995). Tomurcuk ve tohum dormansisinin ortaya çıkmasında (Berrie 1984: Salisbury ve Ross'dan, 1992), tepe hakimiyetinde (White ve Mansfield 1977, Knox ve Wareing 1984), çiçeklenme inhibitörü olarak rol oynamakta (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995), klorofil kaybını ve yıkımını hızlandırarak senesense neden olmakta (Tamas ve Engels 1981), embriyo gelişimini ve büyümesini, tohumda normal olgunlaşma ve çimlenmeyi engellemektedir (Quatrano 1987: Salisbury ve Ross'dan, 1992). ABA, RNA sentezini (Walbot ve ark. 1975), çeşitli enzim sistemlerinin örneğin, α -amilaz (David Ho 1993), Proteaz (Leo ve Sacher 1970) ve RNA polimeraz (Mondal ve Biswas 1972) sentezini ve aktivitesini engellemektedir. Ancak, ribonükleaz ve asit fosfataz aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Leo ve Sacher 1970). Ayrıca, ABA'nın ribozomal RNA (rRNA) sentezini stimüle ettiği de rapor edilmektedir (Hopson ve Wessells 1990).

1.3. Sitokininler

1.3.1. Sitokininlerin Tarihçesi, İzolasyonu, Kimyasal Özellikleri, Biyosentezi ve Fizyolojik Etkileri

1913 yılında Gottlieb Hoberland, çeşitli bitkilerin vasküler dokularında hücre bölünmesini uyaran bir bileşik keşfetmiştir. Bugün bu maddelere sitokinezi stimüle ettiğinden dolayı sitokininler adı verilmektedir. Doğal olarak meydana gelen sitokininler purinlerdir, özellikle adenin türevleridirler. Her sitokinin nükleosid veya serbest formda bulunmaktadır ki burada bir riboz grubu 9 pozisyonunda bir N grubuna bağlanır. Zeatin doğal sitokininler içinde en aktif olanıdır (Şekil 1.6) (Salisbury ve Ross 1992). Kimyasal ve biyolojik olarak 200'den fazla sitokinin olduğu bildirilmiştir (Matsubara 1990).

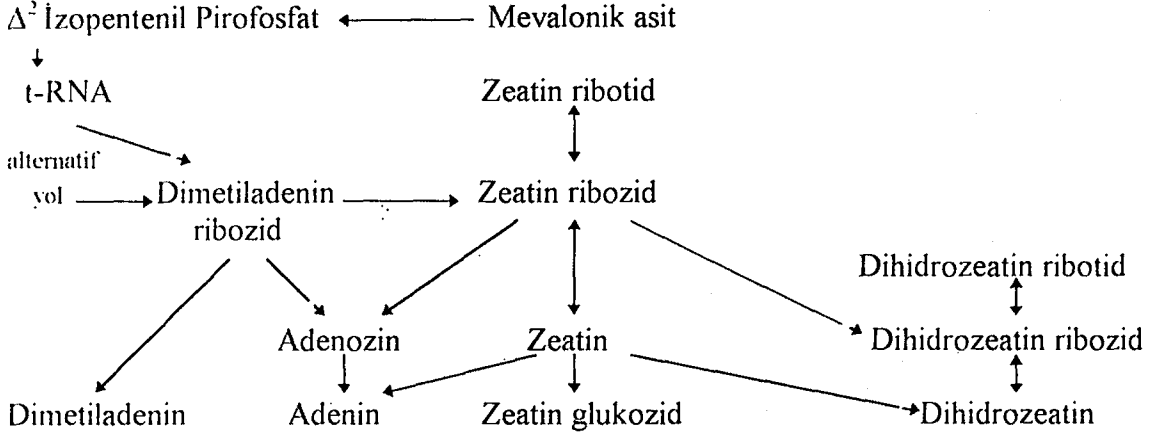


Şekil 1.6. Zeatin (Palavan-Ünsal 1993'den).

Sitokininlerin maksimum absorpsiyon dalga boyları 267-270 nm arasındadır (Nandi ve ark 1989). Çalışmada kullandığımız zeatin'in kapalı formülü $C_{10}H_{13}N_5O$ olup, molekül ağırlığı 219.2'dir. Zeatinin maksimum absorpsiyon dalga boyunun 269 nm olduğu rapor edilmektedir (Topcuoğlu ve Ünyayar 1995).

Sitokininler bitki dokusunda iki yoldan sentezlenir. İlk olarak sitokinin grupları içeren belirli t-RNA türlerinin hidrolizi ile, ikinci olarak adenin, adenin ribozid veya adenin ribotidin 6 numaralı karbon atomu üzerinde karakteristik yan zincirlerinin bağlanması ile meydana gelirler. Adenin ve bunun nükleosid ve nükleotit formları her zaman bitkilerde mevcuttur. Sitokininlerin yan zincirleri 5 karbon atomu içerir ve bu da sitokininlerin izopirenoid biyosentezinden meydana geldiklerini ortaya koyar. Doğal olarak meydana gelen bazı sitokininler bir sitokininin diğerine dönüşmesi ile de meydana gelmektedir (Şekil 1.7) (Palavan-Ünsal 1993).

Sitokininler bitkilerde hem glukoz ve alanin ile birleşerek hem de bozunma yolu ile inaktif olabilmektedirler. Bitkilerde sitokinin okside eden enzim (sitokinin oksidaz) ile sitokininlerin yan zincirlerindeki çift bağ okside edilerek, enzimatik bozunma da meydana gelmektedir (Palavan-Ünsal 1993).



Şekil 1.7. Doğal sitokininlerin metabolik olarak birbirine dönüşümleri (Palavan-Ünsal 1993).

Sitokininler, mitoz bölünme için gerekli proteinlerin aktivasyonu ya da sentezini etkileyerek mitoz bölünme ve sitokinezde (Young ve Letham 1969), translasyon ve post-transkripsiyonal aşamalarda direkt etki yaparak RNA, enzim ve protein sentezinin kontrolünde (Maab ve Klambt 1977, Szweykowska 1987) rol oynamaktadır. Sitokininler bazı bitkilerde çiçeklenmeyi teşvik etmekte (Palavan-Ünsal 1993, Applewhite ve ark. 1994), hücre genişlemesini (Salisbury ve Ross 1992) ve pateteste tuber oluşumunu (Staden ve Brown 1979) sağlamakta ve ayrıca antisenesens aktivitesi göstermektedirler (Dumbroff ve Walker 1979).

Çalışmamızda *Basidiomycetes* sınıfına giren beyaz-çürükçül funguslardan *Lentinus tigrinus* ve kahverengi-çürükçül funguslardan *Laetiporus sulphureus* kullanılmıştır. Tallusları hiflerden oluşmuştur. Hiflerin oluşturduğu örgü dokuya misel adı verilmektedir. Funguslar vejetatif ve eşeyli olarak üreyebilmektedirler. Vejetatif üremeleri konidiospor veya oidiosporlarla, eşeyli üremeleri ise basidiumlarda meydana gelen basidiosporlarla olmaktadır. Funguslar çok sayıda ve farklı karbon kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahiptirler. Fungus kullandığı besin maddelerini enerjiye, ısıya ve

daha fazla hücrenin oluşumunda gerekli olan bileşiklere çevirir. İşte üreme için gerekli olan bu bileşiklere primer metabolitler, bu olaya da primer metabolizma denilmektedir (Wiseman 1986). Bazı fungusların ürettiği primer metabolitlere etanol, sitrik asit, itakonik asit örnek olarak verilebilir. Sekonder metabolizma büyümenin olmadığı, durduğu fazdır ve bu fazda canlının fizyolojisinde önemli rolü olmayan metabolitler üretilmektedir (Bentley ve Bennett 1988). Endüstriyel öneme sahip olan toksinler, alkaloidler ve özellikle antibiyotikler sekonder metabolitlere örnek olarak verilebilir (Wiseman 1986, Berry 1988).

Fungus üretiminde substrat olarak endüstriyel atıklar (yağ, narenciye, hurma gibi besin endüstrisi, alkol fabrikası atığı, yıkama suları, balık endüstrisi atığı vb.) kullanıldığı gözönüne alınırsa, funguslardan GA_3 , ABA ve zeatin eldesinin, bitkilere oranla daha ekonomik olacağı açıktır. Ayrıca konu ile ilgili olarak, bazı bitki türlerinin tohumları hariç, bitkilerin diğer kısımlarında gibberellin düzeyinin *Fusarium*'ın kültür ortamındaki gibberellin düzeyine göre çok daha düşük olduğu (Harada ve Lang 1965) ve yine sekonder metabolit olarak funguslar tarafından üretilen ABA miktarının bitkilerden elde edilen ABA miktarına göre daha fazla olduğu da rapor edilmektedir (Assante ve ark. 1977). Yine, gibberellik asitlerin kimyasal üretiminin pratikte zor olduğu, bunun 20'den fazla biribirini izleyen reaksiyonu gerektirdiği ve reaksiyonların düşük ürün verimi ile sonuçlandığı da bildirilmektedir (Mander 1992). Bu durum diğer hormonlar için de söz konusu olabilir. Yıllık GA_3 üretiminin Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Avrupa Birliği ve İsrail'de yaklaşık 12 tonu bulunduğu (Mander 1991) ve market hacimlerinin her yıl yaklaşık 100 milyon Dolar (\$) civarında olduğu saptanmıştır (Rademacher 1994). Bu durum da biyoteknolojik olarak, özellikle atıkların değerlendirilmesi sonucu, funguslardan bitkisel hormonların eldesi oldukça önem kazanmaktadır.

Dünyada funguslardan bitkisel hormon eldesine ilişkin pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak, ülkemizde bu konu ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ülke ekonomisine katkıda bulunmak üzere, çeşitli tarımsal alanlarda kullanılabilirlik

özelliklerinden dolayı bitkisel hormonlardan GA_3 , ABA ve zeatin'in günümüze kadar konu ile ilgili olarak çalışılmamış funguslardan eldesine ilişkin çalışmalara ülkemizde de daha fazla yer verilmesi gereğine inanıyoruz.

Zeytinyağı fabrikası atığı, içerdiği düşük molekül ağırlıklı fenolik bileşenlerden dolayı toksik ve antibakteriyel etki göstermektedir (Yeşilada ve Fışkın 1996). Zeytinyağı fabrikası üniversitemizin bulunduğu Hatay ilinde çok sayıda bulunmakta ve fabrika atıkları direkt olarak çevreye verilmektedir. Bilindiği gibi, son yıllarda çevre kirleticilerinin yarattığı sorunlar giderek artmaktadır. Bu nedenle de, özellikle, atık maddelerin değerlendirilmesi çalışmaları günümüzde büyük önem kazanmıştır. Örneğin, zeytinyağı fabrikaları atığı ülkemizde özellikle Hatay ilinde büyük bir potansiyele sahiptir. Zeytinyağı atığı Hatay ilinde değerlendirilemediği gibi, atıldığı bölgenin kirlenmesine yol açmaktadır. Çevresel kirliliğin giderilmesinin ise önemli bir parasal maliyeti gerektirdiği de bilinmektedir. Bu nedenle de, zeytinyağı fabrikası atığının ekonomik değerlendirme şeklinin bulunması da önemlidir. Fungus üretiminde substrat kaynağı olarak zeytinyağı fabrikası atığının kullanılması hem çevre kirliliğinin önlenebileceğini ve hem de bu atığın ekonomik değerlendirme şeklini akla getirmekte, atık maddenin fungus üretiminde kullanılarak funguslardan hormon eldesi yönünden değerlendirilebilirliğinin saptanmasını da önemli kılmaktadır.

Tüm bunlar dikkate alındığında, ülke ekonomisine katkıda bulunmak üzere çeşitli tarımsal alanlarda kullanılabilir özelliklerinden dolayı bitkisel hormonlardan GA_3 , ABA ve zeatin'in funguslardan bir metabolit olarak üretiminin saptanmasında fungus çeşitliliğinin artırılması ve substrat kaynağı olarak zeytinyağı fabrikası atığının kullanılması ile de en ekonomik bir şekilde fungus üretimi yapılabilirliği çalışmalarının sürdürülmesi gereğine inanıyoruz.

İşte bu nedenlerle de, literatür bilgilerimize göre GA_3 , ABA ve zeatin üretimi hususunda dünyada henüz çalışılmamış olan ve zeytinyağı fabrikası atığı inkübasyon ortamında üretilen *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarında primer ya da sekonder bir metabolit olarak GA_3 , ABA ve zeatin'in tayini amacıyla bu "Yüksek Lisans Tez " çalışması yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Yüksek organizasyonlu bitkilerden başka funguslarında bitkisel hormonlardan gibberellin, absisik asit (ABA) ve sitokinin sentezlediklerine dair literatür bilgileri mevcuttur.

GA₃'ün, *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) (BORROW ve ark. 1955, HARADA ve LANG 1965, CROSS ve MYERS 1969, BRÜCKNER 1991, RADEMACHER 1992, HANSON ve WILLIS 1992, CİHANGİR ve AKSÖZ 1993) fungusundan başka, *Sphaceloma monihoticola*, *S. menthae*, *S. perseae*, *S. rhois*, *S. bidentis* (RADEMACHER 1992), *Agaricus bisporus* (PEGG 1973), *Aspergillus niger* (CİHANGİR ve AKSÖZ 1993), *Aspergillus ochraceus* ve *Penicillium funiculosum* (SELİM ve ark. 1985) ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 (TOPCUOĞLU ve ÜNYAYAR 1995) fungusları tarafından da üretildiği rapor edilmektedir. Ayrıca *Neurospora crassa*'da da (MUROYAMA ve NAKAMURA 1972) GA₃ benzeri aktivite saptanmıştır.

ABA'nın, *Cercospora rosicola* (ASSANTE ve ark 1977, NORMAN ve ark. 1988), *Cercospora cruenta* (HORGAN ve ark. 1983, BENNET ve ark. 1984, ORITANI ve YAMASHITA 1985), *Cercospora pini-densiflorae* (OKAMOTO 1988), *Ceratocystis coerulea* (KETTNER ve DÖRFFLING 1987), *Botrytis cinerea* (ASSANTE ve ark. 1977, MARUMO ve ark. 1982, TUOMI ve ark. 1993), *Schizophyllum commune* (JANITOR ve VIZAROVA 1994), *Penicillium italicum* (DÖRFFLING 1972), *Polyporus versicolor*, *Pleurotus ostreatus* (YEŞİLADA ve ark. 1990) ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 (TOPCUOĞLU ve ÜNYAYAR 1995) fungusları tarafından üretildiği bildirilmektedir.

Sitokininlerin, *Schizophyllum commune* (JANITOR ve VIZAROVA 1994), *Phanerochaete chrysosporium* ME446 (TOPCUOĞLU ve ÜNYAYAR 1995), *Taphrina cerasi* ve *T. deformans* (JOHNSTON ve TRIONE 1974), *Fusarium moniliforme* ve *F. culmorum* (STADEN ve NICHOLSON 1989), *Paxillus involutus* ve *Rhizopogon luteolus* (STRZELCZYK ve ark. 1985), *Laccaria bicolor* ve *Telephora terrestris* (KRAIGHER 1991) ve mikorizal funguslar (MILLER 1967, CRAFTS ve MILLER 1974, KAMPERT ve STRZELCZYK 1978) tarafından sentezlendiği rapor edilmektedir.

3. MATERYAL METOD

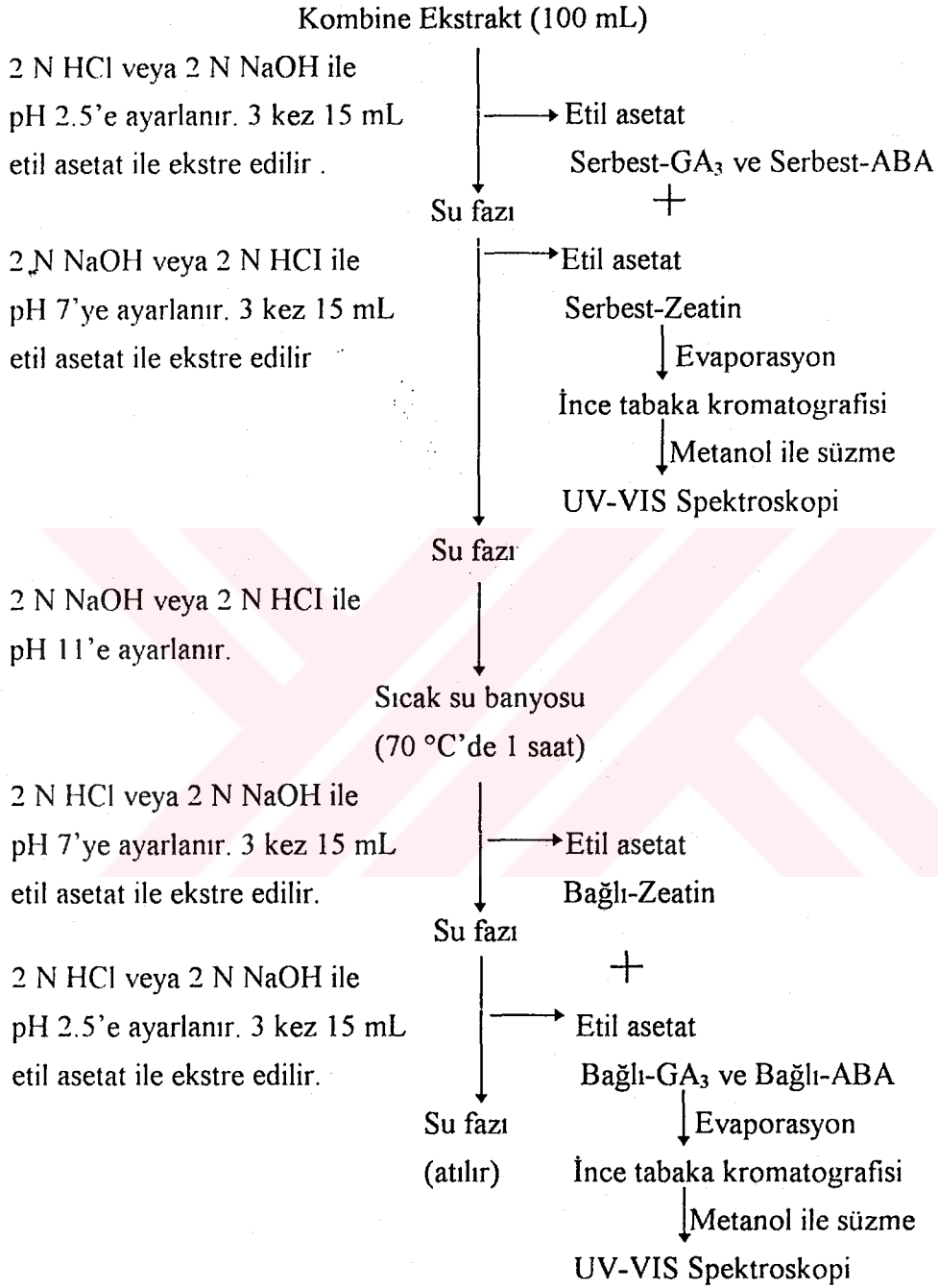
3.1. Kullanılan Funguslar ve Üretim Yöntemi

Çalışmamızda *Basidiomycetes* sınıfına giren beyaz-çürükçül funguslardan *Lentinus tigrinus* ve kahverengi-çürükçül funguslardan *Laetiporus sulphureus* kullanılmıştır. Bu funguslar İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarından sağlanmıştır.

Fungusların üretimi için saboraud glukoz agar ile hazırlanan yatık besiyerleri kullanılmıştır. Bu besiyerlerinde üretilen funguslar ekim tarihine kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır. Besiyeri olarak kullanılan zeytinyağı fabrikası atığı %10 sulandırılarak sterilizasyon için erlenmayerlere 100'er mL konulmuş ve 120 °C, 1 atm. basınçta otoklavda steril edilmiştir. Hazırlanan besiyerlerine fungusların ekimi 100 mL besiyerine 2.0 mL misel veya spor süspansiyonu olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* 30 °C'de statik olarak 24 gün inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri olarak kullanılan zeytinyağı fabrikası atığı bitkisel kaynaklı olduğu için atığın içerebileceği hormonları gözönüne almak için; besiyeri olarak kullanılan ve fungus ekilmemiş %10 sulandırılmış 100 mL'lik steril zeytinyağı fabrikası atığı besiyeri kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol grubu üç tekrarlı olarak hazırlanmıştır.

3.2. GA₃ , ABA ve Zeatin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Analiz İşlemleri

GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analizi için her iki fungusun inkübasyon süresinin 0 (1. saat), 1., 3., 6., 9., 12., 15., 18., 21. ve 24. günlerinde süzme işlemi ile 100'er mL hücre dışı kültür filtratı (örnek) alınmıştır. Inkübasyon süreleri fungusların primer ve sekonder metabolizma fazları kapsamındadır. Deneyler üçer tekrarlı olarak yapılmıştır. Kontrol grubu ve örneklerde GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve analiz işlemleri Topcuoğlu ve Ünyayar (1995) ve Ünyayar ve ark. (1996)'na göre yapılmıştır. *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus*'un hücre dışı kültür filtratlarındaki ve kontroldeki GA₃ , ABA ve zeatin ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında kullanılan yöntem sırası ile aşağıda olduğu gibi uygulanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Bitkisel Hormonlardan GA₃, ABA Ve Zeatin İçin Ekstraksiyon Şeması
(Topcuoğlu ve Ünyayar 1995).

Hücre dışı kültür filtratından Advantec (No: 6) filtre kağıdı ile süzülerek alınan her bir kültür ortamı ve kontrolden alınan filtrat (100 mL) 150 mL'lik kapaklı, kahverengi şişelere konularak etiketlenmiştir. Her bir örnek şişesinin içine antioksidant olarak 1 mg/100 mL BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) konulmuştur. Böylece, saflaştırma işlemine hazır kombine ekstraktlar (100 mL) elde edilmiştir. Daha sonra, bu şişeler -80 °C'de derin dondurucuda bir hafta süre ile saklanmıştır.

I. Her bir kombine ekstraktın pH'sı 2 N HCl veya 2 N NaOH kullanılarak 2.5'e ayarlanmıştır.

II. 100 mL'lik cam ekstraksiyon balonları hazırlanmıştır. Bunun için, ekstraksiyon balonları etil asetat ile çalkalanarak temizlenmiş ve ağzıları açık kalacak şekilde dış tarafı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Dik durabilmesi için de uygun plastik kaplara yerleştirilmiştir.

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

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 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 yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise daha önceden hazırlanan ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

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

VI. Serbest -zeatin ekstraksiyonu için, beherde kalan su fazının pH'sı 2 N NaOH veya 2 N HCl kullanılarak 7'ye ayarlanmıştır.

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 fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise serbest-GA₃ ve ABA içeren aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

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 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 yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise serbest-GA₃, -ABA ve -zeatin içeren aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

IX. 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.

X. Beherlerde kalan su fazlarının pH'sı 2 N NaOH veya 2 N HCl kullanılarak 11'e ayarlanmıştır.

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.

XII. Bir saat sonra beherler sıcak su banyosundan çıkarılmış ve içlerindeki su fazlarının pH'sı 2 N HCl veya 2 N NaOH kullanılarak 7'ye ayarlanmıştır.

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 fazlarının homojen bir şekilde birbirine karıştırılması ve böylelikle su fazındaki zeatin'in etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı daha önce hazırlanan ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

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 yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

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

XVI. Bağlı-GA₃ ve -ABA ekstraksiyonu için, beherde kalan su fazının pH'sı 2 N HCl veya 2 N NaOH kullanılarak, 2.5'e ayarlanmıştır.

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 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 yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise bağlı-zeatin içeren ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

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 GA_3 ve ABA'nın etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra, dinlenme sırasında etil asetat ve su fazları birbirinden net olarak ayrılmıştır. Ayırma hunisindeki musluk yardımı ile, altta kalan su fazı bir behere, üstteki etil asetat fazı ise aynı ekstraksiyon balonuna alınmıştır.

XIX. XVIII tekrarlanmıştır. Böylece, 3 kez ekstraksiyon sonucu ekstraksiyon balonuna alınan bu etil asetat fazları içindeki GA_3 ve ABA, bağlı- GA_3 ve -ABA'dır.

XX. Beherlerde kalan su fazları atılmıştır.

3.3. Evaporasyon İşlemleri

Ekstraksiyon balonlarında bulunan hem sulu kültür ortamı (hücre dışı kültür filtratı) hem de kontrol filtratlarındaki serbest- GA_3 , -ABA ve -zeatin ve bağlı- GA_3 , -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 örneklerin ince tabaka kromatografisi işlemleri yapılmıştır.

3.4. İnce Tabaka Kromatografisi İşlemleri

1. İnce tabaka kromatografisi cam plakaları (20 x 20 cm) inorganik bir floresans bileşik içeren silikajel GF₂₅₄ (Merck) ile 0.25 mm kalınlığında kaplandıktan sonra aktivasyonu için 100 °C'de 1 saat etüv içerisinde kurutulmuştur.

2. Cam plakalar, kenarlarından 2 mm kazınarak GA_3 , ABA ve zeatin karışımı ekstraktın bant halinde ve 10^{-2} M standart sentetik - GA_3 (Sigma G-7645), -ABA (Sigma A-7383) ve -zeatin'in (Sigma Z-0164) nokta halinde uygulanabileceği şekilde iki bölüme ayrılmıştır.

3. Ekstraksiyon balonlarında bulunan GA_3 , 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 - GA_3 , -ABA ve -zeatin üstüste gelecek şekilde sırası ile ikişer damla uygulanmıştır.

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

3.5. *GA₃ , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Ultraviyole (UV) Işığında Belirlenmesi*

GA₃ , ABA ve zeatin bölgelerinin belirlenebilmesi için plakalar karanlık odada 254 nm dalga boyundaki UV ışığında incelenmiştir. Plaka üzerinde 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 ABA ve zeatin bölgelerinin aynı Rf değerini verdiği gözlemlendi. Örneklerdeki GA₃ bölgelerinin UV ışığında belirlenebilmesi için plaka üzerinde standart sentetik-GA₃'ün uygulandığı bölüme %5 konsantre H₂SO₄ içeren etanol çözeltisi 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.

3.6. *GA₃ , ABA ve Zeatin Bölgelerinin Kazınması ve Silikajelden Çözünmesi İşlemleri*

UV ışığında belirlenen GA₃ , ABA ve zeatin bölgeleri standart sentetik -GA₃ , -ABA ve -zeatin bölgelerinin altından ve üstünden geçen birer çizgi ile işaretlenmiştir. Cam plakalar üzerindeki işaretli GA₃ , ABA ve zeatin bölgelerini içeren silikajel uygun bir kazıyıcı yardımı ile 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 GA₃ , ABA ve zeatin 10 mL'lik etiketli cam tüplere alınmıştır. Cam tüpler içindeki metanol bir vantilatör karşısında uçurularak, serbest- ve bağlı-GA₃ , -ABA ve -zeatin saf olarak elde edilmiştir. İçinde kuru ve saf halde GA₃ , ABA ve zeatin ekstraktı bulunan cam tüpler alüminyum folyoya sarılarak UV-VIS spektrofotometre aletinde okuyuncaya kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.7. GA_3 , ABA ve Zeatin Miktarlarının Spektrofotometre Tekniği ile Tayini

Her iki fungus için hücre dışı kültür filtratlarından ve kontrol filtratından GA_3 , ABA ve zeatin ekstraksiyonu ve saflaştırılması toplam 57 adet örnekte yapılmıştır. Elde edilen GA_3 ekstraktı 254 nm dalga boyunda, ABA ekstraktı 263 nm dalga boyunda ve zeatin ekstraktı 269 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-2100S) aletinde köre karşı (kör = metanol) okunmuştur. GA_3 , ABA ve zeatin ekstraktlarının her biri 3'er mL metanolde çözülmüştür. GA_3 , ABA ve zeatin miktarları her biri için ayrı ayrı hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır (sırasıyla Şekil 3.2, 3.3 ve 3.4). Fungal-gibberellin, -absisik asit ve -sitokinin miktarları, standart sentetik- GA_3 , -ABA ve -zeatin'e eşdeğer olarak ifade edilmiştir.

3.8. Kuru Misel Ağırlığının (KMA) Tayini

Her iki fungus için kuru misel ağırlığının tayini Topcuoğlu ve Ünyayar (1995)'a göre sırası ile aşağıdaki gibi yapılmıştır.

a) Filtre kağıdı (Advantec No:6 blueband 110 mm) 65 °C'lik fırında 24 saat kurutularak içinde nem tutucu olarak silikajel bulunan desikatörde 2 saat bekletilmiştir.

b) Daha sonra filtre kağıdı hassas terazide (Shimadzu AEG-120) tartılarak darası alınmıştır.

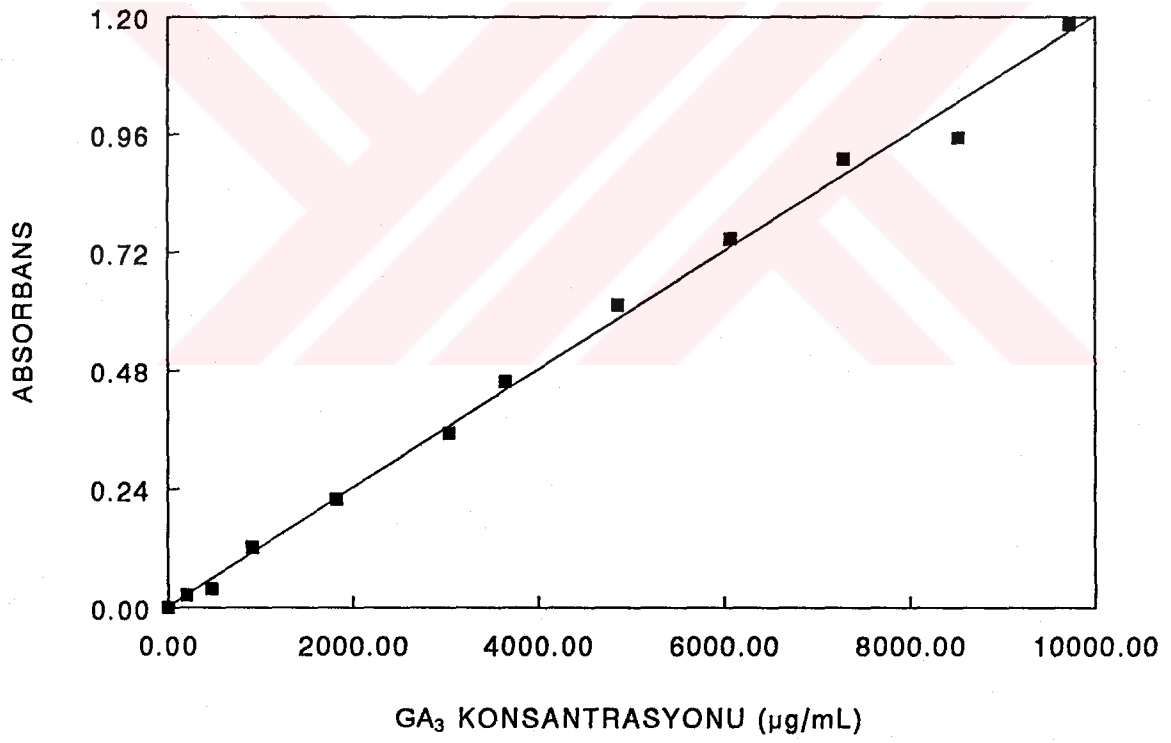
c) Kültür ortamları darası alınmış filtre kağıtlarından geçirilerek süzölmüştür.

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

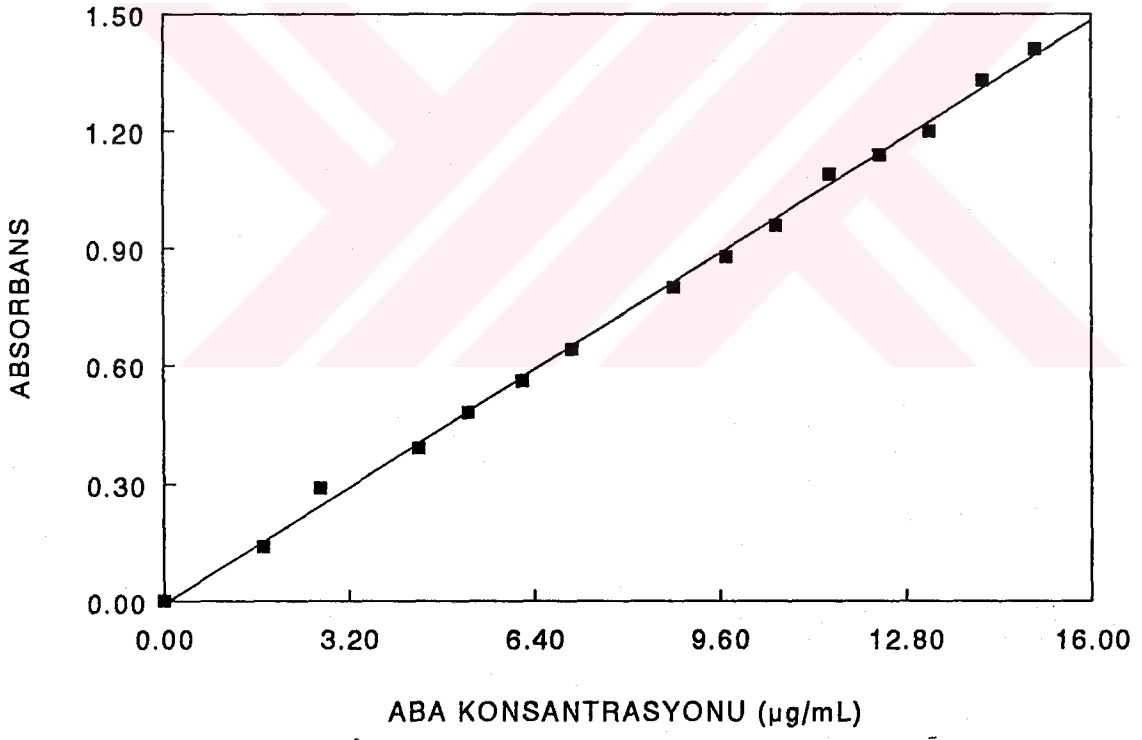
e) Kurutulan fungus miseli ve filtre kağıdı desikatöre konularak 2 saat bekletilmiştir.

f) 2 saat sonra desikatörden çıkarılan fungus miseli ve filtre kağıdı hassas terazide tartılmıştır.

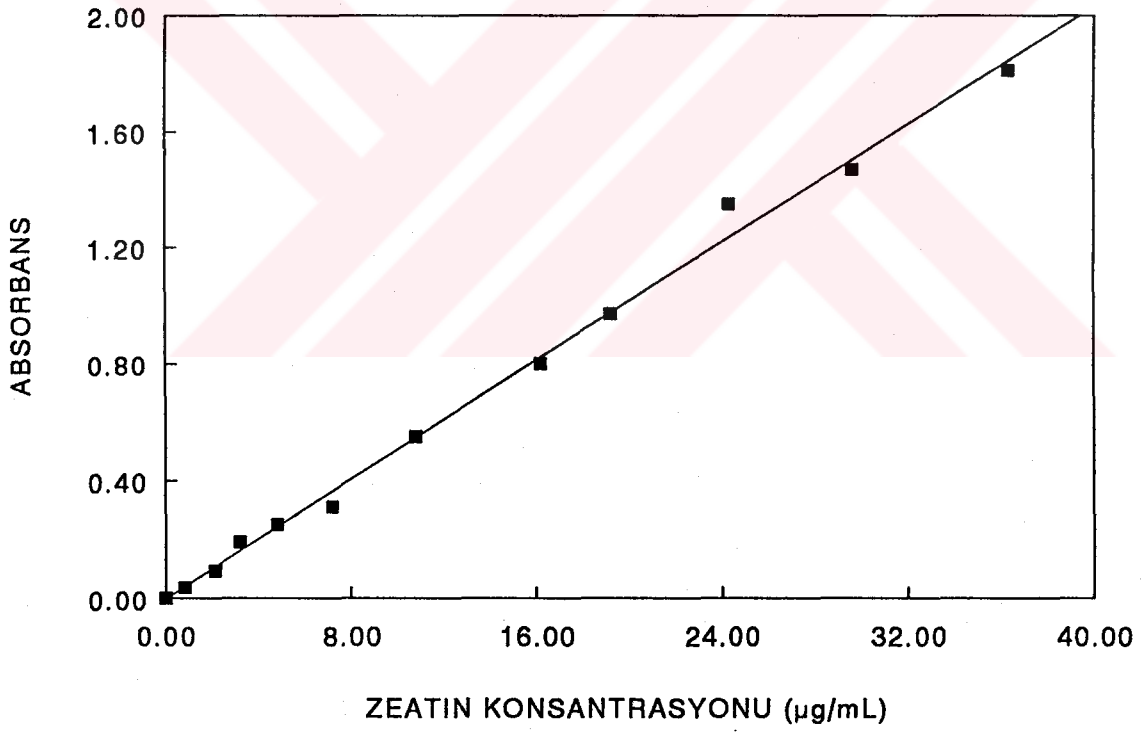
g) Fungus miseli ve filtre kağıdı ağırlığından filtre kağıdı dara ağırlığı çıkarılarak kuru misel ağırlığı (mg/100 mL) tayin edilmiştir.



Şekil 3.2. Spektrofotometre İle Kontrol ve Fungal Ekstraktlarda Gibberellin'in Kantitatif Tayininde Esas Alınan, 254 nm'deki Sentetik GA₃'ün Standart Eğrisi.



Şekil 3.3. Spektrofotometre İle Kontrol ve Fungal Ekstraktlarda Absisik Asit'in Kantitatif Tayininde Esas Alınan, 263 nm'deki Sentetik ABA'nın Standart Eğrisi.



Şekil 3.4. Spektrofotometre İle Kontrol ve Fungal Ekstraktlarda Sitokinin'in Kantitatif Tayininde Esas Alınan, 269 nm'deki Sentetik Zeatin'in Standart Eğrisi.

3.9. İstatistik Analizler

Verilerimizin özet bilgileri için ortalamalar ve standart hatalar hesaplanmıştır (Kutsal ve Muluk 1975). Gerekli karşılaştırmalar için varyans analizi yapılması uygun bulunmuştur. Sadece, *Laetiporus sulphureus*'ta serbest-ABA, *Lentinus tigrinus*'ta ise serbest- ve bağlı-ABA değerlerinde homojenite mevcut olduğu için parametrik analiz yöntemi uygulanmıştır. Diğer verilerde ise homojenite sağlanamadığından dolayı non-parametrik Kruskal-Wallis Rank analiz yöntemi uygulanmıştır. Gruplararası önemliliğin araştırılması Duncan testine göre yapılmıştır.

Yukarıdaki tüm işlemler için SPSS 6.0 (Haziran 1993 Aykut GÜL) paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmanın varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5. ve 4.6.'da gösterilmiştir. Ayrıca, fungus üretiminde besiyeri olarak kullanılan zeytinyağı fabrikası atığı bitkisel kaynaklı olduğu için atığın içerebileceği hormonlar gözönüne alınarak kontrol grubu olarak bu atıktan alınan numunelerde yapılan analiz sonucunda serbest-, bağı- ve toplam- GA_3 , -ABA ve -zeatin değerleri bulunmuştur. Çalışmada kullanılan fungus türlerinde kültür ortamında kültür periyoduna bağı olarak elde edilen serbest-, bağı- ve toplam- GA_3 , -ABA ve -zeatin eşdeğer miktarlarına bu değerler de dahildir.

Bulgularımızdaki toplam- GA_3 , -ABA ve -zeatin miktarları serbest- ve bağı- GA_3 , -ABA ve -zeatin miktarlarının toplamını ifade etmektedir.

4.1. *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağı Olarak Kuru Misel Ağırlığının ve Serbest-, Bağı- ve Toplam- GA_3 , -ABA ve -Zeatin Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlıklarının Değişimi

4.1.1. Kuru Misel Ağırlıklarının Değişimi

Lentinus tigrinus fungusunun kuru misel ağırlığı 1. saatte 4.90 mg/100 mL iken, inkübasyon periyodunun 1., 3., 6., 9. ve 12. günlerinde kültür periyoduna bağı olarak önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.7). 12. gündeki kuru misel ağırlığı tüm inkübasyon sürelerindeki kuru misel ağırlıklarına göre en yüksek düzeyde olup (64.13 mg/100 mL), kuru misel ağırlığında 12. güne göre 15. günde önemsiz, 18., 21. ve 24. günlerde ise önemli bir azalma saptanmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.7).

Laetiporus sulphureus fungusunun kuru misel ağırlığı 1. saatte 3.40 mg/100 mL iken, inkübasyon periyodunun 1., 3., 6., 9. ve 12. günlerinde kültür periyoduna bağı olarak önemli bir artış göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.8). 12. gündeki kuru misel ağırlığı tüm inkübasyon sürelerindeki kuru misel ağırlıklarına göre en yüksek düzeyde olup (51.03 mg/100 mL), kuru misel ağırlığında 12. güne göre 15. ve 18. günlerde önemsiz, 21. ve 24. günlerde ise önemli bir azalma saptanmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4.8).

Lentinus tigrinus için Çizelge 4.7 ve Şekil 4.1, *Laetiporus sulphureus* için Çizelge 4.8 ve Şekil 4.2'de kuru misel ağırlıkları incelendiğinde, her iki fungusunda 12. günde primer metabolizma fazını tamamlayarak sekonder metabolizma fazına girdiği anlaşılabacaktır. 12. günden itibaren kuru misel ağırlığının 24. güne kadar giderek bir azalma göstermesi, ortamda bulunan besin maddelerinin 12. günden itibaren giderek azalması sonucunda her iki fungusun üremesinin yavaşladığını akla getirmektedir.

Çizelge 4.1. *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* fungus türlerinde kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.

<i>Fungus Türü</i>	<i>GA₃ Formu</i>	<i>Khi-Kare</i>	<i>Serbestlik Derecesi</i>	<i>Önem Derecesi</i>
<i>Lentinus tigrinus</i>	SERBEST- GA_3	28.7419	9	0.0007
	BAĞLI- GA_3	25.9634	9	0.0021
	TOPLAM- GA_3	28.6731	9	0.0007
<i>Laetiporus sulphureus</i>	SERBEST- GA_3	28.2258	9	0.0009
	BAĞLI- GA_3	27.9333	9	0.0010
	TOPLAM- GA_3	27.9333	9	0.0010

Çizelge 4.2. *Lentinus tigrinus*'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.

<i>ABA Formu</i>	<i>Varyansın Kaynağı</i>	<i>SD</i>	<i>Kareler Toplamı</i>	<i>Kareler Ortalaması</i>	<i>F</i>	<i>ÖD</i>
SERBEST ABA	Gruplar Arası	9	23997.8166	2666.4241	47.2447	0.000
	Grup içi	20	1128.7729	56.4386		
	Toplam	29	25126.5895			
BAĞLI ABA	Gruplar Arası	9	3094.8067	343.8674	16.7602	0.000
	Grup içi	20	410.3381	20.5169		
	Toplam	29	3505.1448			

Çizelge 4.3. *Lentinus tigrinus*'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak toplam-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.

<i>ABA Formu</i>	<i>Khi-Kare</i>	<i>SD</i>	<i>ÖD</i>
TOPLAM-ABA	27.8559	9	0.0010

Çizelge 4.4. *Laetiporus sulphureus*'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.

<i>ABA Formu</i>	<i>Varyansın Kaynağı</i>	<i>SD</i>	<i>Kareler Toplamı</i>	<i>Kareler Ortalaması</i>	<i>F</i>	<i>ÖD</i>
SERBEST ABA	Gruplar Arası	9	4715.0011	523.8890	18.5109	0.000
	Grup içi	20	566.0342	28.3017		
	Toplam	29	5281.0353			

Çizelge 4.5. *Laetiporus sulphureus*'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak bağlı- ve toplam-ABA eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.

<i>ABA Formu</i>	<i>Khi-Kare</i>	<i>SD</i>	<i>ÖD</i>
BAĞLI-ABA	24.8452	9	0.0031
TOPLAM-ABA	26.2731	9	0.0018

Çizelge 4.6. *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* fungus türlerinde kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin eşdeğer miktarları için varyans analizi sonuçları.

<i>Fungus Türü</i>	<i>ZEATİN Formu</i>	<i>Khi-Kare</i>	<i>SD</i>	<i>ÖD</i>
<i>Lentinus tigrinus</i>	SERBEST-ZEATIN	28.1179	9	0.0009
	BAĞLI- ZEATIN	27.8772	9	0.0010
	TOPLAM- ZEATIN	28.4730	9	0.0008
<i>Laetiporus sulphureus</i>	SERBEST- ZEATIN	27.6363	9	0.0011
	BAĞLI- ZEATIN	27.7158	9	0.0011
	TOPLAM- ZEATIN	28.4042	9	0.0008

4.1.2. Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam- GA_3 Miktarlarının Değişimi

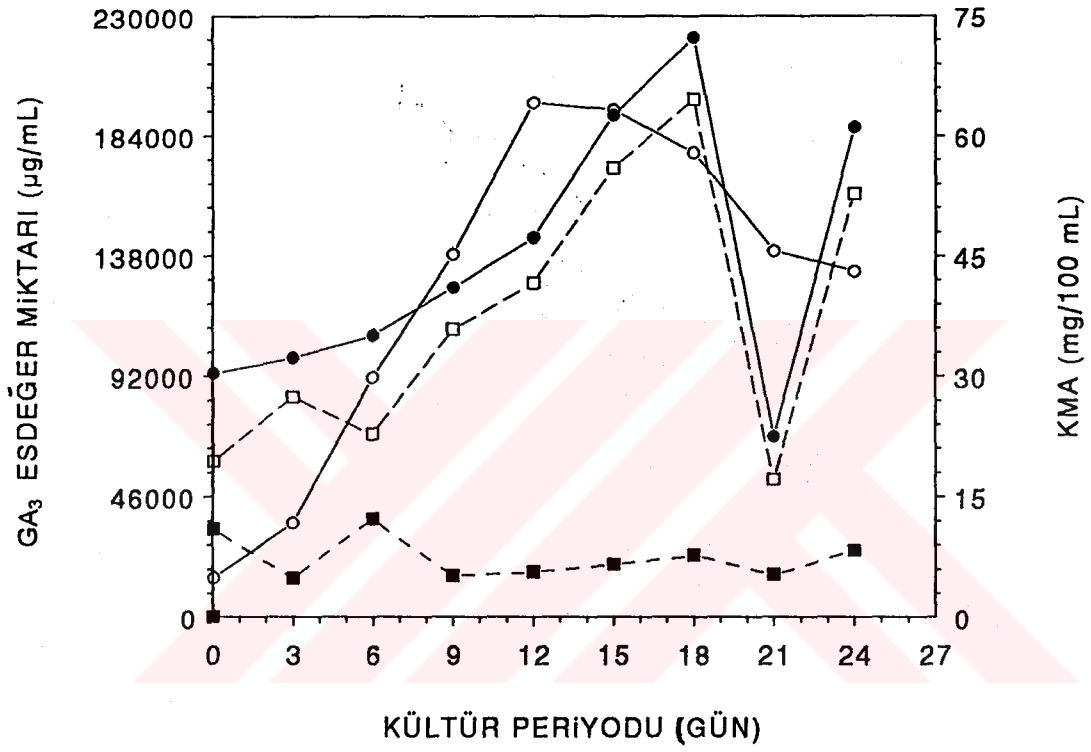
Lentinus tigrinus'ta kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarları, Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.1'den görüldüğü gibi, 1. saatte 59453.26 $\mu\text{g/mL}$ olan serbest- GA_3 miktarı 3. günde artış gösterirken, 6. günde aksine bir azalma göstererek 1. saatteki değerine yaklaşmıştır. Bağlı- GA_3 miktarı ise serbest- GA_3 'ün aksine 1. saatte 33441.61 $\mu\text{g/mL}$ iken 3. günde belirgin bir azalma göstermiş, 6. günde ise tekrar bir artış göstererek primer metabolizma fazının en yüksek değeri olarak saptanmıştır. Toplam- GA_3 miktarları incelendiğinde, 1. saatte 92894.87 $\mu\text{g/mL}$ iken, 3. ve 6. günlerde artış gözlenmiştir. 9. günde serbest- ve toplam- GA_3 miktarlarında devam eden bir artış saptanırken, bağlı- GA_3 miktarı azalma gösterip 3. gündeki değerine yaklaşmıştır. Sekonder metabolizma fazı başlangıcı olan 12. günde de serbest- ve toplam- GA_3 miktarlarındaki artış devam ederken, bağlı- GA_3 miktarının da yeniden artmaya başladığı saptanmıştır. 15. ve 18. günlerde ise her üç GA_3 formunda da artış devam etmiştir.

18. gündeki serbest- ve toplam-GA₃ değerlerinin sekonder metabolizma fazının en yüksek değerleri (sırası ile 197931.40 µg/mL, 221680.73 µg/mL) olduğu gözlenmiştir. Oysa, 21. günde her üç formdaki GA₃ miktarı önemli oranda bir azalma göstermiştir. Diğer taraftan, 24. günde serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları 21. güne göre önemli oranda bir artma göstererek 15. gündeki miktarlarına yaklaşıırken, bağlı-GA₃ miktarı sekonder metabolizma fazındaki en yüksek değerine ulaşmıştır (25537.71 µg/mL).

Çizelge 4.7.Lentinus tigrinus'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı (Değerler 3 tekrarın ortalaması ± standart hata olarak verilmiştir).

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	GA₃ EŞDEĞER MİKTARI (µg/mL)			KMA (mg/100mL)
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	
Kontrol	31473.38 ± 174.15	10236.37 ± 391.78	41709.76 ± 234.24	
1.saat	59453.26 ± 363.36	33441.61 ± 701.25	92894.87 ± 1036.10	4.90 ± 0.21
3	84034.82 ± 2498.48	14889.26 ± 2493.97	98924.08 ± 153.86	11.73 ± 0.49
6	69974.86 ± 2409.81	37460.37 ± 2782.33	107435.23 ± 511.72	29.83 ± 0.26
9	109924.63 ± 1702.81	15939.65 ± 1528.87	125864.27 ± 580.18	45.20 ± 0.49
12	127610.53 ± 815.28	17303.12 ± 477.22	144913.60 ± 367.90	64.13 ± 0.45
15	171690.17 ± 2549.14	20130.82 ± 188.09	191821.00 ± 2735.90	63.23 ± 0.13
18	197931.40 ± 13783.42	23749.32 ± 3470.82	221680.73 ± 12069.51	57.90 ± 0.12
21	52611.15 ± 371.54	16245.08 ± 302.88	68856.22 ± 672.89	45.63 ± 0.32
24	161801.50 ± 1488.61	25537.71 ± 578.47	187339.20 ± 910.21	43.10 ± 0.20



Şekil 4.1. *Lentinus tigrinus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-Bağlı- ve Toplam-GA₃ Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi.

□ □
Serbest-GA₃

■ ■
Bağlı-GA₃

● ●
Toplam-GA₃

○ ○
KMA

Lentinus tigrinus'tan elde edilen fungal toplam-GA₃ miktarları ile kontrol toplam-GA₃ miktarı, 18. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 1. saat, 3., 6., 9., 12., 15., 21. ve 24. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları, 24. ve 15. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları ile 21. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı, 12. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 9. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

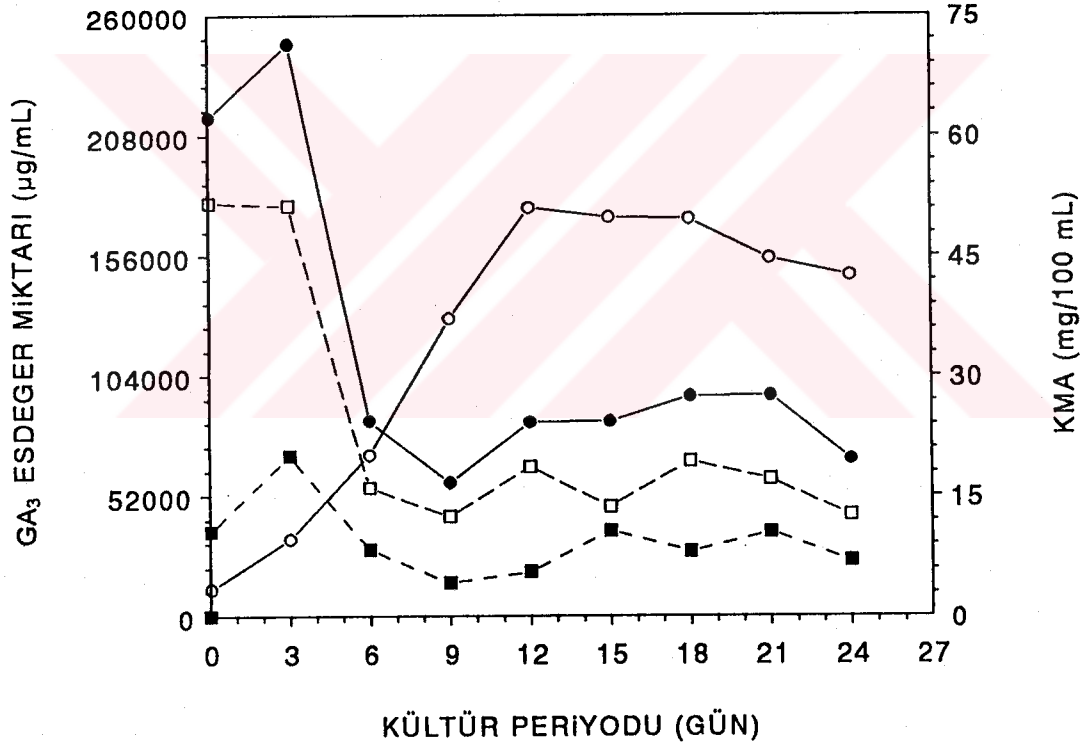
Laetiporus sulphureus'ta kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları, Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 ve Şekil 4.2'den görüldüğü gibi, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları 1. saatte sırası ile 36468.94 $\mu\text{g/mL}$ ve 215555.53 $\mu\text{g/mL}$ iken 3. günde artış göstermiştir.

Çizelge 4.8. *Laetiporus sulphureus*'ta kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ eşdeğer miktarları ve kuru misel ağırlığı (Değerler 3 tekrarın ortalaması $\pm$ standart hata olarak verilmiştir).

KÜLTÜR PERİYODU (GÜN)	GA₃ EŞDEĞER MİKTARI ($\mu\text{g/mL}$)			KMA (mg/100mL)
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	
Kontrol	31473.38 $\pm$ 174.15	10236.37 $\pm$ 391.78	41709.76 $\pm$ 234.24	
1. saat	179086.60 $\pm$ 1694.00	36468.94 $\pm$ 296.13	215555.53 $\pm$ 1429.24	3.40 $\pm$ 0.32
3	177971.47 $\pm$ 6590.34	69423.83 $\pm$ 10558.23	247395.27 $\pm$ 4347.21	9.60 $\pm$ 0.15
6	55569.10 $\pm$ 833.18	28830.64 $\pm$ 544.73	84399.73 $\pm$ 309.96	20.10 $\pm$ 0.10
9	43184.25 $\pm$ 2957.35	14555.41 $\pm$ 2156.46	57739.66 $\pm$ 1323.09	37.20 $\pm$ 0.15
12	64660.09 $\pm$ 772.11	19243.09 $\pm$ 170.59	83903.17 $\pm$ 616.54	51.03 $\pm$ 0.81
15	47374.92 $\pm$ 528.54	36883.81 $\pm$ 1200.15	84258.73 $\pm$ 691.53	49.87 $\pm$ 0.45
18	67128.10 $\pm$ 343.78	27999.39 $\pm$ 589.69	95127.48 $\pm$ 575.34	49.67 $\pm$ 0.30
21	59204.43 $\pm$ 394.28	36250.11 $\pm$ 243.92	95454.54 $\pm$ 447.00	44.70 $\pm$ 0.36
24	43712.62 $\pm$ 1029.09	24039.24 $\pm$ 478.00	67751.86 $\pm$ 574.42	42.56 $\pm$ 0.37

Oysa, 1. saatte 179086.60 $\mu\text{g/mL}$ olan serbest- GA_3 miktarında 3. günde az da olsa bir azalma gözlenmiştir. Diğer taraftan, her üç formdaki GA_3 miktarında hem 6. günde ve hem de 9. günde sürekli ve belirgin bir azalma saptanmıştır (sırasıyla 43184.25 $\mu\text{g/mL}$, 14555.41 $\mu\text{g/mL}$, 57739.66 $\mu\text{g/mL}$). Fungusun sekonder matabolizma fazına girdiği 12. günde her üç formdaki GA_3 miktarları belirgin bir artma göstermiş ve bu artış sonucunda her üç formdaki GA_3 miktarları sırasıyla 64660.09 $\mu\text{g/mL}$, 19243.09 $\mu\text{g/mL}$ ve 83903.17 $\mu\text{g/mL}$ 'ye ulaşmıştır. İnkübasyon süresinin 15., 18., 21. ve 24. günlerinde serbest-, bağlı- ve toplam- GA_3 miktarlarında az oranda da olsa artma ve azalmalar gözlenmiş olup, sekonder metabolizma fazında toplam- GA_3 bakımından en yüksek değer 21. günde saptanmıştır (95454.54 $\mu\text{g/mL}$).



Şekil 4.2. *Laetiporus sulphureus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam- GA_3 Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi.

□ □ ■ ■ ● ● ○ ○
Serbest- GA_3 Bağlı- GA_3 Toplam- GA_3 KMA

Laetiporus sulphureus'tan elde edilen fungal toplam-GA₃ miktarları ile kontrol toplam-GA₃ miktarı, 18. ve 21. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları ile 1. saat, 3., 9., 12. ve 24. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları, 6., 12. ve 15. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları ile 1.saat, 3., 9., 21. ve 24. günlerde elde edilen toplam-GA₃ miktarları, 1.saatte elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 3. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı, 9. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile 24. günde elde edilen toplam-GA₃ miktarı ile diğer inkübasyon günlerinde elde edilen toplam-GA₃ miktarları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır (P<0.05).

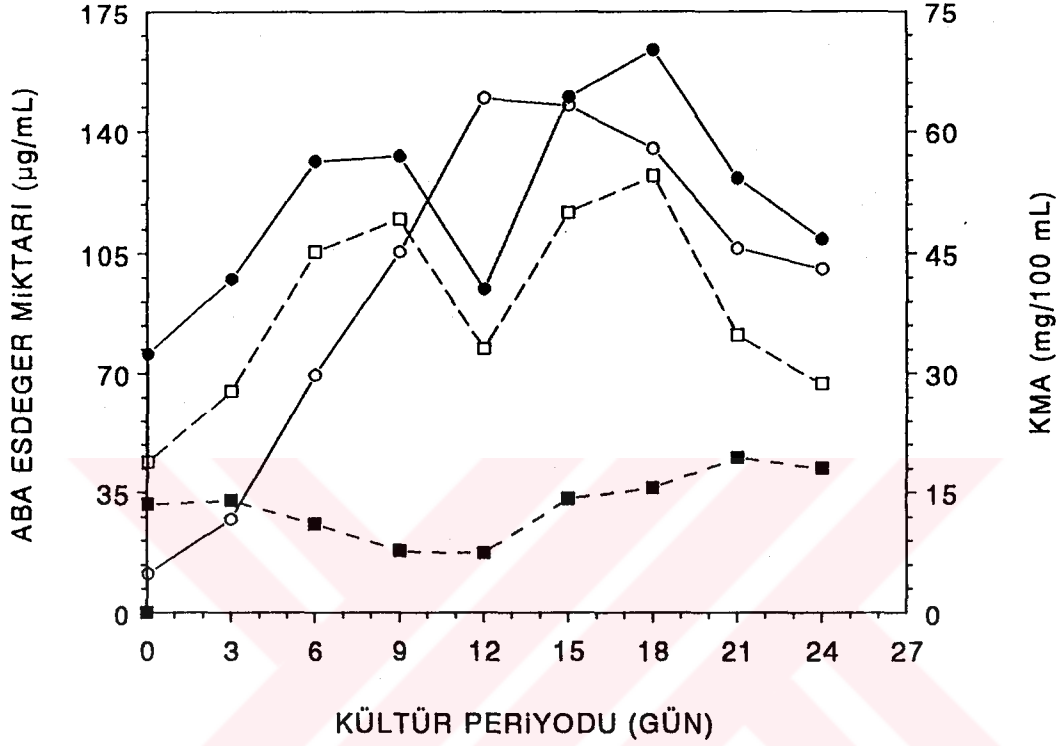
4.1.3. Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Miktarlarının Değişimi

Lentinus tigrinus'ta kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları, Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 ve Şekil 4.3'ten görüldüğü gibi, serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları 1.saatte sırası ile 43.99 µg/mL, 31.62 µg/mL ve 75.61 µg/mL iken, 3. günde bir artma göstermiştir. 6. ve 9. günlerde hem serbest- ve hem de toplam-ABA miktarları sürekli ve belirgin artmalar gösterirken, bağlı-ABA miktarı bir azalma göstermiştir. Her üç formdaki ABA miktarları 12. günde belirgin bir azalma, 15. günde ise aksine belirgin bir artma göstermiştir. 15.günde her üç formdaki ABA değerleri 9. gündeki değerlerinin üzerinde saptanmıştır. 18. günde de her üç formdaki ABA miktarları artmaya devam etmiş ve serbest- ve toplam-ABA bakımından sekonder metabolizma fazının ve tüm inkübasyon periyodunun en yüksek değerlerine ulaşılmıştır (sırasıyla 127.19 µg/mL, 163.57 µg/mL). 21. ve 24. günlerde ise 18. günün aksine serbest- ve toplam-ABA miktarları sürekli bir azalma gösterirken, bağlı-ABA miktarı 21. günde artmaya devam etmiş ve tüm inkübasyon periyodunun en yüksek değerine ulaşırken (45.24 µg/mL), 24. günde bir azalma göstererek 42.13 µg/mL'ye düşmüştür.

Çizelge 4.9. *Lentinus tigrinus*'ta kültür ortamında 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)	ABA EŞDEĞER MİKTARI ($\mu\text{g/mL}$)			KMA ($\text{mg}/100\text{mL}$)
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	
Kontrol	47.35 $\pm$ 1.53	13.50 $\pm$ 1.31	60.85 $\pm$ 0.80	
1.saat	43.99 $\pm$ 1.49	31.62 $\pm$ 2.05	75.61 $\pm$ 0.57	4.90 $\pm$ 0.21
3	64.85 $\pm$ 4.29	32.73 $\pm$ 2.63	97.58 $\pm$ 1.82	11.73 $\pm$ 0.49
6	105.53 $\pm$ 4.44	25.90 $\pm$ 2.78	131.43 $\pm$ 2.26	29.83 $\pm$ 0.26
9	114.84 $\pm$ 4.86	18.01 $\pm$ 4.38	132.85 $\pm$ 1.35	45.20 $\pm$ 0.49
12	77.22 $\pm$ 5.61	17.37 $\pm$ 3.70	94.59 $\pm$ 2.01	64.13 $\pm$ 0.45
15	116.68 $\pm$ 3.38	33.24 $\pm$ 2.19	149.92 $\pm$ 2.94	63.23 $\pm$ 0.13
18	127.19 $\pm$ 2.98	36.38 $\pm$ 2.39	163.57 $\pm$ 1.13	57.90 $\pm$ 0.12
21	81.27 $\pm$ 6.70	45.24 $\pm$ 1.31	126.51 $\pm$ 5.41	45.63 $\pm$ 0.32
24	66.97 $\pm$ 5.01	42.13 $\pm$ 1.61	109.10 $\pm$ 3.73	43.10 $\pm$ 0.20



Şekil 4.3. *Lentinus tigrinus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-Bağlı- ve Toplam-ABA Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi.

□ □ Serbest-ABA ■ ■ Bağlı- ABA ● ● Toplam- ABA ○ ○ KMA

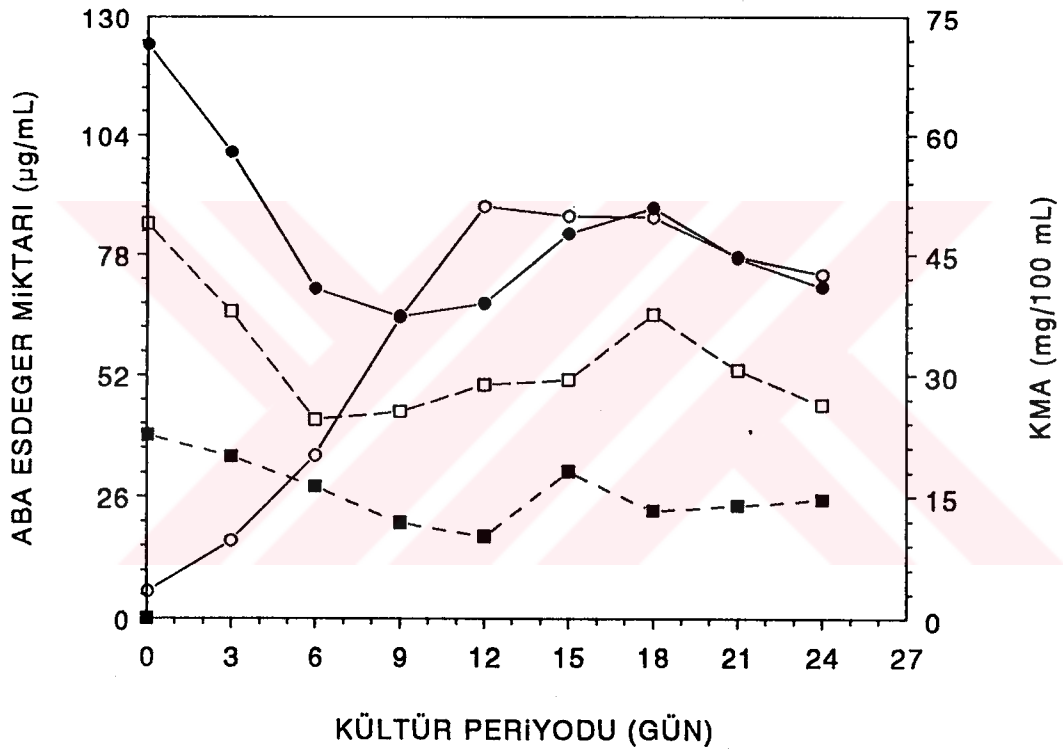
Lentinus tigrinus'tan elde edilen fungal toplam-ABA miktarları ile kontrol toplam-ABA miktarı, 18. günde elde edilen toplam-ABA miktarı ile 1. saat, 3., 15., 18., 21. ve 24. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları, 15. günde elde edilen toplam-ABA miktarı ile 6., 9. ve 21. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları, 1. saat, 15., 18. ve 24. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları ile 3. ve 12. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları ve diğer inkübasyon günlerinde elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Laetiporus sulphureus'ta kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 ve Şekil 4.4'ten görüldüğü gibi, 1. saatte her üç formdaki ABA miktarları için inkübasyon günlerinin en yüksek değerleri saptanmıştır (sırasıyla 84.82 $\mu\text{g/mL}$, 39.12 $\mu\text{g/mL}$, 123.96 $\mu\text{g/mL}$). 9. günde serbest-ABA hariç, 3., 6. ve 9. günlerde her üç formdaki ABA miktarlarında bir azalma görülürken, 12., 15. ve 18. günlerde serbest- ve toplam-ABA miktarları bir artış göstermiştir. 18. gündeki serbest-ABA (65.11 $\mu\text{g/mL}$) ve toplam-ABA (88.15 $\mu\text{g/mL}$) miktarları sekonder metabolizma fazının en yüksek değerleri olarak gözlenmiştir. Bağlı-ABA miktarı ise 12. günde bir azalma gösterirken, 15. günde bir artış göstererek sekonder metabolizma fazının en yüksek değeri olan 31.48 $\mu\text{g/mL}$ 'ye ulaşmıştır. Oysa, 18. günde bağlı-ABA miktarında önemli bir azalma saptanmıştır. 21. ve 24. günlerde ise serbest- ve toplam-ABA miktarlarında sürekli bir azalma gözlenirken, bağlı-ABA miktarında az da olsa artmalar görülmüştür.

Çizelge 4.10. *Laetiporus sulphureus*'ta kültür ortamında 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)	ABA EŞDEĞER MİKTARI ($\mu\text{g/mL}$)			KMA (mg/100mL)
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	
Kontrol	47.35 $\pm$ 1.53	13.5 $\pm$ 1.30	60.85 $\pm$ 0.79	
1. saat	84.82 $\pm$ 2.16	39.12 $\pm$ 0.02	123.96 $\pm$ 2.17	3.40 $\pm$ 0.32
3	65.73 $\pm$ 2.82	34.57 $\pm$ 4.52	100.30 $\pm$ 5.45	9.60 $\pm$ 0.15
6	42.78 $\pm$ 5.22	28.19 $\pm$ 4.14	70.67 $\pm$ 1.71	20.10 $\pm$ 0.10
9	44.16 $\pm$ 1.88	20.54 $\pm$ 1.29	64.71 $\pm$ 0.62	37.20 $\pm$ 0.15
12	49.92 $\pm$ 2.23	17.55 $\pm$ 0.39	67.46 $\pm$ 1.84	51.03 $\pm$ 0.81
15	51.06 $\pm$ 5.11	31.48 $\pm$ 3.85	82.54 $\pm$ 6.82	49.87 $\pm$ 0.45
18	65.11 $\pm$ 3.72	23.04 $\pm$ 1.61	88.15 $\pm$ 2.58	49.67 $\pm$ 0.30
21	53.11 $\pm$ 1.09	24.18 $\pm$ 0.59	77.29 $\pm$ 0.72	44.70 $\pm$ 0.36
24	45.64 $\pm$ 1.56	25.41 $\pm$ 1.78	71.05 $\pm$ 3.33	42.56 $\pm$ 0.37



Şekil 4.4. *Laetiporus sulphureus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-ABA Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi.

□ □
Serbest-ABA

■ ■
Bağlı- ABA

● ●
Toplam- ABA

○ ○
KMA

Kontrol grubu, 6., 9., 12. ve 24. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları ile 1. saat, 3., 15., 18. ve 21. günlerde elde edilen toplam-ABA miktarları, 1. saatte ve 3. günde elde edilen toplam-ABA miktarları ile diğer inkübasyon günlerinde elde edilen toplam-ABA miktarları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.05$).

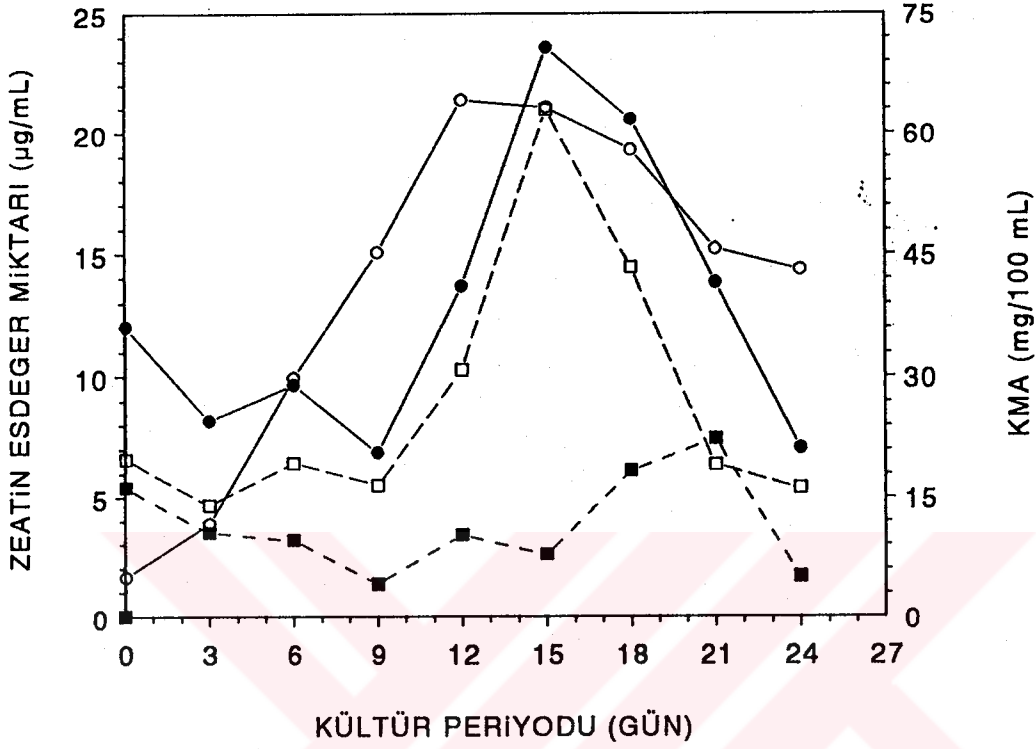
4.1.4. Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-Zeatin Miktarlarının Değişimi

Lentinus tigrinus'ta kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları, Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11 ve Şekil 4.5'ten görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-zeatin 6.62 $\mu\text{g/mL}$, bağlı-zeatin 5.42 $\mu\text{g/mL}$ ve toplam-zeatin 12.04 $\mu\text{g/mL}$ iken, inkübasyon periyodunun 3. gününde her üç zeatin formunda da bir azalma meydana gelmiştir. 6. günde ise serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında artma, bağlı-zeatin miktarında ise az da olsa bir azalma gözlenmiştir. Oysa, 9. günde her üç formdaki zeatin miktarlarında bir azalma saptanmıştır. Sekonder metabolizma fazının başlangıcı olan 12. günde ise her üç formdaki zeatin miktarları yaklaşık iki misli bir artış göstermiş, serbest-zeatin 10.27 $\mu\text{g/mL}$, bağlı-zeatin 3.41 $\mu\text{g/mL}$ ve toplam-zeatin 13.68 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Serbest- ve toplam-zeatin miktarlarındaki artış 15. günde de devam ederek tüm inkübasyon periyodunun en yüksek düzeylerine ulaşmıştır (sırasıyla 20.97 $\mu\text{g/mL}$, 23.56 $\mu\text{g/mL}$). 15. günde serbest- ve toplam-zeatin'in aksine bağlı-zeatin miktarında bir azalma olmuştur. 18., 21. ve 24. günlerde serbest- ve toplam-zeatin miktarları sürekli bir azalma gösterirken, bağlı-zeatin miktarı 18. ve 21. günde bir artma, 24. günde ise belirgin bir azalma göstermiştir. Inkübasyon periyodunun 24. gününde serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları sırasıyla, 5.40 $\mu\text{g/mL}$, 1.67 $\mu\text{g/mL}$ ve 7.07 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.11. *Lentinus tigrinus*'ta kültür ortamında 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/100mL)
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	
Kontrol	2.72 $\pm$ 0.03	0.44 $\pm$ 0.03	3.16 $\pm$ 0.02	
1.saat	6.62 $\pm$ 0.12	5.42 $\pm$ 0.06	12.04 $\pm$ 0.06	4.90 $\pm$ 0.21
3	4.68 $\pm$ 0.19	3.51 $\pm$ 0.26	8.19 $\pm$ 0.07	11.73 $\pm$ 0.49
6	6.46 $\pm$ 0.60	3.20 $\pm$ 0.04	9.66 $\pm$ 0.02	29.83 $\pm$ 0.26
9	5.52 $\pm$ 0.02	1.35 $\pm$ 0.04	6.88 $\pm$ 0.05	45.20 $\pm$ 0.49
12	10.27 $\pm$ 0.33	3.41 $\pm$ 0.23	13.68 $\pm$ 0.11	64.13 $\pm$ 0.45
15	20.97 $\pm$ 1.03	2.59 $\pm$ 0.17	23.56 $\pm$ 0.86	63.23 $\pm$ 0.13
18	14.45 $\pm$ 0.18	6.12 $\pm$ 0.47	20.57 $\pm$ 0.43	57.90 $\pm$ 0.12
21	6.38 $\pm$ 0.08	7.45 $\pm$ 0.42	13.83 $\pm$ 0.38	45.63 $\pm$ 0.32
24	5.40 $\pm$ 0.11	1.67 $\pm$ 0.15	7.07 $\pm$ 0.10	43.10 $\pm$ 0.20



Şekil 4.5. *Lentinus tigrinus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-Bağlı- ve Toplam-Zeatin Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi.

□ □ ■ ■ ● ——— ● ○ ——— ○
Serbest-zeatin Bağlı-zeatin Toplam-zeatin KMA

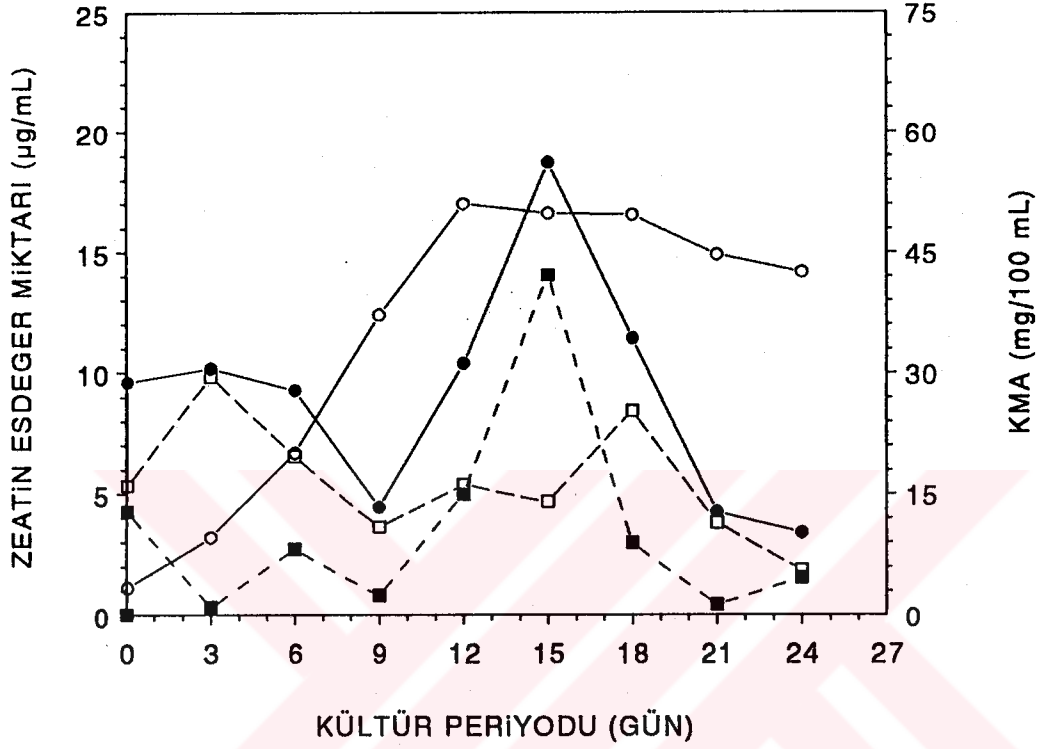
Lentinus tigrinus'tan elde edilen fungal toplam-zeatin miktarları ile kontrol toplam-zeatin miktarı, 3. günde elde edilen toplam-zeatin miktarı ile 6. günde elde edilen toplam-zeatin miktarı, 1. saatte elde edilen toplam-zeatin miktarı ile 9. ve 24. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları, 12. ve 24. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile diğer inkübasyon günlerinde elde edilen toplam-zeatin miktarları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Laetiporus sulphureus'ta kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları, Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12 ve Şekil 4.6'dan görüldüğü gibi, 1. saatte serbest-zeatin miktarı 5.34 $\mu\text{g/mL}$, bağlı-zeatin miktarı 4.25 $\mu\text{g/mL}$ ve toplam-zeatin miktarı ise 9.59 $\mu\text{g/mL}$ iken 3.günde serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında artma, bağlı-zeatin miktarında ise belirgin bir azalma gözlenmiştir. 6. ve 9. günlerde serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında belirgin bir azalma, bağlı-zeatin miktarında ise 6. günde artma, 9. günde ise yine belirgin bir azalma saptanmıştır. Sekonder metabolizma fazının başlangıcı olan 12. günde ise her üç formdaki zeatin miktarları belirgin artmalar göstermiştir. 15. günde serbest-zeatin miktarı az da olsa bir azalma gösterirken, bağlı- ve toplam-zeatin miktarlarında belirgin artmalar saptanmıştır. Bağlı-zeatin (14.05 $\mu\text{g/mL}$) ve toplam-zeatin (18.73 $\mu\text{g/mL}$) miktarları tüm inkübasyon periyodunun en yüksek değerleri olarak gözlenmiştir. 18. günde ise 15. günün aksine bağlı- ve toplam-zeatin miktarları belirgin azalmalar gösterirken, serbest-zeatin miktarı belirgin bir artma göstermiş ve elde edilen değer (8.44 $\mu\text{g/mL}$) sekonder metabolizma fazının en yüksek değeri olduğu gözlenmiştir. 21. ve 24. günlerde ise serbest- ve toplam-zeatin miktarları sürekli belirgin azalmalar gösterirken, bağlı-zeatin miktarında 21. günde azalma, 24. günde ise 21. güne göre bir artma saptanmıştır.

Çizelge 4.12. *Laetiporus sulphureus*'ta kültür ortamında 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 ($\text{mg}/100\text{mL}$)
	SERBEST-	BAĞLI-	TOPLAM-	
Kontrol	2.72 $\pm$ 0.03	0.44 $\pm$ 0.04	3.16 $\pm$ 0.02	
1.saat	5.34 $\pm$ 0.05	4.25 $\pm$ 0.19	9.59 $\pm$ 0.25	3.4 $\pm$ 0.32
3	9.84 $\pm$ 0.19	0.33 $\pm$ 0.19	10.17 $\pm$ 0.03	9.6 $\pm$ 0.15
6	6.55 $\pm$ 0.05	2.72 $\pm$ 0.08	9.27 $\pm$ 0.02	20.1 $\pm$ 0.1
9	3.63 $\pm$ 0.15	0.81 $\pm$ 0.50	4.44 $\pm$ 0.11	37.2 $\pm$ 0.15
12	5.39 $\pm$ 0.71	4.99 $\pm$ 0.70	10.38 $\pm$ 0.12	51.03 $\pm$ 0.81
15	4.68 $\pm$ 0.35	14.05 $\pm$ 0.29	18.73 $\pm$ 0.07	49.87 $\pm$ 0.45
18	8.44 $\pm$ 0.16	2.98 $\pm$ 0.13	11.42 $\pm$ 0.07	49.67 $\pm$ 0.3
21	3.81 $\pm$ 0.20	0.44 $\pm$ 0.13	4.25 $\pm$ 0.07	44.7 $\pm$ 0.36
24	1.86 $\pm$ 0.09	1.53 $\pm$ 0.27	3.39 $\pm$ 0.17	42.56 $\pm$ 0.37



Şekil 4.6. *Laetiporus sulphureus*'ta Kültür Ortamında Kültür Periyoduna Bağlı Olarak Serbest-, Bağlı- ve Toplam-Zeatin Eşdeğer Miktarlarının ve Kuru Misel Ağırlığının Değişimi.

□ □ Serbest-zeatin ■ ■ Bağlı-zeatin ● ● Toplam-zeatin ○ ○ KMA

Kontrol grubu ve 24. günde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile 9. ve 21. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları, 1.saat ve 6. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile 3. ve 12. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları, 15. ve 18. günlerde elde edilen toplam-zeatin miktarları ile diğer inkübasyon günlerinde elde edilen toplam-zeatin miktarları arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatür bilgilerimize göre, *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus*'ta bitkisel hormonlardan GA₃, ABA ve zeatin'in sentezi, izolasyonu ve miktar tayini ve bu fungusların üretiminde besiyeri olarak zeytinyağı fabrikası atığının kullanılması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu nedenle de, her iki fungusta da primer ya da sekonder bir metabolit olarak GA₃, ABA ve zeatin'in sentezi, izolasyonu ve miktar tayini, en yüksek düzeyde GA₃, ABA ve zeatin'in elde edilebileceği fungus türlerinin belirlenmesine ve seçimine katkı getirebilmek ve ayrıca, fungus üretiminde substrat kaynağı olarak zeytinyağı fabrikası atığı kullanılarak hem çevre kirliliğinin önlenileceğinin ve hem de en ekonomik bir şekilde fungus üretiminin yapılabilirliğinin dolayısıyla bu bağlamda, bu atığın ekonomik değerlendirme şeklinin belirlenmesinin gösterilmesi amacı ile bu çalışma yapılmıştır. Ayrıca, 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.

Lentinus tigrinus ve *Laetiporus sulphureus* funguslarında kültür periyoduna bağlı olarak kuru misel ağırlıklarındaki değişimler incelendiğinde (Çizelge 4.7 ve 4.8); her iki fungusta da kuru misel ağırlığının ilk 12 gün süresince devamlı ve belirgin olarak arttığı, *Lentinus tigrinus*'ta 15. gün, *Laetiporus sulphureus*'ta ise 15. ve 18. günlerde hemen hemen 12. günlerindeki değerlerinde kaldığı ve takip eden diğer kültür periyotlarında ise devamlı ve belirgin azalmalar gösterdiği anlaşılabacaktır. Her iki fungusta da kültür periyoduna bağlı olarak kuru misel ağırlıklarındaki bu değişimler dikkate alındığında, her iki fungusunda ilk 12 gün süresince primer metabolizma fazında olduğunu ve 12. günde sekonder metabolizma fazına girdiğini söyleyebiliriz.

Lentinus tigrinus'ta kontrol grubu ve kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.1); 1. saatte fungal- serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları kontrol değerlerinden daha yüksek bulunmuştur (P<0.05). Primer metabolizma fazının 1. saatinde hem serbest-

ve hem de bağı-GA₃ miktarlarının birlikte belirgin bir artma göstermesi yeni GA₃ sentezinin olduğu fikrini vermektedir. 3. günde ise serbest- ve toplam-GA₃ miktarları artmaya devam ederken bağı-GA₃ miktarında bir azalma meydana gelmiştir. 3. gündeki serbest- ve bağı-GA₃ miktarları incelendiğinde, 1. saate göre 3. gündeki serbest-GA₃ miktarındaki artışın yaklaşık bağı-GA₃ miktarındaki azalış kadar olduğu görülecektir. Bu da bize, 3. günde yeni GA₃ sentezinin olmadığını, serbest-GA₃ miktarındaki artışın GA₃'ün bağı formunun serbest hale geçmesinin bir sonucu olduğunu akla getirmektedir. Oysa, 6. günde 3. günün aksine serbest-GA₃ miktarında azalma, bağı- ve toplam-GA₃ miktarlarında ise artma meydana gelmiştir. Serbest- ve bağı-GA₃ miktarlarındaki azalma ve artma oranları dikkate alındığında, bağı-GA₃ miktarındaki artışın GA₃'ün metabolitlerine yıkılmadan çok serbest formunun bağı hale geçmesinin bir sonucu olduğunu ve az da olsa yeni GA₃ sentezinin meydana geldiğini ifade etmektedir. 9. günde 6. güne göre serbest- ve toplam-GA₃ miktarları belirgin bir artma göstererek 3. gündeki değerlerinin üzerine çıkmıştır. Oysa, bağı-GA₃ miktarı aksine belirgin bir azalma göstererek 3. gündeki değerine düşmüştür. Gerek 9. gündeki gerekse 3. ve 6. günlerdeki serbest-, bağı- ve toplam-GA₃ miktarları dikkate alındığında, 9. günde serbest-GA₃ miktarındaki bir kısım artışın GA₃'ün bağı formunun serbest hale geçmesinin bir sonucu olduğunu ve yeni GA₃ sentezi oluşunun devam ettiğini akla getirmektedir. Kültür periyodunun 12., 15. ve 18. günlerinde her üç formdaki GA₃ miktarları devamlı ve belirgin artışlar göstermiştir ($P<0.05$). Kültür periyodunun bu günlerinde hem serbest- ve hem de bağı-GA₃ miktarlarının birlikte belirgin bir artma göstermesi yeni GA₃ sentezinin olduğu fikrini vermektedir. 21. günde ise 12., 15. ve 18. günlerin aksine her üç formdaki GA₃ miktarlarının belirgin bir azalma göstermesi ($P<0.05$), 21. günde yeni GA₃ sentezinin olmadığını aksine, mevcut GA₃'ün bir kısmının metabolitlerine yıkıldığını akla getirmektedir. 24. günde her üç formdaki GA₃ miktarlarında belirgin artmaların gözlenmesi ($P<0.05$), kültür periyodunun bu gününde yeni GA₃ sentezinin meydana geldiğini düşündürmektedir.

Lentinus tigrinus fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kontrol ve fungal her üç formdaki GA₃ miktarları ve hem de kuru misel ağırlığındaki değişim birlikte incelendiğinde (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.1); kültür periyodunun 3. ve 21. günleri hariç, diğer tüm günlerinde yeni GA₃ sentezinin olduğu, GA₃'ün primer metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezinin fungusun sekonder metabolizma fazında olduğu görülmektedir.

Laetiporus sulphureus'ta kontrol grubu ve kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.2); 1. saatte fungal-serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları kontrol değerlerinden oldukça yüksek düzeylerde bulunmuştur ($P<0.05$). Primer metabolizma fazının 1. saatinde hem serbest- ve hem de bağlı-GA₃ miktarlarının birlikte belirgin bir artma göstermesi yeni GA₃ sentezinin olduğu fikrini vermektedir. 3. günde ise serbest-GA₃ miktarı çok az bir azalma gösterirken, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarlarında belirgin artışlar gözlenmiştir ($P<0.05$). 3. günde elde edilen serbest-, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarları dikkate alındığında, serbest-GA₃'teki azalmanın bağlı forma dönüşümünün bir sonucu olabileceğini ve yeni GA₃ sentezinin meydana geldiğini akla getirmektedir. 6. ve 9. günlerde ise her üç formdaki GA₃ miktarları devamlı ve belirgin azalmalar göstermiştir ($P<0.05$). Yine de 9. gündeki değerler kontrol grubu değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bu da bize, 6. ve 9. günlerde 1. saat ve 3. günde yeni sentezinden dolayı mevcut GA₃'ün bir kısmının metabolitlerine yıkıldığı fikrini vermektedir. 12. günde 6. ve 9. günlerin aksine her üç formdaki GA₃ miktarlarında yine belirgin artmalar saptanmıştır ($P<0.05$). 12. günde hem serbest- ve hem de bağlı-GA₃'ün birlikte belirgin artmalar göstermesi yeni GA₃ sentezinin olduğunu akla getirmektedir. 15. günde ise serbest-GA₃ miktarı azalma gösterirken, bağlı- ve toplam-GA₃ miktarlarında artmalar bulunmuştur. Ancak, serbest- ve bağlı-GA₃ miktarları incelendiğinde, serbest-GA₃'teki azalmanın bağlı-GA₃'teki artma kadar olduğunu göstermektedir. Bu da bize serbest-GA₃'teki azalmanın metabolitlerine yıkılmadan çok bağlı forma dönüşümünün bir sonucu olduğunu ve yeni GA₃ sentezinin

olmadığını ifade etmektedir. 18. günde 15. günün aksine serbest- ve toplam- GA_3 miktarlarında bir artma, bağlı- GA_3 miktarında ise bir azalma saptanmıştır. Serbest- ve bağlı- GA_3 miktarlarındaki artma ve azalma oranları ve toplam- GA_3 miktarı dikkate alındığında, bir kısım bağlı- GA_3 'ün serbest hale geçtiği ve yeni GA_3 sentezinin olduğu fikrini vermektedir. Oysa, 21. günde 18. güne göre toplam- GA_3 miktarı sabit kalırken, serbest- ve bağlı- GA_3 miktarları aksine aynı oranda sırasıyla azalma ve artma göstermiştir. Bu da bize, 21. günde serbest- GA_3 'ün metabolitlerine yıkılmadan çok bağlı forma dönüştüğünü, yeni GA_3 sentezinin olmadığını ifade etmektedir. 24. günde ise her üç formdaki GA_3 miktarları belirgin azalmalar göstermiş olup ($P<0.05$), bu da bize, GA_3 'ün metabolitlerine yıkıldığı ve yeni GA_3 sentezinin olmadığı fikrini vermektedir.

Laetiporus sulphureus fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kontrol ve fungal her üç formdaki GA_3 miktarları ve hem de kuru misel ağırlığındaki değişim birlikte incelendiğinde (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.2); kültür periyodunun 1. saatinde, 3., 12. ve 18. günlerinde yeni GA_3 sentezinin olduğu, GA_3 'ün sekonder metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezinin fungusun primer metabolizma fazında olduğu görülmektedir.

Hem *Lentinus tigrinus* ve hem de *Laetiporus sulphureus*'da GA_3 sentezinin sekonder metabolizma fazında olması, gibberellinlerin sekonder bir metabolit olduğu literatür bilgisi (Ratledge 1992, Palavan-Ünsal 1993, Topcuoğlu ve Ünyayar 1995) ile uyum göstermektedir. Ancak her iki fungusta da GA_3 sentezinin primer metabolizma fazında da olduğu akla getirilirse, GA_3 'ün ayrıca primer bir metabolit olarak da değerlendirilmesinin gerektiği inancını vermektedir. Nitekim bu konudaki bulgumuz ve düşüncemiz, Topcuoğlu ve Ünyayar (1995) tarafından desteklenmektedir.

Her iki fungusta da sekonder metabolizma fazında GA_3 sentezinin olması, besin maddelerinin azalması- GA_3 sentezi ilişkisini akla getirmektedir. Konu ile ilgili olarak, fungusların gibberellik asit üretirken besin maddelerinden özellikle azot kaynağını tükettiği ve büyümeleri durduğu zaman başka bir deyişle sekonder metabolizma fazında

gibberellik asit ürettikleri rapor edilmektedir (Bearder 1983: Rademacher'den, 1994). Ayrıca Bearder (1983) adlı araştırmacı, *Gibberella fujikuroi*'de azot kaynaklarının gibberellik asit sentezini engellediğini ve gibberellik asit metabolik yolunda önemli bir rolü bulunan 1,2-GA₄-dehidrogenaz enziminin ortamdaki NH₄⁺ ile bloke edildiğini bildirmiştir (Bearder 1983: Rademacher'den, 1994).

Cihangir (1992), *Aspergillus niger*'in 5 ayrı suşunda GA₃ verimini araştırmıştır. Bu suşlardan *A. niger* NRRL 567'de 100.29 mg/L, *A. niger* Fürsarı'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'te 45.00 mg/L GA₃ elde edilmiştir. *Gibberella fujikuroi* G₅ suşu ile yapılan bir çalışmada da, elde edilen GA₃ miktarının 120.00 mg/L olduğu bildirilmiştir (Aksöz ve ark. 1994). Saucedo ve ark. (1989) ise, *Gibberella fujikuroi* fungusunda 15. günde 45.00 mg/L GA₃ sentezlendiğini bulmuşlardır. Kumar ve Lansone (1988), *Gibberella fujikuroi* P-3 suşunda 0.58-0.66 mg/L/saat GA₃ üretildiğini saptamışlardır. Topcuoğlu ve Ünyayar (1995), *Phanerochaete chrysosporium* ME446 fungusunda çalkalamalı kültür ortamında primer metabolizma fazının 1. saatinde 98.40 µg/mL, 6. gününde 131.15 µg/mL, 9. gününde 137.72 µg/mL, sekonder metabolizma fazının 12. gününde 386.63 µg/mL, 15. gününde 274.22 µg/mL, 18. gününde 237.03 µg/mL, 21. gününde 193.90 µg/mL, 28. gününde 346.90 µg/mL toplam-GA₃ elde edildiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ise, *Lentinus tigrinus*'ta kültür ortamında primer metabolizma fazının 1. saatinde 92894.87 µg/mL, 6. gününde 107435.23 µg/mL, 9. gününde 125864.27 µg/mL, sekonder metabolizma fazının 12. gününde 144913.60 µg/mL, 15. gününde 191821.00 µg/mL, 18. gününde 221680.73 µg/mL, 21. gününde 68856.22 µg/mL, 24. gününde 187339.20 µg/mL toplam-GA₃ elde edilirken, *Laetiporus sulphureus*'ta 1. saatte 215555.53 µg/mL, 6. günde 84399.73 µg/mL, 9. günde 57739.66 µg/mL, 12. günde 83903.17 µg/mL, 15. günde 84258.73 µg/mL, 18. günde 95127.48 µg/mL, 21. günde 95454.54 µg/mL, 24. günde 67751.86 µg/mL toplam-GA₃ elde edilmiştir.

Tüm bu veriler dikkate alındığında, çalışmamızda kullanılan *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarının oldukça çok daha fazla düzeylerde GA₃ sentezlediklerini söyleyebiliriz.

Lentinus tigrinus'ta kontrol grubu ve kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.3); 1. saatte kontrol değerlerine göre, fungal serbest-ABA miktarında oldukça az bir azalma gözlenirken, bağlı- ve toplam-ABA miktarlarında belirgin bir artma saptanmıştır ($P<0.05$). Hem kontrol- ve hem de fungal-serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları birlikte değerlendirildiğinde, kültür periyodunun 1. saatinde yeni ABA sentezinin olduğunu söyleyebiliriz. Çünkü, bulgular 1. saatte serbest-ABA miktarındaki azalmanın ABA'nın metabolitlerine yıkılmadan çok bağlı forma dönüşümünden dolayı olduğu fikrini verirken, bağlı-ABA miktarının kontrol değerine göre yaklaşık 2.5 misli bir artış göstermesi ve buna bağlı olarak da toplam-ABA miktarının artışı yeni ABA sentezini akla getirmektedir. 3. günde ise her üç formdaki ABA miktarlarında bir artma saptanmıştır ($P<0.05$). Hem serbest- ve hem de bağlı-ABA miktarlarının birlikte artışı, 3. günde de yeni ABA sentezinin devam ettiğini ifade etmektedir. 6. günde serbest- ve toplam-ABA miktarlarında belirgin bir artış gözlenirken ($P<0.05$), bağlı-ABA miktarında az miktarda bir azalma belirlenmiştir. Bağlı-ABA miktarındaki bu azalmanın nedeninin serbest hale geçmesinin bir sonucu olduğunu, serbest- ve toplam-ABA miktarlarındaki belirgin artışların ise yeni ABA sentezinin 6. günde de hâlâ devam ettiği fikrini verdiğini söyleyebiliriz. 9. günde de 6. günde olduğu gibi, serbest- ve toplam-ABA miktarları bir artma göstermiş, bağlı-ABA miktarı ise azalmıştır. 6. gün ve 9. günlerdeki her üç formdaki ABA miktarları incelendiğinde, serbest-ABA miktarındaki artmanın ancak bağlı-ABA miktarındaki azalma kadar olduğu anlaşılabacaktır. Dolayısıyla da toplam-ABA miktarında da önemli bir artma olmamıştır. Tüm bunlarda bize, 9. günde yeni ABA sentezinin olmadığını ifade etmektedir. 9. güne göre 12. günde her üç formdaki ABA miktarında belirgin azalmalar gözlenmiştir ($P<0.05$). Serbest- ve bağlı-ABA miktarlarının

birlikte azalışı bir kısım ABA'nın metabolitlerine yıkıldığı fikrini vermektedir. 15. ve 18. günlerde ise 12.günün aksine her üç formdaki ABA miktarları devamlı ve belirgin artmalar göstermiş ($P<0.05$) ve primer metabolizma fazının 6. ve 9. günlerindeki değerlerinin üzerine çıkmıştır. 15. ve 18. günlerde hem serbest ve hem de bağlı-ABA miktarlarının birlikte artışı yeni ABA sentezinin olduğunu ifade etmektedir. 21. ve 24. günlerde serbest- ve toplam-ABA miktarları devamlı ve belirgin azalmalar gösterirken ($P<0.05$), bağlı-ABA miktarı sırasıyla artma ve azalma göstermiştir. 21. ve 24. günlerdeki her üç formdaki ABA değerleri dikkate alındığında, 21. ve 24. günlerde mevcut ABA'nın bir kısmının metabolitlerine yıkıldığını ve yeni ABA sentezinin olmadığını söyleyebiliriz.

Lentinus tigrinus fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kontrol ve fungal her üç formdaki ABA miktarları ve hem de kuru misel ağırlığındaki değişim birlikte incelendiğinde (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.3); kültür periyodunun 1. saatinde, 3., 6., 15. ve 18. günlerinde yeni ABA sentezinin olduğu, ABA'nın primer metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezinin fungusun sekonder metabolizma fazında olduğu görülmektedir.

Laetiporus sulphureus'ta kontrol grubu ve kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.4); 1. saatte fungal-serbest-, bağlı- ve toplam-ABA miktarları kontrol değerlerinden oldukça yüksek düzeylerde bulunmuştur ($P<0.05$). Primer metabolizma fazının 1. saatinde hem serbest- ve hem de bağlı-ABA miktarlarının birlikte belirgin bir artma göstermesi yeni ABA sentezinin olduğu fikrini vermektedir. Kültür periyodunun 3. ve 6. günlerinde her üç formdaki ABA miktarlarında devamlı ve belirgin azalmalar gözlenmiştir ($P<0.05$). Serbest- ve bağlı-ABA miktarlarındaki birlikte azalma bir kısım ABA'nın metabolitlerine yıkıldığını ifade etmektedir. 6. güne göre 9. ve 12. günlerde serbest-ABA miktarı az da olsa devamlı bir artma gösterirken, bağlı-ABA miktarının azaldığı belirlenmiştir. Toplam-ABA miktarı ise 6. güne göre 9. günde bir azalma, 9. güne göre 12. günde bir artma göstermiştir. 9. ve 12. günlerdeki her üç formdaki ABA

miktarları dikkate alındığında, 6. gündeki değerlerine yakın olduğu, bunun ise 6. gündeki mevcut ABA miktarının korunduğunu başka bir deyişle, ABA'nın metabolitlerine yıkımının ve yeni ABA sentezinin olmadığını ifade ettiğini söyleyebiliriz. 15. günde ise her üç formdaki ABA miktarları bir artış göstermektedir ($P<0.05$). Serbest- ve bağlı-ABA miktarlarının birlikte artışı 15. günde yeni ABA sentezini akla getirmektedir. 18. günde serbest- ve toplam-ABA miktarında artma, bağlı-ABA miktarında ise azalma gözlenmiştir. Her üç formdaki ABA değerleri dikkate alındığında, az da olsa yeni ABA sentezinin olduğunu söyleyebiliriz. 21. ve 24. günlerde ise serbest- ve toplam-ABA miktarları devamlı ve belirgin azalmalar gösterirken ($P<0.05$), bağlı-ABA miktarının devamlı fakat az miktarlarda artmalar gösterdiği saptanmıştır. Serbest- ve toplam-ABA miktarlarındaki devamlı ve belirgin azalmalar, bağlı-ABA miktarındaki az miktardaki artmalar 21. ve 24. günlerde mevcut ABA'nın bir kısmının metabolitlerine yıkıldığı ve yeni ABA sentezinin olmadığı fikrini vermektedir.

Laetiporus sulphureus fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kontrol ve fungal her üç formdaki ABA miktarları ve hem de kuru misel ağırlığındaki değişim birlikte incelendiğinde (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.4); kültür periyodunun 1. saatinde, 15. ve 18. günlerinde yeni ABA sentezinin olduğu, ABA'nın sekonder metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezinin fungusun primer metabolizma fazında olduğu görülmektedir.

ABA sentezinin primer metabolizma fazının sonunda belirgin bir şekilde başladığı ve arttığını gösteren bulgularımız, Griffin ve Walton (1982) tarafından da desteklenmektedir. Bu araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada, çalkalamalı kültür ortamında üretilen *Cercospora rosicola* fungusunda 25. günde ABA miktarının 27 mg/L olduğunu saptamışlardır. Yine aynı araştırmacılar, yüksek konsantrasyonda fosfatın ABA birikimini engellediğini de bildirmişlerdir. Oysa Assante ve ark. (1977), *Cercospora rosicola*'da 30. günde 6 mg/100mL ABA sentezlediğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, Kettner ve Dörffling (1987), adlı araştırmacılar da *Ceratocystis coerulea* fungusunda maksimum

ABA miktarını kültür ortamında 30. günde 3.5 ng/mL 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 belirlenmiştir (Ünyayar 1990). Yeşilada ve ark. (1990) adlı araştırmacılar 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. Topcuoğlu ve Ünyayar (1995) tarafından *Phanerochaete chrysosporium* ME 446 fungusunda çalkalamalı kültür ortamında maksimum ABA miktarı 15. günde 13.16 µg/mL olarak belirlenmiştir. *Botrytis cinerea*'da ise maksimum ABA miktarı 1.60 ng/mL olarak bulunmuştur (Tuomi ve ark. 1993). Çalışmamızda ise, *Lentinus tigrinus*'ta kültür ortamında primer metabolizma fazının 6. gününde 131.43 µg/mL, 9. gününde 132.85 µg/mL, 15. gününde 149.92 µg/mL, 18. gününde 163.57 µg/mL toplam-ABA elde edilirken, *Laetiporus sulphureus*'ta 1. saatte 123.96 µg/mL, 3. günde 100.30 µg/mL, 15. günde 82.54 µg/mL, 18. günde 88.15 µg/mL toplam-ABA elde edilmiştir.

Gerek çalışmamızda kullandığımız funguslarda gerekse ABA sentezlediği bildirilen funguslardaki ABA miktarları dikkate alındığında, çalışmamızda kullanılan *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarının oldukça çok daha fazla düzeylerde ABA sentezlediklerini söyleyebiliriz.

Lentinus tigrinus'ta kontrol grubu ve kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.5); 1. saatte fungal-serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları kontrol değerlerinden daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Hem serbest- ve hem de bağlı-zeatin miktarlarının birlikte belirgin bir artma göstermesi kültür periyodunun 1. saatinde yeni zeatin sentezinin olduğu fikrini vermektedir. 3. günde ise 1. saatin aksine, her üç formdaki zeatin miktarları bir azalma göstermiştir. Bu da bize, mevcut zeatin'in bir kısmının metabolitlerine yıkıldığını ifade etmektedir. 6. günde de 3. güne göre, serbest- ve toplam-zeatin miktarları az bir artma gösterirken, bağlı-zeatin miktarı da bir azalma göstermiştir. 3. ve

6. günlerdeki her üç formdaki zeatin miktarları dikkate alındığında, mevcut zeatin'in korunduğu başka bir deyişle, zeatin'in metabolitlerine yıkılmadığı ve yeni sentezinin olmadığı söylenebilir. 9. günde her üç formdaki zeatin miktarlarında belirgin bir azalma saptanmıştır ($P<0.05$). Bu da bize, 9. günde de mevcut zeatin'in bir kısmının metabolitlerine yıkıldığını ifade etmektedir. 12. günde ise 9. günün aksine, her üç formdaki zeatin miktarlarında belirgin bir artma belirlenmiştir ($P<0.05$). Serbest- ve bağlı-zeatin miktarlarının birlikte artışı yeni zeatin sentezini düşündürmektedir. 15. günde serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında belirgin bir artma ($P<0.05$), bağlı-zeatin miktarında ise az bir azalma saptanmıştır. Her üç formdaki zeatin miktarları incelendiğinde, bir kısım bağlı-zeatin'in serbest hale geçtiğini ve yeni zeatin sentezinin olduğunu söyleyebiliriz. 18. günde ise serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında azalma, bağlı-zeatin miktarında artma belirlenmiştir. Her üç formdaki zeatin miktarları dikkate alındığında, serbest- ve toplam-zeatin miktarlarındaki azalmanın, bağlı-zeatin miktarındaki artışın nedeninin serbest-zeatin'in bir kısmının bağlı forma dönüşmesi, bir kısmının da metabolitlerine yıkılması olduğu söylenebilir. 21. ve 24. günlerde serbest- ve toplam-zeatin miktarları devamlı ve belirgin azalmalar gösterirken ($P<0.05$), bağlı-zeatin miktarında 21. günde az bir artma, 24. günde ise belirgin bir azalma belirlenmiştir. 21. ve 24. günlerdeki her üç formdaki zeatin miktarları incelendiğinde, mevcut zeatin'in bir kısmının metabolitlerine yıkıldığı söylenebilir.

Lentinus tigrinus fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kontrol ve fungal her üç formdaki zeatin miktarları ve hem de kuru misel ağırlığındaki değişim birlikte incelendiğinde (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.5); kültür periyodunun 1. saatinde, 12. ve 15. günlerinde yeni zeatin sentezinin olduğu, zeatin'in hem primer ve hem de sekonder metabolizma fazlarının başlangıç safhasında maksimum düzeyde sentezlendiği düşünülmektedir.

Laetiporus sulphureus'ta kontrol grubu ve kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam-zeatin miktarları incelendiğinde (Çizelge 4.12 ve

Şekil 4.6); 1. saatte fungal-serbest-, bağı- ve toplam-zeatin miktarları kontrol değerlerinden daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Serbest- bağı-zeatin miktarlarının birlikte artışı yeni zeatin sentezinin olduğunu akla getirmektedir. 3. günde serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında artma, bağı-zeatin miktarında azalma belirlenmiştir. 1. saatteki ve 3. gündeki her üç formdaki zeatin miktarları incelendiğinde, serbest-zeatin miktarındaki artma kadar bağı-zeatin miktarında azalma görülecektir. Bu da bize, bağı-zeatin'in serbest hale geçerek azaldığı ve buna bağıli olarak da serbest zeatin miktarında artmanın olduğu fikrini vermektedir. Başka bir deyişle, 3. günde yeni zeatin sentezinin olmadığı söylenebilir. 6. ve 9. günlerde ise serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında devamlı ve belirgin azalmalar ($P<0.05$), bağı-zeatin miktarında 6. günde artma, 9. günde tekrar azalma belirlenmiştir. 3., 6. ve 9. günlerdeki her üç formdaki zeatin miktarları dikkate alındığında, mevcut zeatin'in bir kısmının metabolitlerine yıkıldığı düşünülmektedir. 12. günde her üç formdaki zeatin miktarlarında bir artma saptanmıştır. Serbest- ve bağı-zeatin miktarlarının birlikte artışı yeni zeatin sentezini akla getirmektedir. 15. günde serbest-zeatin miktarında az bir azalma, bağı- ve toplam-zeatin miktarlarında belirgin artmalar ($P<0.05$) bulunmuştur. 12. ve 15. günlerdeki her üç formdaki zeatin miktarları dikkate alındığında, 15. günde de yeni zeatin sentezinin olduğunu ve yeni sentezlenen zeatin'in büyük bir kısmının bağıli forma dönüştüğünü söyleyebiliriz. 18. günde 15. güne göre, serbest-zeatin miktarı yaklaşık 2 misli bir artma gösterirken, bağı-zeatin miktarı yaklaşık 5 misli azalma göstermiş, toplam-zeatin miktarında da belirgin bir azalma saptanmıştır ($P<0.05$). 15. ve 18. günlerdeki her üç formdaki zeatin miktarları incelendiğinde, bağı-zeatin'in oldukça büyük bir kısmının serbest hale geçtiği ve bununda yine büyük bir kısmının metabolitlerine yıkıldığı söylenebilir. 21. ve 24. günlerde serbest- ve toplam-zeatin miktarlarında devamlı ve belirgin azalmalar ($P<0.05$), bağı-zeatin miktarında ise 21. günde azalma 24. günde artma meydana gelmiştir. 18., 21. ve 24. günlerdeki her üç formdaki zeatin miktarları dikkate alındığında, 21. ve 24. günlerde mevcut zeatin'in bir kısmının metabolitlerine yıkıldığını düşündürmektedir.

Laetiporus sulphureus fungusunda kültür periyoduna bağlı olarak hem kontrol ve fungal her üç formdaki zeatin miktarları ve hem de kuru misel ağırlığındaki değişim birlikte incelendiğinde (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.6); kültür periyodunun 1. saatinde, 12. ve 15. günlerinde yeni zeatin sentezinin olduğu, zeatin'in hem primer ve hem de sekonder metabolizma fazının başlangıç safhasında maksimum düzeyde sentezlendiği düşünülmektedir.

Johnston ve Trione (1974) yaptıkları bir çalışmada, *Taphrina deformans* ve *Taphrina cerasi* funguslarında üretilen kinetin eşdeğerli sitokinin miktarlarını araştırmışlardır. Araştırmacılar *T. deformans*'ın 4 µg/mL ve *T. cerasi*'nin 2 µg/mL sitokinin ürettiğini bildirmişlerdir. Topcuoğlu ve Ünyayar (1995) adlı araştırmacılar da, *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da çalkalamalı kültür ortamında kültür periyodunun 1. saatinde 10.23 µg/mL, 12. gününde 10.31 µg/mL maksimum düzeyde toplam-zeatin elde etmişlerdir. Bu da, çalışmamızda kullanılan *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarında zeatin'in hem primer ve hem de sekonder metabolizma fazının başlangıç safhasında maksimum düzeyde sentezlendiği düşüncemizi desteklemektedir.

Gerek çalışmamızda kullandığımız funguslarda gerekse zeatin sentezlediği bildirilen funguslardaki zeatin miktarları dikkate alındığında, çalışmamızda kullanılan *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarının oldukça çok daha fazla düzeylerde zeatin'sentezlediklerini söyleyebiliriz.

Çalışmamız sonunda elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarında primer ya da sekonder bir metabolit olarak GA₃ , ABA ve zeatin'in sentezlendiği gösterilmiştir. Bunlardan GA₃ ve ABA'nın *Lentinus tigrinus*'ta primer metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezlerinin sekonder metabolizma fazında olduğu saptanırken; *Laetiporus sulphureus*'ta sekonder metabolizma fazında da sentezlendiği ancak, en fazla sentezlerinin primer metabolizma fazında olduğu belirlenmiştir. Zeatin'in ise her iki fungusta da hem primer ve hem de sekonder metabolizma fazının başlangıç safhasında maksimum düzeyde

maksimum düzeyde sentezlendiği saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgular, bitkisel hormonların hem primer ve hem de sekonder metabolit olarak değerlendirilmesi gerektiği inancını vermektedir. Buna göre de, *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarında sentez edilen GA₃ , ABA ve zeatin'in birer hem primer ve hem de sekonder metabolit olduklarını söyleyebiliriz. Ayrıca, çalışmamızda kullandığımız fungusların literatür bilgilerimize göre GA₃ , ABA ve zeatin üretimi konusunda dünyada çalışılmamış olması, GA₃ , ABA ve zeatin sentezlediği literatürde belirtilen fungusların çeşitliliğini arttırmaktadır.

Yine bu çalışmada, *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarının zeytinyağı fabrikası atığında üretilbildiği de gösterilmiştir. Zeytinyağı fabrikası atığının bir çevre kirleticisi olduğu da akla getirilirse, fungus üretiminde substrat kaynağı olarak zeytinyağı fabrikası atığının kullanılmasının çevre kirliliğinin önlenmesine, bu atığın ekonomik değerlendirme şeklinin belirlenmesine, en ekonomik bir şekilde fungus üretimi ile Biyokütle, dolayısıyla bitkisel hormon eldesine önemli katkı getireceğine inanmaktayız.

ÖZET

Bu çalışmada, statik inkübasyon ortamında ve zeytinyağı fabrikası atığı besiyerinde üretilen beyaz-çürükçül fungus *Lentinus tigrinus* ve kahverengi-çürükçül fungus *Laetiporus sulphureus*'un kültür ortamında kültür periyoduna bağlı olarak serbest-, bağlı- ve toplam- formlarda içsel gibberellik asit (GA_3), absisik asit (ABA) ve sitokinin (zeatin) miktarları ve fungusların kuru misel ağırlıkları saptanmıştır.

İçsel- GA_3 , -ABA ve -zeatin miktarlarının tayininde spektrofotometre tekniği kullanılmıştır.

Lentinus tigrinus fungusunda GA_3 ve ABA primer metabolizma fazının 9. gününde (sırasıyla 125864.27 $\mu g/mL$, 132.85 $\mu g/mL$), zeatin 1. saatinde (12.04 $\mu g/mL$) maksimum düzeyde sentezlenirken, sekonder metabolizma fazında ise GA_3 ve ABA 18. günde (sırasıyla 221680.73 $\mu g/mL$, 163.57 $\mu g/mL$), zeatin 15. günde (23.56 $\mu g/mL$) maksimum düzeyde sentezlenmiştir.

Laetiporus sulphureus fungusunda GA_3 ve zeatin primer metabolizma fazının 3. gününde (sırasıyla 247395.27 $\mu g/mL$, 10.17 $\mu g/mL$), ABA 1. saatinde (123.96 $\mu g/mL$) maksimum düzeyde sentezlenirken, sekonder metabolizma fazında ise GA_3 21. günde (95454.54 $\mu g/mL$), ABA 18. günde (88.15 $\mu g/mL$), zeatin 15. günde (18.73 $\mu g/mL$) maksimum düzeyde sentezlenmiştir.

Çalışmamızın sonucunda çalışmada kullanılan fungusların primer ya da sekonder bir metabolit olarak GA_3 , ABA ve zeatin sentezledikleri ve sentezlenen bu bitkisel hormonların hem serbest ve hem de bağlı formlarda bulunduğu gösterilmiştir.

Yine bu çalışmada, *Lentinus tigrinus* ve *Laetiporus sulphureus* funguslarının zeytinyağı fabrikası atığında üretilbildiği de gösterilmiştir.

SUMMARY

In this study, the levels of endogenous forms of free-, bound- and total-gibberellic acid (GA_3), abscisic acid (ABA) and sytokinin (zeatin) in culture medium and the changes in dry-weight of the mycelium which depends on the culture periods were examined by using white-rot fungus *Lentinus tigrinus* and brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus* cultured in medium of olive mill waste which in static culture.

The spectrophotometric techniques were used to determine the amounts of endogenous GA_3 , ABA and zeatin.

As the maximum levels of GA_3 , ABA and zeatin were synthesized at primary metabolism phase as follows: at 9th days 125864.27 $\mu\text{g/mL}$, 132.85 $\mu\text{g/mL}$, at 1st hour 12.04 $\mu\text{g/mL}$, the maximum levels of GA_3 , ABA and zeatin was synthesized at secondary metabolism phase as follows: at 18th days 221680.73 $\mu\text{g/mL}$, 163.57 $\mu\text{g/mL}$, at 15th 23.56 $\mu\text{g/mL}$ in *Lentinus tigrinus*.

As the maximum levels of GA_3 , ABA and zeatin were synthesized at primary metabolism phase as follows: at 3th days 247395.27 $\mu\text{g/mL}$, 10.17 $\mu\text{g/mL}$, at 1st hour 123.96 $\mu\text{g/mL}$, the maximum levels of GA_3 , ABA and zeatin was synthesized at secondary metabolism phase as follows: at 21th days 95454.54 $\mu\text{g/mL}$, 18th days 88.15 $\mu\text{g/mL}$, at 15th days 18.73 $\mu\text{g/mL}$ in *Laetiporus sulphureus*.

As a result of this study, fungi which have been used in this study shown that synthesized GA_3 , ABA and zeatin as a primary or secondary metabolite and these plant hormones which have been synthesized, were either form of free or bound.

On the other hand, in this study shown that *Lentinus tigrinus* and *Laetiporus sulphureus* also could be produced in olive mill waste.

KAYNAKLAR

ADDICOTT, F.T. and LYON, J.L., 1969. Physiology of abscisic acid and related substances. Ann. Rev. Plant Physiol., 20, 139- 164.

AKSÖZ, N., CİHANGİR, N. ve AKSÖZ, E., 1994. Fungal gibberellik asit eldesinde biyodisk reaktör kullanım olanaklarının araştırılması. Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 18, sayı: 1, 1-7.

APPLEWHITE, P.B., K-SAWHNEY, R. and GALSTON, A.W., 1994. 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

ARIGAYO, S., FUJISAWA, S., SAKURAI, A., KAMIYA, Y., ADISEWOJA, S.S. and TAKAHASHI, N., 1984. 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.

ASSANTE, G., MERLINI, L. and NASSINI, G., 1977. (+)-Abscisic acid, a metabolite of the fungus *Cercospora rosicola*. Experienta, 33, 1556-1557.

BANERJEE, S.N., 1968. Changes in the amounts of gibberellin-like and cytokinin-like substances in developing seeds of *Ginkgo biloba* L. Bot. Mag. Tokyo, 81, 67-73.

BENNET, R.D., NORMAN, S.M. and MAIER, V.P., 1984. Biosynthesis of abscisic acid from farnesol derivatives in *Cercospora rosicola*. Phytochemistry, 9, 1913-1915.

BENTLEY, R. and BENNETT, J.W., 1988. *Biosynthesis of secondary metabolites. Physiology of Industrial Fungi*, Berry, D.R. (Eds), ISBN 0-632-01632-8.

BERRY, D.R., 1988. Products of primary metabolic pathways. *Physiology of Industrial Fungi*, ISBN 0-632-01672-8.

BORROW, A., BRIAN, P.W., CHESTER, V.E., CURTIS, P.J., HEMMING, H.G., HENEHAN, C., JEFFERYS, E.G., LLOYD, P.B., NIXON, I.S., NORRIS, G.L.F. and RADLEY, M., 1955. Gibberellic acid a metabolic product of the fungus *Gibberella fujikuroi* : some observations on its production and isolation. J. Sci. Food Agric., 6, 340-348.

BRUCKNER, B. and BLECHSCHMIDT, D., 1991. Nitrogen regulation of gibberellin biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 11, 163-192

CİHANGİR, N., 1992. *Aspergillus niger*'den gibberellik asit üretimi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniv., Fen Bilimleri Enst.

CİHANGİR, N., ve AKSÖZ, N., 1993. *Aspergillus niger*'den gibberellik asit eldesi ve uygun fizyolojik koşulların saptanması. Doğa Türk Biyoloji Dergisi, 17, 2, 63-74.

CRAFTS, C.B. and MILLER, C.O., 1974. Detection and identification of cytokinins produced by mycorrhizal fungi. Plant Physiol., 54, 586.

CROSS, B.E. and MYERS, P.L., 1969. The effect of plant growth reterdants on the biosynthesis of diterpens by *Gibberella fujikuroi*. Plant Physiol., 69, 712-716.

DAVID HO, T.H., 1993. Hormone and stress-regulated gene expression in cereal plants. Bot. Bull. Acad. Sin., 34, 103-113.

DÖRFFLING, K., 1972. Recent advances in abscisic acid research, H. Kaldewey and Y. Vardar (Eds.), Hormonal regulation in plant growth and development. Proc. Adv. Study Inst., İzmir, 1971, Verlag Chemie, Weinheim, 281-295.

DOUMAS, P., IMBAULT, N., MORITZ, T. and ODEN, P.C., 1992. Detection and identification of gibberellins in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) shoots. Physiologia Plantarum, 85, 489-494.

DUMBROFF, E.B. and WALKER, M.A., 1979. The oat-leaf senescence test for cytokinins reconsidered. Ann. Bot., 44, 767-769.

DUNBERG, A., 1973. Gibberellin-like substances from Norway spruce (*Picea abies*). Physiol. Plant., 28, 358-360

GEISSMAN, T.A., VERBISCAR, A.J., PHINNEY, B.O. and CRAGG, G., 1966. Studies on the biosynthesis of gibberellins from (-)-kaurenoic acid in cultures of *Gibberella fujikuroi*. Phytochem., 5, 933-947.

GRIFFIN, D.H. and WALTON, D.C., 1982. Regulation of Absciscic acid formation in *Mycosphaerella (Cercospora) rosicola* by phosphate, Mycologia, 74, 4, 614-618.

HANSON, J.R. and WILLIS, C.L., 1992. The effect of some ent-kauren alcohols on gibberellic acid biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*. Phytochemistry, 40, 176-183.

HARADA, H. and LANG, A., 1965. Effect of some (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride analogs and other growth retedants on gibberellin biosynthesis in *Fusarium moniliforme*. Plant Physiol., 40, 176-183.

HOLBROOK, A. A., EDGE, W.J.W. and BAILEY, F., 1961. Spectrophotometric method for determination of gibberellic acid in gibberellin A.C.S.

HOPSON, J.L.& WESSELLS, N.K., 1990. *Essentials of biology*. ISBN 0-07-100738-5.

HORGAN, R., NEILL, S.L., WALTON, D.C. and GRIFFIN, D., 1983. Biosynthesis of abscisic acid. Biochem. Soc. Trans., 11, 553-557.

JACOBSEN, J.V. and HIGGINS, T.J.V., 1982. Characterization of the α -amylases synthesized by aleurone layers of Himalaya barley in response to gibberellic acid. Plant Physiol., 70, 1647-1653.

JANITOR, A. and VIZAROVA, G., 1994. Production of abscisic acid and cytokinins in static liquid culture by *Schizophyllum commune*. Czech-Myecology, 474 (4), 293-302.

JOHNSTON, J.C. and TRIONE, E.J., 1974. Cytokinin production by the fungi *Taphrina cerasi* and *T. deformans*. Can. J. Botany, 52, 1583-1588.

JUNTILLA, O., 1993. Interaction of growth reterdants, daylength and gibberellins A₁₉, A₂₀ and A₁ on shoot elongation in birch and alder. J. Plant Growth Regul., 12, 123-127.

KAMPERT, M. and STRZELCZYK, E., 1978. Production of cytokinins by mycorrhizal fungi of pine (*Pinus sylvestris*). Bull.de L'Acad. Pol. Sci., 7, 499.

KAWAIDE, H. and SASSA, T., 1993. Accumulation of gibberellin A₁ and the metabolism of gibberellin A₉ to A₁ in a *phaeosphaeria* Sp. L487 culture. Biosci. Biotech. Biochem., 57, 1403-1405.

KEFELİ, V.I., 1978. *Natural plant growth inhibitors and phytohormones*. Dr.W. Junk b.v. Publishers, The Hague/ Boston, 7-263.

KETTNER, J. and DÖRFFLING, K., 1987. Absciscic acid metabolism in *Ceratocystis coerulescens*. Physiol. Plantarum, 69, 278-282.

KNOX, J.P. and WAREING, P.F., 1984. Apical dominance in *Phaseolus vulgaris* L.: The possible roles of absciscic acid and indole-3-acetic acid. J. of Experimental Botany, 35, 239-244.

KRAIGHER, H. GRAYLING, A., WANG, T.L. and HANKE, D.E., 1991. Production by two ectomycorrhizal fungi in liquid culture. Phytochem., 30 (7), 2249-2254.

KUMAR, P.K.R. and LANSONE, B.K., 1987 Gibberellic acid by solid state fermentation : consistent and improved yields. Biotechnology and Bioengineering, xxx, 267-271.

KUMAR, P.K.R. and LANSONE, B.K., 1988. Immobilized growing cells of *Gibberella fujikuroi* P-3 for production of gibberellic acid and pigment in batch and semi-continious cultures. Appl. Microbiol. Botechnol., 28, 537-542.

KUTSAL, A. ve MÜLÜK, Z.F., 1975. *Uygulamalı temel istatistik*. H.Ü. Yayınları, A₂ , Ankara.

LEO, P.D. and SACHER, J.A., 1970. Control of ribonuclease and acid phosphatase by auxin and abscisic acid during senescence of rhoeo leaf sections. *Plant growth regulation*, 9, 71-76.

LOVEYS, B.R., 1977. The intracellular location of abscisic acid in stressed and non-stressed leaf tissue: *Physiol. Plant.*, 40, 6-10.

MAAB, H. and KLAMBT, D., 1977. Cytokinin effect on protein synthesis in vivo higher plants, 133, 117-120.

MANDER, L.N., 1991. Recent progress in the chemistry and biology of gibberellins. *Sci. progress Oxford*, 75, 33-50.

MANDER, L.N., 1992. The Chemistry of gibberellins. An overview, *Chem. Rev.*, 92, 573-612

MARUMO, S., KATAYAMA, M., KOMORI, E., OZAKI, Y., NATSUME, M. and KONDA, S., 1982. Microbial production of abscisic acid by *Botrytis cinerea*. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1967-1968.

MATSUBARA, S., 1990. Structure-activity relationships of cytokinins. *Plant Sciences*, 9, 17-57.

MILLBORROV, B.V., 1967. Identification of (+)-abscisin II ((+)-dormin) in plants and measurement of its concentration. *Planta (Berl.)*, 76, 93-113.

MILLBORROW, B.V., 1970. The metabolism of abscisic acid. *J. Exp. Bot.*, 21, 17-29.

MILLBORROW, B.V., 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25, 259-307.

MILLER, C.O., 1967. Zeatin and zeatin riboside from a mycorrhizal fungus. *Science*, 197, 1055.

MONDAL, H. and BISWAS, B.B., 1972. Absciscic acid as an inhibitor of RNA synthesis by RNA polymerase in vitro. *Plant and Cell Physiol.*, 44, 268-272.

MOUNLA, M.A.KH., 1978. Gibberellin-like substances in parts of developing barley grain. *Physiol. Plant.*, 44, 268-272.

MURAKAMI, Y., 1968. 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.

MURAYAMA, T. and NAKAMURA, T., 1972. Proceedings of the 37th annual meeting of the Botanical Society of Japan, p.132.

NAKAYAMA, I., MIYAZAWA, T., KOBAYASHI, M., KAMIYA, Y., ABE, H. and SAKURAI, A., 1990. 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.

NANDI, S.K., PALNI, L.M.S., LETHAM, D.S. and WONG, O.C., 1989. Identification of cytokinins in primary crown gall tumors of tomato. *Plant Cell and Environment.*, 12, 273-283.

NORMAN, S.M., POLING, M.S., MAIER, V.P. and POND, D.L., 1988. Absciscic acid biosynthesis in *Cercospora rosicola*: sensitivity to inhibitors of sterol biosynthesis. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 5, 1309-1310.

OKAMOTO, M., HIRAI, N. and KOSHIMIZU, K., 1988. Biosynthesis of absciscic acid from α -ionlideneethanol in *Cercospora pinidensisiflorae*. *Phytochemistry*, 27(11), 3465-3469.

ORITANI, T. and YAMASHITA, K., 1985. Biosynthesis of (+)-absciscic acid in *Cercospora cruenta*. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 243-249.

PALAVAN-ÜNSAL, N., 1993. *Bitki büyüme maddeleri*. İ.Ü. Basımevi ve Film merkezi, İstanbul.

PARRY, A.D. and HORGAN, R., 1991. Carotenoids and ABA biosynthesis. *J. of Experimental Botany*, 42, 238, 8.

PEGG, G.F., 1973. Gibberellin-like substances in the sporophores of *Agaricus bisporus* (Lange) imbach. *J. of Experiment. Botany*, 24,81, 675-688.

PHILLIPS, I.D.J., 1971. *Introduction to the biochemistry and physiology of plant growth hormones*. Hill Book Company, 173 .

PHILLIPS, I.D.J., 1972. 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., İzmir, 1971, Verlag chemie, Weinheim, 1-17.

POTTER, T.I., ZANEWICH, K.P. and ROOD, S.B., 1993. Gibberellin physiology of safflower: Endogenous gibberellins and response to gibberellic acid. *Plant Growth Regulation*, 12, 133-140.

PRAKASH, L. and PRATHAPASENAN, G., 1990. 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.

RADEMACHER, W., 1992. Inhibition of gibberellin production by plant growth reterdants in the fungi *Gibberella fujikuroi* and *Sphaceloma monihoticola*. *Plant Physiol.*, 100, 625-629

RADEMACHER, W., 1994. gibberellin formation in microorganisms. *Plant Growth Regulation*, 15, 303-314.

RATLEDGE, C., 1992. Secondary products and fungal biochemistry, Extended Summaries-Biotechnology Group Meeting, 219-222.

ROOD, S.B., MANDEL, R. and PHARIS, R.P., 1989. Endogenous gibberellins and shoot growth and development in *Brassica napus*. *Plant Physiol.*, 89, 267-273.

SALISBURY, F.B. and ROSS, C.W., 1992. *Plant Physiology*. Wardsworth Publishing Company, Belmont, California 94002.

SAUCEDO, J.E.N.S., BARBOTIN, J.N. and THOMAS, D., 1989. 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.

SELİM, M.S.N., ABDULLA, M.E. and RADI, S.H., 1985. Production of gibberellins and indoles by some soil fungi. The Egyptian Botanical Society Proceedings, 1, 316-380.

STADEN, J.V. and BROWN, N.A.C., 1979. Investigations into the possibility that potato buds synthesize cytokinins. J. of Exper. Botany, 30, 116, 391-397.

STADEN, J.V. and NICHOLSON, R.I.D., 1989. Cytokinins and mango flower malformation II. the cytokinin complement produced by *Fusarium moniliforme* and the ability of fungus to incorporate (8-¹⁴C) adenine into cytokinins. Physiological and molekular plant physiology, 35, 423-431.

STRZELCZYK, E., KAMPERT, M. and MICHALSKI, L., 1985. Production of cytokinin-like substances by mycorrhizal fungi of pine (*Pinus sylvestris* L.) in cultures with and without metabolites of *Actinomycetes*. Acta Microbiologica Polonica, 34, 177-186.

SZWEYKOWSKA, A.M., 1987. *Hormonal control of protein synthesis in plant: Hormonal regulation of plant growth and development*, Purohit, S.S. (Eds.), ISBN 90-247-2435-5.

TAMAS, I.A. and ENGELS, C.J., 1981. Role of indoleacetic acid and abscisic acid in the correlative control by fruits of axillary bud development and leaf senescences. Plant Physiol., 68, 476-481.

TOMITA, K., MURAYAMA, T. and NAKAMURA, T., 1989. Effects of auxin and gibberellin on elongation of young hyphae in *Neurospora crassa*. Plant and Cell Physiol., 25(2), 355-358.

TOPCUOĞLU, Ş.F., 1987. *Tuz stresi koşullarında büyütülen ayçiçeği (Helianthus annuus) bitkisinde yaşa bağlı olarak Absisik asit (ABA) seviyelerinin değişimi*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniv., Fen Bilimleri Enst., Ankara.

TOPCUOĞLU, Ş.F., ve ÜNYAYAR, S., 1995. Beyaz- çürükçül fungus *Phanerochaete chrysosporium* ME 446'da bitki büyüme maddelerinin (auxin, gibberellin, absisik asit ve sitokinin) üretimi ve biyolojik aktivitelerinin tayini. İnönü Üniversitesi Araştırma fonu Proje No: İ.Ü.A.F. 93-19, Malatya.

TUOMI, T., ILVESOKSA, J., LAAKSO, S. and ROSENQVIST, H., 1993. Interaction of abscisic acid and indole-3-acetic acid producing fungi with *Salix* leaves. J. Plant Growth Regul., 12, 149-156.

ÜNYAYAR, S., 1990. *Bazı funguslarda (Phanerochaete chrysosporium ME 446 ve Pleurotus florida) kültür periyoduna bağlı olarak absisik asit üretimi ve büyüme ile ilişkisi*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü üniv. Fen Bilimleri Enst., Malatya.

ÜNYAYAR, S., TOPCUOĞLU, Ş. F. and ÜNYAYAR, A., 1996. A modified method for extraction and identification of indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA_3), abscisic acid (ABA) and zeatin produced by *Phanerochaete chrysosporium* ME 446. Plant Physiology and Phytochemistry, Special Issue, P.307.

WALBOT, V., CLUTTER, M. and SUSSEX, I., 1975. Effects of abscisic acid on growth, RNA metabolism, and respiration in germinating bean axes. Plant Physiol., 56, 570-574.

WAREING, P.F. and PHILLIPS, I.D.J., 1970. The control of growth and differentiation in plants. Pergamon Press, 232-254.

WHITE, J.C. and MANSFIELD, T.A., 1977. Correlative inhibition of lateral bud growth in *Pisum sativum* and *Phaseolus vulgaris* L. studies of the rol of abscisic acid . Ann. Bot., 41, 1163- 1170.

WRIGHT, S.T.C., 1969. An increase in the "inhibitor β " content of detached wheat leaves following a period of wilting . Planta, 86, 10-20.

WISEMAN, A., 1986. *Principles of biotechnology*. Surrey Universty Press, New York.

YEŞİLADA, Ö., TOPCUOĞLU, Ş.F., ÜNYAYAR, A., ÜNYAYAR, S., FIŞKIN, K., ve BOZCUK, S., 1990. Şilempe (vinnase) içeren inkübasyon ortamında bazı beyaz-çürükçül funguslarda absisik asit üretimi. X. Ulusal Biyoloji Kongresi, Erzurum.

YEŞİLADA, Ö., ve FIŞKIN, K., 1996. Yağ fabrikası atığının *Coriolus versicolor* ile yıkımı. Türk Biyoloji Dergisi, 20, 1, 73-79.

YOUNG, H. and LETHAM, D.S., 1969. 6-(substituted amino) purines: Synthesis by a new method and cytokinin activity. Phytochem., 8, 1199-1203.

ZIESLIN, N. and GELLER, Z., 1983. Studies with *Liatris spicata* willd. 1. effect of temperature on sprouting, flowering and gibberellin content. Annals of Botany, 52, 849-853.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında destek ve yardımlarını gördüğüm Danışman Hocam Sayın Doç.Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU'na (Akdeniz Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) içten teşekkürlerimi sunuyorum. Çalışma boyunca yardım aldığım Hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Özfer YEŞİLADA'ya (İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkür ediyorum.

Bu çalışmada bölüm olanaklarını sunan ve çalışmanın yazımı ve düzeni aşamasında her türlü yardımını esirgemeyen Hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Ekrem AKTOKLU'ya (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkür ediyorum.

İstatistik analizler konusunda yardımlarını gördüğüm Sayın Prof.Dr. Cemal YÜKSELEN'e (Mustafa Kemal Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, İşletme Bölümü) ve Sayın Öğr.Gör. Suat ŞAHİNLER'e (Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü), grafik çizimlerinde bilgilerinden yararlandığım Hocam Sayın Doç.Dr. Nureddin ÇOLAK'a (Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) teşekkür ediyorum.

Ayrıca, Yüksek Lisans Tez çalışmamı proje halinde parasal olarak destekleyen Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma Fonu'na teşekkür ediyorum.

Çalışmam süresince maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ailem ve arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZGEÇMİŞ

13.08.1972 Malatya doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Malatya'da tamamladım. 1989 yılında İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdim ve 1993 yılında bölümden mezun oldum. 1995 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi'nde göreve başladım ve aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans Eğitimine başladım.

