

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

28193

SİGARA DUMANININ MONOKOTİL ve DİKOTİL BİTKİLERDE
BÜYÜMEYE ETKİSİNİN HORMONAL İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömer MUNZUROĞLU

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez Tarihinde, Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından
Oybirliği / Oyçokluğu ile Başarılı / Başarısız Olarak Değerlendirilmiştir.

(İmza)

(İmza)

(İmza)

Danışman

Prof. Dr. Şener BALTEPE

ÖZET

Doktora Tezi

SİGARA DUMANININ MONOKOTİL ve DİKOTİL BİTKİLERDE BÜYÜMEYE ETKİSİNİN
HORMONAL İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömer MUNZUROĞLU

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

1993, Sayfa : 65

Bu araştırmada, bir monokotil (*Triticum aestivum* cv. Cumhuriyet) ile bir dikotil (*Cucumis sativus* cv. Beit alpha)'in tohum çimlenmesi, çimlenme sonrası safhada kök, koleoptil veya hipokotil büyümesi üzerine sigara dumanının etkileri araştırılmış ve bu olaylarda sigara dumanı ile dıştan uygulanan çeşitli büyüme maddeleri arasındaki etkileşimler belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca çimlenmeyi ve morfogenetik belirimleri tamamen engelleyecek şekilde sigara dumanı uygulanmış tohumların endogen hormon düzeyleri çeşitli spesifik biyotestlerle mukayeseli olarak belirlenmiş ve bu şekilde de sigara dumanının içsel hormon sentezine olan etkileri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre sigara dumanı uygulaması her iki bitki türünün tohumunda da çimlenmeyi önemli ölçülerde etkilemiş, özellikle çimlenme ortamında sigara dumanı bulunduğu zaman çimlenme tamamen engellenmiş, tohumlar sigara dumanı olmayan ortama alındıklarında çimlenme yeteneğini yeniden kazanmışlardır. Çimlenme üzerindeki bu inhibisyon kök, koleoptil veya hipokotil büyümesi üzerinde de belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. Sonuçta bu inhibitif etkilerin kalıcı olmadığı ve inhibisyonun devam edebilmesi için ortamda bu faktörün bulunmasının gerekli olduğu anlaşılmıştır. Sigara dumanının bu olaylar üzerinde oluşturduğu inhibisyon aynı anda ortama büyüme maddesi verilerek azaltılamamıştır. Ancak ortam sigara dumanından temizlendikten sonra hipokotillerin ve koleoptil parçacıklarının uygulanan büyüme maddelerine karşı davranış yeteneklerini tamamen kazandıkları görülmüştür.

II

Yapılan hormon ekstraksiyonları sonunda, çimlenmesi sigara dumanı uygulaması ile tamamen engellenmiş tohumlarda auksin, gibberellin ve sitokinin düzeyleri normal tohumlardaki gibi gerçekleşmiş, ancak inhibitör maddeler (ABA) düzeyinde kısmi bir artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar inhibisyonun, endogen hormon sentezinin engellenmesi yoluyla değil, başka bir mekanizmaya müdahale sonucu ortaya çıktığını göstermekte ve hücrelerin mevcut hormon düzeyine karşı duyarlılıklarında ve davranış yeteneklerinde büyük bir azalış sonucu oluştuğunu düşündürmektedir.

ANAHTAR KELİMELER : Sigara dumanı, bitki büyüme maddesi, çimlenme, fide büyümesi, engellenme, hormon ekstraksiyonu, biyolojik test.



III

SUMMARY

PhD Thesis

AN INVESTIGATION ON THE HORMONAL ASPECTS OF THE EFFECTS OF CIGARETTE SMOKE ON THE GROWTH OF MONOCOTYLEDONOUS AND DICOTYLEDONOUS PLANTS

Ömer MUNZUROĞLU

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

1993, Page : 65

In this research work, the effects of cigarette smoke on the germination of a monocot (*Triticum aestivum* cv. Cumhuriyet) and a dicot (*Cucumis sativus* cv. Beit alpha) seeds and on the subsequent coleoptile or hypocotyl and root growth emerging from these seeds have been investigated. In addition, the interaction between externally applied plant growth substances and these phenomena have been dealt with. Finally, the endogenous hormone level of the seeds whose germination and subsequent growth were completely inhibited by cigarette smoke have been determined by specific bioassays in comparison with untreated wheat seeds, in order to shed some light on the probable intervention of this treatment on endogenous hormone synthesis.

The results we have obtained may be summarized as follows :

The application of cigarette smoke have inhibited the seed germination in both species as long as this pollutant was present in germination medium, the seeds regaining their germination ability as soon as being transferred to a smoke - free medium. The same situation was also observed for the root, hypocotyl or coleoptile growth. These results have shown that the inhibitory effects of cigarette smoke on the germination and early seedling growth are of reversible nature. The inhibitory effects of cigarette smoke on the germination or growth have not been alleviated by concomittant growth substance application, but the hypocotyls or coleoptiles regained their responsiveness to specific growth substances after being transferred to a smoke - free medium.

IV

The endogenous growth substance extraction from the wheat seeds whose germination was completely inhibited by cigarette smoke application revealed almost no difference between treated and untreated seeds. The gibberellin, auxin and cytokinin levels of treated seeds were not different from those in untreated seeds, but the level of inhibitors (ABA) was somewhat increased by this treatment. These results imply that inhibition caused by cigarette smoke in the germination or early seedling growth is not caused by an intervention on the internal hormone synthesis, but by rendering the present cells in the seeds or seedlings less sensitive or more recalcitrant to the present hormone level.

KEY WORDS : Cigarette smoke, plant growth substances, germination, seedling growth, inhibition, hormone extraction, bioassay.



TEŞEKKÜR

Bana bu çalışma konusunu veren, çalıŐmalarımı yönlendiren ve çalışma süresi boyunca yardımlarını esirgemeyen tez yöneticim sayın Prof. Dr. Şener BALTEPE'ye, laboratuvar imkanları konusunda yardımlarını esirgemeyen bölüm baŐkanımız sayın Prof. Dr. Niyazi ÖZDEMİR'e ve çalışmalar sırasında yardımcı olan laborant sayın Mehmet ARICI'ya teŐekkürü bir borç bilirim.

Ömer MUNZUROĞLU



İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖZET | I |
| SUMMARY | III |
| TEŞEKKÜR | V |
| İÇİNDEKİLER | VI |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | VIII |
| TABLolar LİSTESİ | XII |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. MATERYAL ve METOD | 13 |
| 2.1. Materyalin Temini | 13 |
| 2.2. Sigara Dumanının Çimlenme Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması | 13 |
| 2.3. Sigara Dumanının Koleoptil, Hipokotil ve Kök Büyümesi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması | 18 |
| 2.4. Koleoptil Parçacıklarının Büyümeleri Üzerinde Sigara Dumanı - IAA Etkileşiminin Araştırılması | 19 |
| 2.5. Hipokotil Büyümesi Üzerinde Sigara Dumanı - Hormon Etkileşiminin Araştırılması | 21 |
| 2.6. Sigara Dumanının Çimlenmekte Olan Tohumlarda İçsel Hormon Sentezi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması | 23 |
| 2.6.1. Hormon ekstraksiyonu | 24 |
| 2.6.2. Biyolojik testler | 26 |
| 2.6.2.1. IAA ve ABA için buğday koleoptili dik büyüme testi | 26 |

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 2.6.2.2. Gibberellinler için marul hipokotili büyüme testi | 27 |
| 2.6.2.3. Sitokinlerin biyolojik test ile belirlenmesi | 28 |
| 2.6.2.4. Spektrofotometrik yöntemle ABA'in mukayeseli belirlenmesi | 29 |
| 3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA | 30 |
| 3.1. Sigara Dumanı, Tohum Çimlenmesi ve Dıştan Uygulanan Büyüme Maddeleri Arasındaki İlişkiler | 30 |
| 3.1.1. Sigara dumanının çimlenme üzerindeki etkileri | 30 |
| 3.1.2. Tohum çimlenmesi - sigara dumanı - dıştan uygulanan büyüme maddeleri arasındaki etkileşimler | 34 |
| 3.2. Sigara Dumanının Kök, Koleoptil veya Hipokotil Büyümesi Üzerindeki Etkileri | 40 |
| 3.3. Koleoptil Parçacıklarının Büyümeleri Üzerinde Sigara Dumanı - IAA Etkileşimi | 43 |
| 3.4. Hipokotil Büyümesi Üzerinde Sigara Dumanı - Hormon Etkileşimi | 45 |
| 3.5. Sigara Dumanının İçsel Hormon Sentezi Üzerindeki Etkileri | 48 |
| 3.5.1. Sigara dumanının içsel IAA ve ABA sentezi üzerindeki etkileri | 48 |
| 3.5.2. Sigara dumanının içsel gibberellin sentezi üzerindeki etkileri | 52 |
| 3.5.3. Sigara dumanının içsel sitokin sentezi üzerindeki etkileri | 55 |
| 4. KAYNAKLAR | 58 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| Şekil 2.1.1. Bitkilerin yerleştirildikleri kapalı sistem (PET bidon) ve bu kapalı sisteme sigara dumanı vermek için kullanılan vakum pompası ... | 14 |
| Şekil 2.2.1. Tohumların ıslatıldığı saf su ve büyüme maddeleri çözeltilerini sigara dumanına doyurmak için kullanılan tertibat | 14 |
| Şekil 2.3.1. Beherlerdeki filtre kağıtlarının kıvrımları arasına transplante edilen çimlenmiş buğday tohumlarının transplantasyondan belirli bir süre sonra genel görünüşleri | 19 |
| Şekil 3.1.1.1. Sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda çimlenmeye bırakılan buğday tohumlarının ıslatmadan 48 saat sonraki görünüşleri | 33 |
| Şekil 3.1.1.2. Sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda çimlenmeye bırakılan salatalık tohumlarının ıslatmadan 48 saat sonraki genel görünüşleri | 33 |
| Şekil 3.1.1.3. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su veya normal su verilen salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve hipokotil uzunlukları | 37 |
| Şekil 3.1.1.4. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su veya normal su verilen buğday tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve koleoptil uzunlukları | 38 |
| Şekil 3.1.2.1. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş veya normal GA_3 , kinetin, GA_3 + kinetin çözeltileri ve musluk suyu verilen buğday tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve koleoptil uzunlukları | 39 |

| | |
|--|----|
| Şekil 3.1.2.2. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş veya normal GA ₃ , kinetin, GA ₃ + kinetin çözeltileri ve musluk suyu verilen salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve hipokotil uzunlukları | 40 |
| Şekil 3.2.1. Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan buğday ve salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 103 saat sonra ölçülen kök, koleoptil veya hipokotil uzunlukları | 41 |
| Şekil 3.2.2. Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan buğday tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 103 saat sonraki görünüşleri | 42 |
| Şekil 3.2.3. Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı uygulanan (Deneme grubu) ve uygulanmayan (kontrol grubu) salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 103 saat sonraki görünüşleri | 43 |
| Şekil 3.3.1. Saf su ortamında ıslatılıp çimlendirilen buğday tohumlarının behere transplantasyonundan sonra temiz atmosferde (E grubu) veya sigara dumanlı atmosferde (F grubu) oluşan koleoptillerden alınan parçacıkların, temiz atmosferde (E ₁ , F ₁) veya sigara dumanlı atmosferde (E ₂ , F ₂) 14 saat sonra çeşitli konsantrasyonlardaki IAA çözeltilerine karşı büyüme davranışları | 44 |
| Şekil 3.3.2. Şekil 3.3.1.'de gösterilen E ₁ (kontrol grubu) ve F ₂ (deneme grubu) koleoptil parçacıklarının deney sonrasındaki görünüşleri | 45 |
| Şekil 3.4.1. ıslatmadan 48 saat sonra gelişme ortamlarına sigara dumanı verilen (S grubu) ve bundan 48 saat sonra GA ₃ veya Bereleks uygulanarak temiz (S ₁) ve sigara dumanlı (S ₂) atmosferlerde 2200 lux ışık altında 48 saat bekletilen salatalık fidelerinin gösterdikleri büyüme davranışının kontrol bitkileri (KG) ile mukayeseli ölçüm sonuçları | 46 |

| | |
|--|----|
| Şekil 3.4.2. Şekil 3.4.1.'de anlatılan S ₂ (deneme grubu) ve KG (kontrol grubu) bitkilerinin deney süresi sonunda görünüşleri | 47 |
| Şekil 3.5.1.1. Sigara dumanı uygulanmamış buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının kâğıt kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, buğday koleoptili dik büyüme biyotesti ile ölçülen IAA ve ABA aktiviteleri | 49 |
| Şekil 3.5.1.2. Sigara dumanı uygulaması ile çimlenmesi engellenmiş buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının kâğıt kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, buğday koleoptili dik büyüme biyotesti ile ölçülen IAA ve ABA aktiviteleri | 50 |
| Şekil 3.5.1.3. Sigara dumanı uygulaması ile çimlenmesi engellenmiş (deney) ve sigara dumanı uygulanmamış (kontrol) tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi sonunda ABA'e tekabül eden bölgenin metanol eluatında ölçülen absorban değerleri | 51 |
| Şekil 3.5.2.1. Sigara dumanı uygulanmamış buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, marul hipokotili büyüme biyotesti ile ölçülen gibberellin aktiviteleri | 53 |
| Şekil 3.5.2.2. Sigara dumanı uygulaması ile çimlenmesi engellenmiş buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, marul hipokotili büyüme biyotesti ile ölçülen gibberellin aktiviteleri | 54 |
| Şekil 3.5.3.1. Sigara dumanı uygulanan (deneme grubu) ve uygulanmayan (kontrol grubu) buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat ile ayrıştırılması sonunda geriye kalan ve bazik maddeleri içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile saptanan sitokinin aktiviteleri | 55 |

| | |
|---|----|
| Şekil 3.5.3.2. Turp kotiledonlarının, sigara dumanı ile muamele edilen (deneme grubu) ve edilmeyen (kontrol grubu) buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının su fazlarında ve 500 lux ışık altında 60 saat sonra saptanan durumları | 56 |
|---|----|



TABLULAR LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 3.1.1.1. Değişik aşamalarda çimlenme ortamlarına sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan buğday tohumlarının farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri | 31 |
| Tablo 3.1.1.2. Değişik aşamalarda çimlenme ortamlarına sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan salatalık tohumlarının farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri | 32 |
| Tablo 3.1.2.1. Sigara dumanı ile doyurulmuş ve doyurulmamış belirli konsantrasyonlardaki GA ₃ , kinetin ve GA ₃ + kinetin veya musluk suyunda ıslatılan buğday tohumlarının, sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri | 35 |
| Tablo 3.1.2.2. Sigara dumanı ile doyurulmuş ve doyurulmamış belirli konsantrasyonlardaki GA ₃ , kinetin ve GA ₃ + kinetin veya musluk suyunda ıslatılan salatalık tohumlarının, sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri | 36 |

1. GİRİŞ

Özellikle yirminci yüzyılın ikinci yarısında antropolojik faktörlerle beliren ve bütün canlıları tehdit eder bir duruma gelmiş olan, atmosferde, toprakta ve sulara değişik ölçülerde ortaya çıkan çevre kirliliği, öncelikle ele alınıp acil tedbirlerle çözümlenmesi gereken çağımızın en önemli sorunu haline gelmiştir. Canlı organizmaların doğrudan temasta oldukları hava, toprak ve suyu kirleten öğelerin canlılardaki fotosentez, solunum, boşaltım gibi hayatsal metabolik etkinlikler, morfolojik- anatomik karakterler ve genetik materyalin yapısı üzerinde ve ayrıca üreme, çimlenme, büyüme, gelişme gibi temel olaylarda da olumsuz etkiler yapması, konunun önemini açık bir şekilde ortaya koymaktadır.

Hava kirleticilerinin serbest difüzyon imkanı bulmaları yanında, hava akımlarıyla geniş alanları etkileri altına almaları, problemin büyüklüğünü ve tehlikesini daha da arttırmaktadır. Aktif hareket etme yeteneği olmayan ve besin zincirinin en önemli halkasını oluşturan bitkilerin, bu kirleticilerden doğrudan etkilenmesi ve doğal olarak korunamaması, bütün canlılar açısından önem taşımaktadır.

Hava kirliliğine yol açan faktörlerin başlıcaları; endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların eksoz gazları, baca gazları, yakma işlemleri (çöp, sigara, yakıt), soğutucu ve sprey kullanılması, volkanik faaliyet ve orman yangınlarıdır.

Kirleticilerin bitkiye iki ana giriş yolu olup bunlar kök ve yapraklardır. Genel olarak hava pollusyonuna yol açan ve yapraklardan bitkiye giren kirletici öğeler arasında kükürt dioksit (SO_2), azot oksitleri (NO_x), ozon (O_3) ve diğer fotokimyasal ürünleri, florürler (F^-), etilen, klor (Cl_2), karbon monoksit (CO), hidrojen sülfür (H_2S), amonyak (NH_3), HCl ve çeşitli eksoz gazı bileşenleri bulunur. Bu bileşiklerden bir kısmının tütün dumanının bileşiminde de bulunması, konuyu bu çerçevede ele alıp incelememize neden teşkil etmiştir. Çünkü diğer çevre kirleticilerinin bitkilerdeki etkileri bazı araştırmacılar tarafından incelendiği halde, etkisi çok dar kapsamda olan, insan ve hayvan organiz-

malarına girdikten sonra kapalı sistemlerde etkisi incelenen sigara dumanının bitkilerdeki etkileri konusunda bir-iki çalışma dışında, bir literatür verisine rastlamamış bulunmaktayız.

Genel hava kirleticilerinin bitkiler üzerindeki etkileri konusunda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Örneğin kükürt elementini içeren yakıtlardan atmosfere verilen kükürt dioksit (SO_2)'in bitkiler üzerinde zararlı etki yaptığı çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir. SO_2 gazının etkisinde kalan bazı bitkilerde gelişmenin zayıfladığı, bitki örtüsünün tahrip olduğu (Çetik, 1965) saptanmıştır. Bu gazın klorozis ve nekrozise neden olduğu, fide büyümesini önemli ölçüde engellediği (Godzik vd., 1985), kök büyümesini gövdeden daha fazla etkilediği (Jones vd., 1982) rapor edilmiştir. Işık, nem ve katalizör iz elementlerin etkisiyle SO_2 , SO_3 'e dönüşür. Bu gaz ise H_2SO_4 'i meydana getirir. Küçük partiküller halinde havada asılı duran sülfürik asit, yağmurla yeryüzüne inerek asit yağmurlarına sebep olur. Asit yağmurları sonucu bitkilerde bazı türlerde büyümenin engellendiği ve stomaların kapanarak transpirasyonun azaldığı (Neufeld vd., 1985), yaprağın tahrip olduğu, özellikle yaprak karakteristiklerinde değişikliklerin meydana geldiği (Evans vd., 1977; Haines vd., 1985) tespit edilmiştir. Bu yağmurların etkisiyle fotosentezin azaldığı (Neufeld vd., 1985) veya arttığı (Irwing ve Miller, 1980) şeklinde çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Yüksek ısı veren yanmalar sonucu açığa çıkan, eksoz gazı ve tütün dumanının bileşiminde de yer alan azot oksitlerinden (NO_x) önemli olanları NO ve NO_2 'dir. Ancak çok yüksek düzeylerde bulunduğu zaman bitkiler için toksik etki gösteren NO_2 'in yapraklarda nekrotik bölgelerin oluşumuna ve daha sonra defoliasyona yol açtığı (Naegele, 1974) belirlenmiştir. NO_2 'in yapraklarda renk kaybına yol açtığı (Heck, 1964), fotosentez hızını azalttığı (Hill ve Benneth, 1970) rapor edilmiştir. Ayrıca NO_2 ile SO_2 arasında zarar oluşturma bakımından sinergistik bir etki bulunduğu da saptanmış olup (Godzik vd., 1985; Zahn, 1970) NO_2 'in önceden uygulanması daha sonradan uygulanan SO_2 'in zararlı etkilerini olağanüstü arttırmıştır.

Azot oksitleri ve hidrokarbonların fotokimyasal reaksiyonları sonucunda peroksiaçil nitratlar oluşur. Bu bileşikler ise fotokimyasal sisin içinde bulunurlar. Fotokimyasal sisin bitkilerde oluşturduğu en tipik etki mezofil tabakasının çökmesi ve yaprağın alt kısmının parlak, bronz bir renk almasıdır. Ayrıca bu sisin bitkiye zarar veren asıl yapı taşı ozondur (Naegele, 1974). Ozon (O₃)'un bitkilerde anatomik bozukluklara yol açtığı, palizat parenkiması ultrastrüktürüne olumsuz etkiler yaptığı (Thomson vd., 1965), mısırdaki polenlerin çimlenmemesi sonucu toplam genetik şifrenin sadece belirli bir kısmının aktarılmasıyla ürün kaybına sebep olduğu (Naegele, 1974) rapor edilmiştir.

Hava pollusyonuna yol açan önemli etmenlerden biri de karbon monoksit, azot oksitleri, hidrokarbonlar ve kurşun (Pb), çinko (Zn), kadmiyum (Cd) gibi çeşitli bileşik ve elementleri içeren eksoz gazlarıdır. Yola yakın alanlarda ve yol kenarlarında yetişen ot, çalı ve ağaçlar ile ekimi yapılan tarım ürünlerinin eksoz gazlarından olumsuz yönde etkilendiği bilinmektedir. Colwill ve arkadaşları (1982) trafiğin yoğun olduğu yerlerde yetişen bitkilerin yapraklarında metal, yağ ve toz damlacıklarının siyah bir tabaka meydana getirdiğini ve bu partiküllerin stomaları kapatmak suretiyle fotosentez hızını yaklaşık % 20 oranında azalttığını rapor etmişlerdir. Yine bu gazın etkisiyle yapraklarda klorozis ve nekrozis görüldüğü, büyümenin engellendiği (Türkan, 1988; Munzuroğlu 1988), stomaların kapandığı, epidermis, mezofil ve iletim dokularının bütünlüğünün bozulduğu, biyokütlesel verimlilik ve yaprak alanının azaldığı (Türkan, 1988) tespit edilmiştir. Buğday ile yapılan bir çalışmada eksoz gazının çimlenmeyi engellediği, klorofil ve total azot miktarını azalttığı, kök ve gövde büyümesini engellediği (Munzuroğlu 1988) belirlenmiştir. Ayrıca eksoz gazında bulunan çinko, kurşun ve kadmiyum gibi kirleticilerin trafiğin yoğun olduğu alanlardaki vejetasyon üzerinde birikim gösterdiği ve zararlı etkiler oluşturduğuna dair çok sayıda çalışma vardır (Örneğin Thomas vd., 1973, 1975; Goldsmith, 1976; Dmowski ve Karolewski, 1979 ; Lee vd., 1983 ; Türkan, 1986 ; Hernandez vd., 1987). Bu elementlerden kurşunun stomaları kapatarak fotosentezi ve terlemeyi engellediği (Bazzaz vd., 1974), NADH oksidasyonunu stimüle ettiği (Hasset vd., 1976) belirlenmiştir.

Eksoz gazında fazlaca bulunan ve bitki hormonu olarak da büyük bir önem taşıyan etilen gazının bitkilerde büyümeyi engellediği, apikal dominansinin etkisini azalttığı, yapraklarda klorozis, nekrozis ve dökülmeye yol açtığı (Beevers, 1976) saptanmıştır.

Bitki hormonlarının biyosentezi, taşınması veya etkinlikleri üzerinde kirleticilerin etkileri konusunda fazla bir şey bilinmemektedir. Ancak SO₂ gazının hormonlardan bazılarını etkilediği (Hällgren, 1978) ileri sürülmüştür. Sülfid (SO₃)⁻²'in deney tüpünde indol asetik asit (IAA)'in oksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Meudt, 1971; Yang ve Saleh, 1973). Canlı şartlarda SO₂'in bitki çimlenmesi, çiçeklenme, yaprak dökümü ve senesens üzerindeki etkilerinin, kirleticinin bitki hormonlarıyla karşılıklı etkileşimleri temeline dayalı olduğu (Hällgren, 1978) rapor edilmiştir. O₃ ve SO₂'e maruz kalan bitkilerde etilen sentezinin arttığına dair çok sayıda bulgu vardır (Tingey vd., 1976 ; Peiser ve Yang, 1979 ; Bucher, 1981 ; Kimmerer ve Kozlowski, 1982). Stomalardan yapraklara giren SO₂ ve O₃'un asma yapraklarında hasara yol açtığı (Rosen vd., 1978) gözlenmiştir. Fasulye bitkisini ABA (absisik asit) ile muamele eden Fletcher ve arkadaşları (1972) O₃'un yol açtığı toksisite etkilerini azaltabilmişlerdir. Bu koruyucu etkinin stomaların kapanması ve ozonun stomalardan girmesinin engellenmesi sonucu olduğu açıktır. Taylor ve arkadaşları (1981) düşük düzeyde SO₂'in *Vicia faba* epidermal şeritlerinde stomaların açılmasına, yüksek düzeyde SO₂'in ise stomaların kapanmasına yol açtığını, düşük düzeyde ABA ile SO₂ arasında doğrudan antagonizma bulunduğunu gözlemişlerdir.

Hidrojen florür, kükürt dioksit ve ozonun düşük düzeyleri ile bitki büyümesinin stimüle edildiği (Bennett vd., 1974) bilinmektedir. Bir toksik maddenin düşük dozları ile bir fizyolojik olayın görülür biçimde hızlandırılmasına "hormesis" (Stebbing, 1979) veya "hormoglosis" (Luckey, 1986) denir. Bu durum hayvanlarda çok iyi bilinmektedir. Konukçu bitkinin kalitesindeki farklara karşı böceklerin duyarlı oldukları ve daha hızlı büyüyen bitkilerde kalitenin daha iyileştiği (Mattson, 1980) dikkate alındığında, bu şekilde stimüle edilmiş

bitkilerde yaşıyan böceklerde daha fazla çoğalma olduğu ortaya çıkmaktadır. IAA, gibberellinler ve sitokinler bazı böceklerin yaşam sürelerini ve döl verimlerini arttırmaktadır (Neumann - Visscher, 1982). McNary ve arkadaşları (1981)'nın çayırliklarda SO₂ dumanına maruz bırakılmış parsellerdeki graminlerin üzerinde çekirge popülasyonunda azalma görmüş olmaları, bu pollutantın bitki hormonlarının düzeyinde bir değişikliğe yol açtığı ve böcekleri etkilediği kanısını uyandırmıştır. SO₂'e maruz kalmış bitkilerde etilen içeriğinin artması sebebiyle bitkiler çabuk yaşlanmakta ve bu yaşlanmayla birlikte bunlarla beslenen çekirgelerin olgunluğa erişme ve döl verimlerinde azalma görülmektedir. Genelleştirecek olursak bazı çekirge ve afit türlerinde IAA, gibberellin ve sitokinler hayat süresini ve döl verimini arttırdıkları halde ABA ve etilen gibi büyümeyi engelleyici hormonlar engelleyici etki göstermektedir. Bu etkilerin, kirleticilerin etkisiyle konukcu dokuda hormona bağlı değişimlerin nedeniyle mi ortaya çıktığı veya böcekler üzerinde hormonların doğrudan bir etkisinin mi söz konusu olduğu bilinmemektedir. Ancak fitofag böceklerde çevre kirleticilerinin yol açtığı hormonal değişimlerin etkisinin önemi de açıkça ortaya konmuştur.

Tütün dumanının tüm atmosfer göz önüne alındığında, genel hava polusyonu içindeki birim hacimde oranı, hava kirliliğine yol açan ve diğer sayfada belirtilen kirletici kaynaklara kıyasla çok azdır. Ancak bilinen ve makro düzeyde hava kirlenmesine yol açan kaynaklardaki kirletici faktörlerden çok daha fazla sayıda toksik, irritant ve kanserojen maddeleri içeren sigara dumanı sağlık açısından ve birçok olumsuz etkileri bakımından çok fazla önem verilmesi gereken bir kirletici faktördür. İçimi çok fazla olan ve insanların yaşadığı hemen her ortamdan atmosfere verilen tütün dumanının belirli bir merkezden kirletici kaynak olarak havaya verilmemesi, havaya verilen tütün dumanının ise çok fazla seyreltilerek yayılması, ona açık sistemlerde gerekli önemin verilmemesine neden olmuştur. Bundan dolayı tütün dumanının ekosistemlerde zararlı etkilere yol açtığını, bitki örtüsünü tahrip ettiğini ve diğer canlı organizmaları olumsuz yönde etkilediğini söylemek pek de gerçekçi bir yaklaşım olmaz. Fakat kapalı ortamlarda oluşan tütün dumanı lokal olarak bu ortamlar

için havayı kirleten temel etmenlerin başında gelmektedir. Bu kapalı alanların genelde küçük oluşu, havalandırma sistemlerinin olmayışı veya yetersiz oluşu, tütün dumanının ortam havasındaki yoğunluğunu çok fazla arttırmaktadır. Ortamda birikim gösteren tütün dumanı öğeleri solunum yoluyla canlı doku ve hücrelere kadar taşınarak başta insan olmak üzere omurgalı hayvanlarda çeşitli toksik etkilere, fizyolojik ve anatomik bozukluklara yol açmaktadır. Hava kirliliğine yol açan ve bitkiler üzerindeki etkileri yukarıda açıklanan maddelerden büyük bir kısmının ya kendisi ya da öncülü, tütün ürünlerinin yanmasıyla oluşan duman içerisinde bulunmaktadır. Atmosfere verilen kirletici öğelerin büyük bir kısmının sekonder tepkimeler yoluyla canlılarda toksik etki yapan pek çok yan ürünün oluşmasına sebep olduğu bilinmektedir. Buna örnek olarak kükürt oksitlerinin atmosferdeki su buharı ile birleşerek asit yağmurlarına yol açması, azot oksitleri ve hidrokarbonların fotokimyasal reaksiyonları sonucunda peroksiaçil nitrat (PAN)'ların oluşması verilebilir.

Tütünün yanmasıyla oluşan sigara dumanının içerisinde 3900'den fazla değişik kimyasal yapıda madde bulunmuştur. Bu kimyasal maddelerden bir kısmı gaz halindedir. Bu maddelere örnek olarak azot oksitleri, karbon monoksit, amonyak, uçucu aldehit ve ketonlar, benzen, ürethan, uçucu veya aromatik aminler verilebilir. Bir kısmı ise çapları 0,1 ile 1 mikrometre arasında değişen sıvı veya katı partiküller şeklindedir. Bunlara da örnek olarak metaller, katran, nikotin ve polinükleer aromatik hidrokarbonlar verilebilir. Ayrıca bu maddelerin konsantrasyonu sigara başına nanogramdan miligrama kadar değişiklik göstermektedir.

Tütün dumanında bulunan ve laboratuvarında toksik ve kanserojen etkileri saptanan çeşitli bileşik sınıflarındaki sigara dumanı yapı taşı örnekleri aşağıdaki gibidir;

- **Amonyak ve Uçucu Aminler;** amonyak, etilamin, metilamin, dimetilamin, pridin, prolidin, trimetilamin, hidrazin...
- **Uçucu Aldehit ve Ketonlar;** asetaldehit, aseton, akroleyn, formaldehit, furfurol, krotentaldehit...
- **Diğer Uçucu Bileşikler;** benzen, ürethan, vinil klorid, karbon monoksit, azot oksitleri, hidrosiyamik asit...

- **Çok Çekirdekli Aromatik Bileşikler** ; fluoren, fluoranthen, karbakzol, kronen, perilen, antrasen, antantren, benzo (b) fluoren, metilfluoranten...
- **Alkoller**; butanol-1, butanol-2, metanol, etanol, propanol-1...
- **Fenolik Bileşikler ve Kinonlar** ; katekol, guakol, fenol, etil fenol, 1- naftol, 2- naftol, 4- vinil alkol, 4- vinil guakol...
- **Karboksilik Asitler** ; asetik asit, benzoik asit, formik asit, laktik asit, süksinik asit, propiyonik asit, n- bütirik asit...
- **Laktonlar** ; kumarin, γ - bütirik lakton..
- **Aromatik Aminler** ; anilin, toluidin, 2, 3 ve 4 etilalinin, 1 ve 2 naftilaminler..
- **Pridin ve Prolidinler** ; pridin, 3- vinil pridin, n - nitrosamin, 3- metilpridin, 2- metilprazin...
- **İz Elementler** ; alüminyum, antimoan, arsenik, bizmut, kadmiyum, kobalt, bakır, kurşun, magnezyum, mangan, nikel, potasyum, selenyum, sodyum, çinko...
- **Katran ve Nikotin.**

Bu şekilde özetleyebileceğimiz katı, sıvı ve gaz halindeki sigara dumanı yapı taşı örneklerinden amonyak, azot oksitleri, çeşitli hidrokarbonlar, karbon monoksit, fluorürler ve çeşitli iz elementler değişik kaynaklardan atmosfere verilen ve açık sistemlerde hava pollusyonuna yol açarak canlı organizmaları etkileyen faktörlerden bir kısmıyla aynı türdendir. Ayrıca daha önce de belirttiğimiz gibi bu kirletici öğeler atmosferdeki sekonder tepkimeler sonucu çok sayıda toksik etkiler oluşturan yan ürünlere dönüşmektedirler.

Tütün dumanının insan ve deney hayvanlarında oluşturduğu etkiler konusunda şimdiye kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Aktif olarak içe çekilen, solunum ve dolaşım yoluyla hücrelere kadar taşınan sigara dumanının hücre ve dokularda anatomik, fizyolojik ve genetik bozukluklara yol açtığını gösteren çok sayıda veri elde edilmiştir. Kapalı alanların atmosferindeki dumanı solunum yoluyla pasif olarak alan (pasif içicilik) canlıların da bu dandan etkilendiği muhakkaktır. Sigara dumanını doğrudan almayan pasif içiciler hem ortamdaki yan dumana, hem de sigara içenlerin sigara içerken içlerine

çektikleri ana dumana maruz kalmaktadırlar. Ortamdaki bu dumanın seyreltilmesi içerdiği toksik madde miktarını belirli oranlarda azaltabilir. Fakat kapalı olan ortamda lokal olarak belirli bir ölçüde etkileyici olur.

İnsanlarda, tütün dumanı bileşenlerinin somatik hücrelerde genetik hasara yol açtığı tespit edilmiştir. Sigara içenlerin somatik hücrelerinde görülen kromozom hasarları arasında yapısal bozulmalar, kardeş kromatid değişimleri ve mikronukleuslar sayılabilir. Sigara içen bireylerin kan hücrelerinde görülen kromozomal sapmaların, içilen sigaranın katran miktarıyla doğru orantılı olduğu (Heseltine Vd., 1988) bildirilmektedir. Aktif içicilik ile alınan sigara dumanının insanlardaki bilinen en önemli etkisi kansere yol açmasıdır. Yunanistanda (Atina) sigara dumanı, hava kirliliği ve akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir araştırmada (Trichopoulos vd., 1987) genel hava kirliliği ile akciğer kanseri arasında doğrudan bir ilişki bulunmadığı anlaşılmıştır. Ancak sigara dumanı (veya tütün kullanılması) ile akciğer kanseri arasında bir paralelliğin bulunduğu, yani sigara dumanının akciğer kanseri üzerine hava kirliliğinden daha büyük etkisi olduğu belirlenmiştir.

Tütün ürünlerinin yanması sonucu oluşan duman içerisindeki çeşitli moleküllerin insan ve hayvanlarda kansere yol açan bir faktör olması yanında ana zehirleyici fonksiyona sahip olduğu da bilinmektedir. Bu fonksiyon tütün dumanında bulunan karbon monoksit, azot oksitleri, amonyak, hidrojen siyanür ve akroleyn gibi gaz halindeki moleküllerden kaynaklanmaktadır. Özellikle mutajenik ve kanserojenik etki yapan ajanların çoğunluğu katı (partikül) fazla bulunur. Kansere yapıcı maddelerin başında polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve n - nitroso bileşikler gelir. Bunlar dışında tütün dumanında kansere yol açabilecek birçok bileşik varsa da konsantrasyonları çok düşük miktarlarda olduğu için büyük etkileri olduğu düşünülmemektedir. Sigara dumanında bulunan n - nitrosomnikotin miktarı 2 ile 9 ppm kadardır. Bu, bir n - nitrosamin bileşiğinin yiyecek ve içeceklerde bulunacağı tehlike sınırının çok üzerindedir (Royal College of Physicians of London, 1977). Katı fazda bulunan önemli yapılardan biri de katrandır. Katran çok sayıda inorganik ve organik madde içeren kompleks bir karışımdır. Bu maddelere örnek olarak arsenik, benzen, vinil klorid, formaldehit, hidrazin, benzo(b) fluoranthen, 2 -

nitroproean ve DDT verilebilir. Bu maddelerden çoğunluğunun laboratuvar hayvanlarında kansere yol açabileceği (Heseltine vd., 1988) vurgulanmaktadır. Sigara dumanı katranında bulunan ve deney hayvanlarında kansere yol açtığı belirtilen maddeler tam kanserojenler, tümör başlatanlar ve tümörleri geliştirirler şeklinde üçe ayrılmaktadır. Tam kanserojenler belli doz seviyelerinin üzerlerinde deney hayvanlarında doğrudan kansere neden olurlar. Tümör başlatan maddeler kanserojenik olayların ilk safhalarını başlatırlar. Tümörleri geliştirenler ise doğrudan kansere yol açamazlar. Fakat başlamış olan tümörleri geliştirirler.

Deney hayvanlarıyla yapılan bilimsel araştırmalarda, hayvanın ya bütün vücudunu ya da sadece burun kısmını sigara dumanına maruz bırakacak düzenekler kullanılmıştır. Bu durum ise sigara dumanını zorla teneffüs etme mecburiyetinde bırakılan hayvanların nefes alıp verme şekillerini değiştirmelerine ve daha az hava alacak şekilde kısa süreli nefes almaya başlamalarına neden olmuştur. Bu da solunum sisteminin çeşitli kısımlarına uygulanan dozları etkilemiştir. Açık olmayan sistemlerde sigara dumanına maruz bırakılan ve aktif olarak sigara dumanını çekmek zorunda bırakılan deney hayvanlarında, sigara dumanının aşındırıcı ve toksik etki yaptığı, dumanın bütününün veya gaz halindeki kısmının zehirleyici etkiler meydana getirdiği (Heseltine vd., 1988) belirtilmektedir.

Kapalı ortamlarda sigara dumanına maruz bırakılan fare ve sıçanların solunum sistemlerinde tümörlerin meydana geldiği görülmüştür. Yine sıçan türündeki kemiricilerde, sigara dumanının etkisiyle larinks tümörlerinin olduğu tespit edilmiştir. Tavşan ve köpekler üzerinde yapılan araştırmalarda ise kesin sonuca varacak veriler elde edilememiştir. Farelerin derilerine, arka arka ve yeterli miktarda tütün dumanı uygulandığında veya derinin altına enjekte edildiğinde selim ve habis tümörlerin meydana geldiği görülmüştür. Hayvanların bazılarında burunda çok etkili bir filtre sistemi bulunmasına ve akciğerlerine çok az duman erişebilmesine rağmen sigara dumanına maruz bırakıldıklarında, solunum yollarında kanser dahil önemli patolojik değişimler ortaya çıkmıştır. Yoğunlaştırılmış sigara dumanı ve onun bileşenleri tümör başlatıcı, ilerletici ve diğer kanserojenik etkiler yapmaktadır. Farelerin ciğerle-

rine yoğunlaştırılmış sigara dumanı doğrudan enjekte edildiği zaman habis urlar meydana gelmiştir. Ve yine farelerin ağız mukozasına yapılan sigara dumanı uygulamasının akciğer tümörlerine neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca deri tümörü oluşum hızı ve hatta zamanı kullanılan tütünün niteliği, dozu, ambalajlanma şekli, kesiliş şekli ve dumanın uygulanış biçimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Kronik olarak sigara dumanına maruz bırakılan hayvanlar daha yavaş kilo alırlar. Bu hayvanlar aynı zamanda diğer bazı hücrel ve biyokimyasal davranışlar da gösterirler. Örneğin kandaki karboksihemoglobin (HbCO₂) düzeyi artar. Bu ise sigara dumanındaki karbon monoksit (CO)'ten kaynaklanmaktadır. Akciğer sıvısında bulunan bazı doku enzimlerinin düzeyi yükselir ve pulmoner fonksiyon (soluk alıp verme fonksiyonu) azalır. Köpeklerde fibrotik (lifs) değişimler gözlenir. Fakat sigara dumanına maruz bırakma sona erdirildiği zaman bu fonksiyonel ve patolojik değişimlerin çoğunluğu ortadan kalkmaktadır. Enzim değişimleri üzerine sigara dumanının etkileri konusunda yapılan çalışmaların sonuçlarına göre; bu enzimler, kobay hariç dene bütünü rodentlerde indüklenmiştir. Bu indükleyen faktörlerin ise tütün dumanının partikül kısmında bulunduğu (Heseltine vd., 1988) bildirilmektedir. Yine bu değişimlerin RNA ve protein sentezine bağımlı olduğu görülmüştür. İndüklenen enzimler ise birçok kimyasal karsinojenin metabolizmasını değiştirmektedir. Bunun sonucu olarakta DNA'ya bağımlı metabolitlerin düzeyi değişmektedir.

Sigara dumanının yoğunlaşmış halde bulunduğu odalara yerleştirilen filtreler üzerinde toplanan parçacıklı kısım ve sigara dumanının tümünün *Salmonella typhimurium* bakterisinde mutagenik etki yaptığı görülmüştür. Katran içeriğindeki farklılıklar ve bir filtrenin bulunup bulunmayışı mutagenik etkinliği önemli ölçüde değiştirmemiştir. Bandyopadhyay ve Sharma (1960) da tütün dumanının mutagenik etkisinin bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Sigara dumanı bileşenlerinin genetik ile ilgili ayrıca şu etkileri yaptığı görülmüştür; Farelerde DNA'daki bozulmaların onarımının engellenmesi, maya ırklarında ve meyve sineği (*Drosophila melanogaster*)'nde genetik değişikliklere

yol açması, tütün dumanına maruz bırakılmış rodentlere ait kemik iliği hücrelerinde ve izole edilmiş insan lenfositlerinde kromozomal değişimlerin (kardeş kromatid değişimi) frekansının arttırılması, ayrıca kültüre alınmış memeli hücrelerinde mutasyona, kromozomal değişimlere ve neoplastik değişimlere... vb. yol açması. Hatta sigara dumanına maruz bırakılan farelerin ve babunların idrarları, *Salmonella typhimurium* bakterisinde mutagenik enkenlik göstermiştir.

Tütün veya sigara dumanının insan, çeşitli memeli türleri ve diğer hayvansal organizmalar, maya ve bakteri ırklarında oluşturduğu bu çok sayıdaki olumsuz etkiler yanında, ana üreticiler durumunda olan bitkilerde de meydana getirdiği etkiler üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Fakat bu araştırmalar hem nicelik olarak çok azdır ve hem de nitelik olarak dar kapsamlıdır. Bu çok az sayıdaki araştırmaların bir kısmı ise çok eski tarihlere dayanmaktadır. Ayrıca elde edilen bulguların çoğu morfolojik karakterdedir.

Tütün dumanının bitkiler üzerindeki etkileri konusunda yapılan iki farklı çalışmada, tütün dumanı uygulanan köklerde anormal gelişmelerin olduğu (Knight, 1913; Molichs, 1916) tespit edilmiştir. Başka bir araştırmada ise sigara dumanlı ortamda büyümeye bırakılan ve dumanın etkinliği altında gelişmeleri incelenen genç fidelerin gelişim devrelerinde anormal gelişmelerin ortaya çıktığı (Stiles, 1950) saptanmıştır. Yakar - Olgun (1959) sigara dumanı katranı ile muamele edilmiş kök hücrelerinin bölünme devrelerinde mikronukleuslar ve kromozom köprüleri gibi düzensizliklerin meydana geldiğini ve sigara dumanı katranının bitkilerde sitolojik etkiler oluşturduğunu rapor etmiştir. Buna benzer bulgular Çivici(1987) tarafından da saptanmıştır. Araştırmacı sigara dumanı uyguladığı 30 saatlik genç *Vicia faba* ve *Pisum sativum* köklerinde; sitolojik yönden deneme ve kontrol örnekleri arasında tipik farklılıkların bulunduğunu ve alınan enine kesitlerde deneme bitkilerinin nukleus ve hücre alanlarının kontrol bitkilerine oranla daha fazla olduğunu saptamıştır. Yine aynı araştırmacı sigara dumanı uygulanan köklerin kontrol köklerine oranla morfolojik olarak daha kısa ve kalın olduğunu gözlemiştir. Özörgücü ve arkadaşları (1986) kolşisin ve sigara dumanı uygulanmış genç *Vicia faba* ve *Pisum sativum* köklerinde boyca belirgin bir kısalmanın ve ence de bir artışın olduğunu rapor

etmişlerdir. Bu araştırcılar ayrıca kolşisin ve sigara dumanı uygulanan kök hücreleri nükleuslarında DNA miktarında bir artışın olduğunu da saptamışlardır.

Sigara dumanının bitkiler üzerindeki etkileri konusunda yaptığımız çok yönlü yayın taramaları sonucunda ancak yukarıdaki birkaç araştırma örneğine rastlamış bulunmaktayız. Bu da konunun çok az çalışılmış olduğunu göstermektedir. Özellikle sigara dumanının bitki hormonlarının sentezi, düzeyi ve taşınması üzerindeki etkileri konusunda hiç bir bilimsel yayına rastlamamış bulunmaktayız. Zaten açık sistemlerde hava pollusyonuna yol açan diğer hava pollutantlarının bitki hormonları üzerindeki etkinlikleri konusunda yapılan araştırma sayısı da yok denecek kadar azdır. Kanımızca açık sistemlerde sigara dumanından kaynaklanan hava kirliliğinin önemsiz oluşu, ekosistemlerdeki canlılarda etkili olabilecek konsantrasyonlarda bulunmayışı konunun üzerine yeteri kadar eğilinmemesine neden olmuştur.

Kapalı sistemlerde oluşan sigara dumanının canlılar üzerindeki etkileri konusunda ise genelde insan ve memeli hayvanlar dikkate alınmıştır. İnsanın aktif içici olması, sigara kullanan insan sayısının her geçen gün artması ve insan sağlığını etkileyen önemli bir faktör olması, konuya öncelikle bu açıdan bakma zorunluluğunu doğurmuştur. Ayrıca insanın bilimsel çalışmalarda denek olarak kullanılmaması, araştırmalarda insan organizmasına benzeyen memelilerin tercihen araştırma materyali olarak kullanılmasına neden olmuştur.

Bu bakımdan, genelde hava kirletici kaynaklarda bulunan bir çok faktörü içeren sigara dumanının bitkilerde çimlenme, ilk morfogenetik belirimler ve büyüme fenomenleri üzerinde etkilerini incelemek ve bu etkileri içsel hormon düzeyindeki farklılıklara dayalı olarak açıklayabilmek amacı ile konuyu şimdiye kadar ele alınmamış bir yönüyle incelemek ve bu konuyu elimizden geldiğince açıklığa kavuşturmak için bu çalışmayı yapmayı planlamış bulunuyoruz. Böylece bir anlamda daha önceki bir çalışmamızın (yüksek lisans) da sınırlarını biraz daha genişletme olanağını bulacağımız düşüncesi ve kanısındayız.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyalin Temini

Araştırmalarımızda bitkisel materyal olarak monokotil bir bitki olan buğday (*Triticum aestivum* cv. Cumhuriyet) ile bir dikotil bitki olan salatalık (*Cucumis sativus* cv. Beit alpha) tohumları ve ayrıca biyolojik testler için marul (*Lactuca sativa* cv. Yedikule) tohumları ile turp (*Raphanus sativus* L.) tohumları kullanılmıştır. Buğday tohumları Tarım ve Orman Bakanlığı Güneydoğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Diyarbakır)'nden, salatalık ve marul tohumları Bahçe Tohumları Anonim Şirketi (İstanbul)'nden temin edilmiştir.

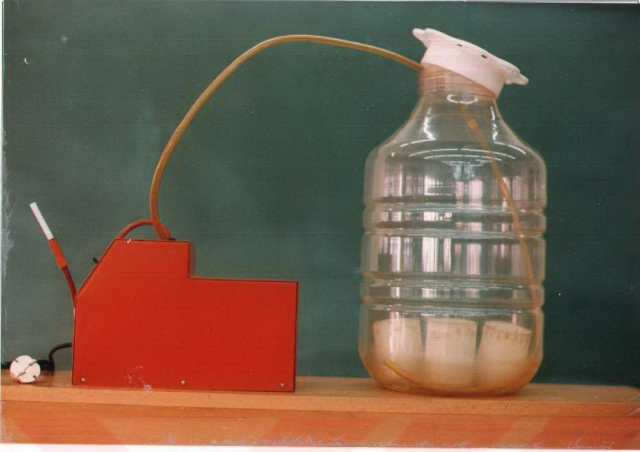
Deneylerde kullanılan indol - 3 - asetik asit (IAA) Merck, gibberellik asit (GA_3) Cambrian Chemicals, Bereleks (%92 GA_3 , % 8 diğer GA'ler) ICI, absisik asit (ABA) Fluka AG ve kinetin SIGMA firmalarından temin edilmişlerdir.

Bütün deneylerde, doz olarak bir adedinin tütün ağırlığı 0,9 gram olarak belirlenen filtresiz Bitlis sigaraları kullanılmıştır. Bitkiler 20'şer litrelik şeffaf PET bidonların oluşturduğu kapalı sistemlerde yetiştirilmişlerdir. Bu kapalı sistemlere şekil 2.1.1.'deki vakum pompası kullanılarak sigara dumanı verilmiştir.

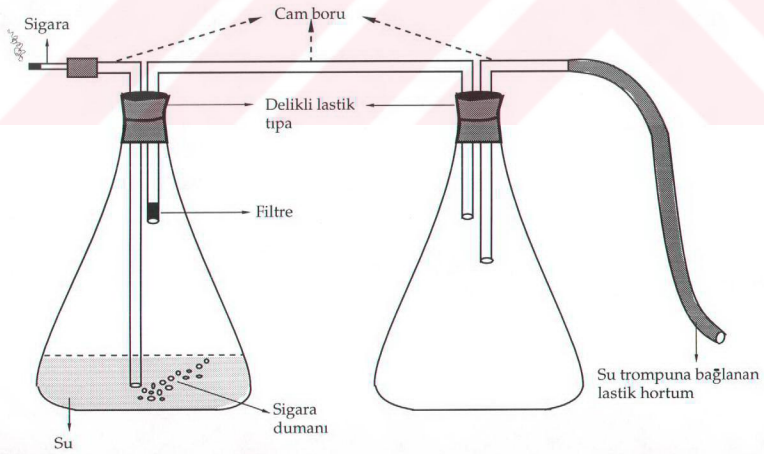
2.2. Sigara Dumanının Çimlenme Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Deney materyalleri olan buğday ve salatalık tohumları sigara dumanı ile doyurulmuş musluk suyu ve sigara dumanı ile doyurulmuş bitki büyüme maddeleri çözeltileri ile ayrı ayrı ıslatılarak ve ayrıca ıslatma aşamasından sonra tohumların yerleştirildikleri kapalı sistemlere sigara dumanı verilerek tohumların çimlenme oranları kontrolleriyle mukayeseli şekilde tespit edilmiştir.

Sigara dumanının çimlenme üzerindeki etkilerini araştırmak için 4 adet 250'şer ml. lik beher alınarak bunlardan her birine 10'ar gram buğday veya sa-



Şekil 2.1.1. Bitkilerin yerleştirildikleri kapalı sistem (PET bidon) ve bu kapalı sisteme sigara dumanı vermek için kullanılan vakum pompası.



Şekil 2.2.1. Tohumların ıslatıldığı saf su ve büyüme maddeleri çözeltilerini sigara dumanına doyurmak için kullanılan tertibat.

latalık tohumu ayrı ayrı konulmuştur. Bu beherlerden 2 tanesine yıkama şişesi tertibatı ile (Şekil 2.2.1) içinden, su trompu kullanılarak 1'er sigara (tütün ağırlığı 0,9 gram) dumanı geçirilmek suretiyle doyurulmuş 100'er ml musluk suyu, diğer ikisine ise 100'er ml normal musluk suyu ilave edilmiştir. Daha sonra bu beherler 23 - 24 °C'de ve karanlık ortamda 5 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda şişme ortamlarından alınan tohumlar aşağıdaki plana göre düzenlenmiş olan 9 cm. lik petrilerin içerisindeki çift katlı ve ıslak filtre kağıtlarının üzerine, her bir petriye 30'ar adet tohum gelecek şekilde ekilmişlerdir. Buğday ve salatalık tohumları için ayrı ayrı olmak üzere bu petrilerden;

İki tanesine sigara dumanı ile doyurulmuş musluk suyunda ıslatılan tohumlar ekilmiştir. Petrilerdeki filtre kağıtları, 100 ml. si 1 sigara dumanı ile doyurulmuş musluk suyundan 10'ar ml. verilerek ıslatılmıştır (A_1 ve A_2 petrileri).

İki tanesine yine sigara dumanına doyurulmuş musluk suyunda ıslatılan tohumlar ekilmiştir. Fakat petrilerdeki filtre kağıtları 10'ar ml normal musluk suyu ile ıslatılmıştır (B_1 ve B_2 petrileri).

İki tanesine normal musluk suyunda ıslatılan tohumlar ekilmiştir. Petrilerdeki filtre kağıtları, 100 ml. si 1 sigara dumanı ile doyurulmuş musluk suyundan 10'ar ml verilerek ıslatılmıştır (C_1 ve C_2 petrileri).

İki tanesine normal musluk suyunda ıslatılan tohumlar ekilmiştir. Fakat petrilerdeki filtre kağıtları 10'ar ml normal musluk suyu ile ıslatılmıştır (D_1 ve D_2 petrileri).

Bu şekilde ekim yapıldıktan hemen sonra 4 adet PET bidon alınarak, bu bidonlardan iki tanesine A_1 , B_1 , C_1 ve D_1 petrileri (bidonların bir tanesine buğday, diğerine salatalık tohumlarının ekildiği petriler yerleştirilmiştir), iki tanesine ise A_2 , B_2 , C_2 ve D_2 petrileri kapakları açık olacak şekilde yerleştirilmiştir. A_2 , B_2 , C_2 ve D_2 petrilerinin yerleştirildikleri PET bidonların her birine vakum pompasıyla 1'er sigara dumanı verildikten sonra bütün bidonların kapakları kapatılmıştır. Daha sonra buğday ve salatalık tohumlarının ekildiği petrilerin

yerleştirildiği bidonlar 23 - 24 °C'ye ayarlı ve karanlık klima dolabına kaldırılmışlardır. Sigara dumanının çimlenmeyi geciktirici veya engelleyici fonksiyonlarından hangisini yaptığını tam olarak saptayabilmek için çimlenme, tohumları ıslatma anından itibaren 72 saat süreyle aralıklı olarak izlenmiştir. Klima dolabına kaldırılan bütün bidonlar 19 saat sonra kapakları açılarak 1 saat süreyle havalandırılmışlardır. Bu esnada petrilere her birine, ekim ortamlarına verilen sıvıdan 1'er ml ilave edilmiştir. Bidonlar havalandırıldıktan sonra A₂, B₂, C₂ ve D₂ petrilere buldukları bidonların her birine 1'er sigara dumanı daha verilmiş ve bütün bidonlar, kapakları kapatılarak tekrar aynı sıcaklıkta karanlık klima dolabına kaldırılmışlardır. Bundan 24 saat sonra yukarıdaki işlem, 24 saatlik yeni bir periyodu kapsayacak şekilde tekrarlanmıştır. Bu şekilde petrilere ekilen ve kapalı sistemlerde bekletilen tohumların çimlenme oranları radikula belirimi esasına göre 24 saatte bir tespit edilerek sonuçlar kaydedilmiştir. Ayrıca bu 72 saatlik sürenin sonunda kök ve beliren koleoptil veya hipokotil boyları da, çimlenme sonrası morfojenetik gelişiminin belirlenebilmesi için ölçülmüştür. Deneyler 4 defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar bu 4 tekrarin ortalama değerlerini yansıtmaktadır.

Tohumların çimlenme yetenekleri üzerinde sigara dumanı - hormon etkileşiminin araştırıldığı deneylerde kinetin, GA₃, kinetin + GA₃ çözeltileri ve musluk suyu kullanılmıştır. Kinetin seyreltik HCl'de, GA₃ ise % 70'lik etanolde çözülerek saf su ilavesi ile yoğun stok çözeltiler halinde hazırlanmış ve kinetin pH'ı 7'ye ayarlanmıştır. Bundan sonra seyreltme ile 50'şer ppm. lik çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltiler ikiye ayrılarak; 100'er ml. lik GA₃, kinetin, GA₃ + kinetin çözeltileri ve aynı miktarda musluk suyu daha önceden anlatılan sistemle, 1'er sigara dumanı içinden geçirilmek suretiyle doyurulmuşlardır. Daha sonra 8 adet 250'şer ml. lik beher alınarak bunlara sigara dumanı uygulanmış ve uygulanmamış büyüme maddesi çözeltileri ile sigara dumanı uygulanmış ve uygulanmamış musluk suyundan 100'er ml konulmuştur. Daha sonra bu beherlerden her birine 10'ar gram buğday tohumu bırakılmış ve bütün beherler 23 - 24 °C'lik karanlık ortamda 5 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda şişme ortamlarından çıkarılan tohumlar, aşağıdaki plana gö-

re düzenlenmiş olan 9 cm. lik petrilerin içerisindeki çift katlı ve ıslak filtre kağıtlarının üzerine ekilmişlerdir. Her petrideki filtre kağıtları petriye ekilen tohumların ıslatma çözeltilerinden 10'ar ml alınarak ıslatılmış ve her petriye 30'ar adet tohum ekilmiştir. Bu petrilerden ;

İki tanesine gibberellik asit çözeltisinde ıslatılan tohumlar (Ah₁ ve Ah₂ petrileri),

İki tanesine sigara dumanına doyurulmuş gibberellik asit çözeltisinde ıslatılan tohumlar (Bh₁ ve Bh₂ petrileri),

İki tanesine kinetin çözeltisinde ıslatılan tohumlar (Ch₁ ve Ch₂ petrileri),

İki tanesine sigara dumanına doyurulmuş kinetin çözeltisinde ıslatılan tohumlar (Dh₁ ve Dh₂ petrileri),

İki tanesine gibberellik asit + kinetin çözeltisi karışımında ıslatılan tohumlar (Eh₁ ve Eh₂ petrileri),

İki tanesine sigara dumanına doyurulmuş gibberellik asit + kinetin çözeltisi karışımında ıslatılan tohumlar (Fh₁ ve Fh₂ petrileri),

İki tanesine normal musluk suyunda ıslatılan tohumlar (Gh₁ ve Gh₂ petrileri),

İki tanesine de sigara dumanına doyurulmuş musluk suyunda ıslatılan tohumlar (Hh₁ ve Hh₂ petrileri)'in ekimi yapılmıştır. Tohumlar petrilere ekildikten sonra Ah₁, Bh₁, Ch₁, Dh₁, Eh₁, Fh₁, Gh₁ ve Hh₁ petrileri bir PET bidona, Ah₂, Bh₂, Ch₂, Dh₂, Eh₂, Fh₂, Gh₂ ve Hh₂ petrileri ise aynı hacimdeki başka bir PET bidona kapakları açık olacak şekilde yerleştirilmiştir. Ah₂, Bh₂, Ch₂, Dh₂, Eh₂, Fh₂, Gh₂ ve Hh₂ petrilerinin yerleştirildiği bidona vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verildikten sonra her iki bidon, kapakları kapatılarak 23 - 24 °C'lik karanlık klima dolabına kaldırılmıştır. Bir önceki deney serisinde olduğu gibi sigara dumanının çimlenmeyi geciktirici veya engelleyici fonksiyonlarından hangisini yaptığını tam olarak saptayabilmek için çimlenme, tohumları ıslatma anından itibaren 72 saat süreyle aralıklı olarak izlenmiştir. Her 24 saatte bir bidonlar 1 saat süreyle havalandırılmış ve bu esnada her petriye to-

humları ıslatma suyundan 1 ml ilave edilmiştir. Yine her 24 saatte bir tohumların çimlenme oranları tespit edilerek sonuçlar kaydedilmiştir. Ayrıca bu 72 saatlik sürenin sonunda kök ve beliren koleoptil boyları da, çimlenme sonrası morfojenetik gelişmenin belirlenebilmesi için ölçülmüştür.

Sigara dumanı - hormon etkileşiminin, buğday tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı yukarıdaki deneyin aynısı salatalık tohumları için de yapılarak (aynı harfler kullanılmıştır) sonuçlar kaydedilmiştir. Deneyler 4 defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar bu 4 tekrarın ortalama değerlerini yansıtmaktadır.

2.3. Sigara Dumanının Koleoptil, Hipokotil ve Kök Büyümesi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Çimlenme sonrası safhada kök, koleoptil veya hipokotil büyümesi üzerinde sigara dumanının etkilerini araştırmak için, bir önceki deney serisinde olduğu gibi normal musluk suyunda ıslatılan tohumlar aynı şekilde normal musluk suyu ile ıslatılmış olan 11 cm. lik petrilere ekilmişlerdir. Daha sonra tohumların ekildiği petrilere 23 - 24 °C ve karanlık etüve kaldırılmışlardır. Petrilere etüve kaldırıldıktan yaklaşık 24 saat sonra, çimlenmiş tohumlardan radikula uzunluğu 3 - 4 mm boyuna gelenler seçilerek alınmış ve 250 ml. lik beherlere yerleştirilen ıslak filtre kağıtlarının kıvrımları arasına vertikal biçimde transplante edilmişlerdir (Munzuroğlu, 1988), (Şekil 2.3.1.). Çimlenmiş tohum transplantasyonu yapılan bu beherler kontrol ve deneme grubu şeklinde ikiye ayrılarak 2 PET bidona yerleştirilmişlerdir. Deneme grubu beherlerinin bulunduğu bidona vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verildikten sonra her iki bidon, kapakları kapatılarak 23 - 24 °C'lik ve karanlık klima dolabına kaldırılmışlardır. 24 saat sonra bidonlar klima dolabından çıkarılarak 1 saat süreyle havalandırılmışlardır. Havalandırma işleminden sonra deneme grubu beherlerinin bulunduğu bidona tekrar vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verilmiş ve her iki bidon, kapakları kapatılarak aynı sıcaklıktaki karanlık klima dolabına kaldırılmıştır. Klima dolabında 24 saat bekletilen bu tohumlara, 24 saatlik yeni bir periyodu kapsayan işlem tekrar uygulanmıştır.



Şekil 2.3.1. Beherlerdeki filtre kağıtlarının kıvrımları arasına transplante edilen çimlenmiş buğday tohumlarının transplantasyondan belirli bir süre sonra genel görünüşleri.

Bu şekilde tohumları ıslatmanın başlangıcından yaklaşık 103 saat sonra klima dolabından çıkarılan sigara dumanı uygulanmış ve uygulanmamış fide-lerin kök, koleoptil veya hipokotil uzunlukları milimetrik cetvelle ölçülerek sonuçlar kaydedilmiştir. Ayrıca bulgular fotoğraf ile de belirlenmiştir. Deneyler 4 defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar bu 4 tekrarın ortalama değerlerini yansıtmaktadır.

2.4. Koleoptil Parçacıklarının Büyümeleri Üzerinde Sigara Dumanı - IAA Etkileşiminin Araştırılması

Auksinlerin biyolojik etkinliklerini spesifik olarak belirleyen metodlardan birisi buğday koleoptili dik büyüme metodudur (Nitsch ve Nitsch, 1956). Sigara dumanı içeren kapalı bir sistemde büyümeye bırakılmış ve bu şekilde büyümesi engellenmiş buğday koleoptillerinden alınan parçacıkların IAA'e karşı cevaplarını kontrolleriyle mukayeseli olarak saptayabilmek için;

250 ml. lik bir behere 15 gram buğday tohumu konularak üzerine 100 ml musluk suyu ilave edilmiştir. Daha sonra bu beher 23 - 24 °C'lik karanlık ortama kaldırılarak 5 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda şişme ortamından çıkarılan tohumlar 11 cm. lik petrielerde bulunan ve 10'ar ml musluk suyu ile ıslatılmış olan çift katlı filtre kağıtlarının üzerine ve her petriye 30'ar adet tohum gelecek şekilde ekilmişlerdir. Ekimden sonra bu petrieler 24 °C'lik etüve kaldırılmıştır. Etüve kaldırıldıktan yaklaşık 24 saat sonra çimlenmiş tohumlardan koleoptil uzunlukları 4 - 5 mm civarına gelenler seçilerek alınmış ve 250 ml. lik beherlerde bulunan ıslak filtre kağıtlarının kıvrımları arasına vertikal biçimde transplante edilmişlerdir. Çimlenmiş tohum transplantasyonu yapılan bu beherler iki gruba ayrılmışlardır (E ve F). E grubu beherleri 23 - 24 °C'lik karanlık etüve kaldırılarak 2 gün süreyle bekletilmiştir. Bu şekilde tohumları ıslatmanın başlangıcından yaklaşık 72 saat sonra koleoptil uzunluğu 3 - 3,5 cm boyuna gelen bitkilerin koleoptilleri dip kısımlarından kesilmişlerdir. Daha sonra bu koleoptillerin uçtan 3 mm'nin altındaki 5 mm. lik kısımları kesilerek alınmış ve içsel hormonlarından arındırmak amacıyla saf suda 30 dakika süreyle bekletilmişlerdir. Bu işlemlerin tümü yeşil ışık altında yapılmıştır. Bundan sonra 25 ml. lik 6 adet beher alınarak bu beherlerden;

İki tanesine 10'ar ml 2 ppm ve 2 tanesine 10'ar ml 20 ppm IAA çözeltileri,

İki tanesine de 10'ar ml saf su konulmuştur. Daha sonra her behere 10'ar koleoptil parçacığı yerleştirilmiştir. Bundan sonra 2 PET bidon alınarak bu bidonlardan bir tanesine yukarıdaki beher çiftlerinden birer tanesi konulmuştur (E₁ grubu). İkinci bidona da geriye kalan beherler (E₂ grubu) yerleştirilmiştir. Böylece IAA çözeltilerindeki ve saf sudaki koleoptil parçacıkları iki ayrı ortama alınmıştır. E₂ grubu beherlerinin bulunduğu bidona vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verildikten sonra her iki bidon, kapakları kapatılarak 24 - 26 °C'lik karanlık klima dolabına kaldırılmıştır. Yaklaşık 14 saat sonra klima dolabından çıkarılan koleoptil parçacıklarının nihai boyları milimetrik cetvelle ölçülerek sonuçlar kaydedilmiş ve bulgular fotoğraf ile de belirlenmiştir.

F grubu beherlerine gelince, transplantasyondan sonra bir PET bidona konulmuşlardır. Vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verildikten sonra

23 - 24 °C'lik karanlık klima dolabına kaldırılmışlardır. 24 saatte bir olmak üzere toplam 3 sigara dumanı verilen bu bitkilerde büyüme yavaş olduğu için, tohumları ıslatmanın başlangıcından yaklaşık 102 saat sonra, 1,5 - 2 cm boyuna gelen koleoptiller dip kısımlarından kesilmişlerdir. Kesilen bu koleoptiller alınarak, bir önceki deneyde koleoptiller için yapılan kesme ve hormon uygulama işlemleri aynen bunlar için de tekrarlanmıştır. Daha sonra bu beher çiftlerinden birer tanesi bir bidona (F₁), birer tanesi de başka bir bidona (F₂) yerleştirilmiştir. Böylece 2 ve 20 ppm. lik IAA çözeltileri ve saf suya konulan koleoptil parçacıkları iki ayrı ortama alınmışlardır. F₂ beherlerinin konulduğu bidona vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verildikten sonra her iki bidon, kapakları kapatılarak 24 - 26 °C'lik karanlık klima dolabına kaldırılmıştır. Yaklaşık 14 saat sonra klima dolabından çıkarılan koleoptil silindirlere nihai boyları milimetrik cetvelle ölçülerek sonuçlar kaydedilmiştir. Bu serideki bütün deneyler 4 defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar 4 tekrarın ortalama değerlerini yansıtmaktadır.

2.5. Hipokotil Büyümesi Üzerinde Sigara Dumanı - Hormon Etkileşiminin Araştırılması

Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı içeren kapalı bir sistemin atmosferinde yetiştirilen salatalık fidelerinin hipokotil büyümeleri üzerinde sigara dumanının oluşturduğu engeleyici etkinin, GA₃ ve Bereleks kullanılarak ortadan kaldırılıp kaldırılamayacağını ve bu engellemenin, bitkilerin bu büyüme maddelerine karşı davranış ve duyarlılıkları ile ilgisi olup olmadığını araştırmak için;

15 gram salatalık tohumu tartılarak 250 ml. lik bir behere konulmuş ve üzerine 100 ml musluk suyu ilave edilerek 23 - 24 °C'lik karanlık etüve kaldırılmıştır. Etüve kaldırıldıktan 5 saat sonra şişme ortamlarından çıkarılan tohumlar 11 cm. lik petrielerde bulunan çift katlı ıslak filtre kağıtlarının üzerine ekilmişlerdir. Daha sonra bu petrieler 23 - 24 °C'lik karanlık etüvede 48 saat bek-

letilerek tohumların çimlenmeleri sağlanmıştır. Etüvde çimlendirilen tohumlardan kök uzunlukları yaklaşık 2 cm civarında olanlar seçilerek alınmış ve 250 ml. lik beherlerde bulunan ıslak filtre kağıtlarının kıvrımları arasına, her behere 10'ar adet gelecek şekilde transplante edilmişlerdir. Bundan sonra 2 adet PET bidon alınarak bu bidonlardan bir tanesine (deneme grubu) çimlenmiş tohumların transplante edildiği beherlerden 6 tane, bir tanesine (kontrol grubu) de yine bu beherlerden 3 tane yerleştirilmiştir. Deneme grubu beherlerinin bulunduğu bidona vakum pompasıyla 1 sigara dumanı verildikten sonra her iki bidon, kapakları kapatılarak 23 - 24 °C'lik klima dolabına kaldırılmış ve 2200 lux ışık şiddetinde devamlı floresans ışığı altında 48 saat bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda kotiledon yapraklarından yarı yarıya sıyrılmış olan tohumların kabukları elle çıkarılmıştır. Daha sonra deneme grubuna ait beherler ikiye ayrılmış (S_1 ve S_2)'tir. S_1 grubuna ait beherlerdeki bitkiler kendi beherlerinden çıkarılarak aynı hacimde ve normal musluk suyu ile ıslatılmış olan yeni beherlerdeki ıslak filtre kağıtlarının kıvrımları arasına aynı şekilde transplante edilmişlerdir. S_2 grubu ise transplante edilmemiştir. Bu şekilde kontrol, S_1 ve S_2 gruplarına ait üç beherdeki bitkiler aşağıdaki işlemlerden geçirilmiştir. Bu üç gruba ait beherlerden;

Bir tanesindeki her fidenin kotiledon yapraklarının dış yüzüne mikroşırınga ile "Tween 80" + % 70'lik 4 - 5 damla etanolde hazırlanmış 500 ppm konsantrasyonundaki gibberellik asit (GA_3)'ten 10 μ l,

Bir tanesindeki fidelere aynı şekilde ve miktarda "Tween 80" + % 70'lik 4-5 damla etanolde hazırlanmış 500 ppm konsantrasyonundaki Bereleks,

Bir tanesindeki fidelere ise aynı şekilde ve miktarda "Tween 80" karıştırılmış saf su uygulanmıştır. % 0,05 oranında eklenen "Tween 80" çözeltiye yüzde yayıcılık özelliği kazandırmıştır. Bilindiği gibi gibberellin grubu büyüme maddeleri, dokunulmamış hipokotillerde ışığın oluşturduğu fizyolojik süreci ortadan kaldırmaktadır. Amacımız, sigara dumanının, bitkinin hormona karşı bu davranış yeteneğini etkileyip etkilemediğini, yani gibberellinlere karşı duyarlılığında bir değişime yol açıp açmadığını araştırmak olmuştur.

Kotiledon yapraklarına yukarıdaki uygulamalar yapıldıktan sonra kont-

rol ve S₁ grubu beherleri bir bidona, S₂ grubu beherleri ise başka bir bidona yerleştirilmiştir. S₂ grubu beherlerinin bulunduğu PET bidona 1 sigara dumanı verildikten sonra her iki bidon, kapakları kapatılarak 23 - 24 °C'lik klima dolabına kaldırılmış ve belirtilen ışık şiddetinde 48 saat daha bekletilmiştir. Kontrol, S₁ ve S₂ grubu beherleri bu sürenin sonunda klima dolabından çıkarılmış, fidelerin nihai hipokotil boyları ölçülerek sonuçlar kaydedilmiştir. Ayrıca bulgular fotoğraf ile de belirlenmiştir. Deneyler 4 defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar bu 4 tekrarın ortalama değerlerini yansıtmaktadır.

Şimdiye kadar anlatılan bütün deney serilerinde sonuçlar ortalamanın standart hatası hesaplanarak istatistiki analize tabi tutulmuş ve bu değer grafiklerde dikey doğru parçaları şeklinde verilmiştir. Standart hata (S \bar{x}) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$S \bar{x} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n (n - 1)}}$$

Ancak bu değer gösterilemeyecek kadar küçük olduğu durumlarda belirtilmemiştir.

2.6. Sigara Dumanının Çimlenmekte Olan Tohumlarda İçsel Hormon Sentezi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Sigara dumanı ile doyurulmuş musluk suyunda ıslatılan ve sigara dumanı içeren kapalı bir sistemin atmosferinde çimlenmeye bırakılan ve böylece çimlenmeleri tamamen engellendiği daha önceki deneylerle saptanan buğday tohumlarında bu süreçte sentezlenen hormon düzeylerini kontrolleriyle mukayeseli olarak araştırmak için;

250'şer ml. lik iki beher alınmış ve her birine 20'şer gram buğday tohumu konulmuştur. Bu beherlerden bir tanesi (deneme grubu)'ne 2 sigara dumanı ile doyurulmuş 100 ml musluk suyu, bir tanesi (kontrol grubu)'ne de 100 ml normal musluk suyu ilave edilmiştir. Daha sonra bu beherler 23 - 24 °C ve karan-

lık ortama kaldırılmıştır. 4 saat sonra şişme ortamlarından çıkarılan tohumlar 9 cm. lik petriker içerisinde bulunan çift kat ve tohumların şişme ortamlarından alınan 10'ar ml suyla ıslatılan filtre kağıtlarının üzerlerine ekilmişlerdir. Bundan sonra 2 PET bidon alınarak bu bidonlardan bir tanesine kontrol grubu tohumlarının ekildiği petriker, diğerine ise deneme grubu tohumlarının ekildiği petriker yerleştirilmiştir. Deneme grubu tohumlarının ekildiği petrikerin bulunduğu bidona vakum pompasıyla bir sigara dumanı verilmiş ve her iki bidon kapakları kapatılarak 23 - 24 °C ve karanlık ortama kaldırılmıştır. Bu şekilde tohumları ıslatmanın başlangıcından toplam 10 saat sonra kontrol grubu tohumlarında çimlenmenin ilk morfojenetik belirimlerinin başlamasından hemen önce büyüme maddesi ekstraksiyonuna geçilmiştir.

2.6.1. Hormon ekstraksiyonu

Deney ve kontrol grubundaki tohumlardan hormon ekstraksiyon işlemlerinde Kefford (1955) yöntemi, sodyum bikarbonatla saflaştırma aşaması çıkarılarak, aşağıdaki modifiye edilmiş şekliyle uygulanmıştır.

Her iki gruptaki (deney ve kontrol) buğday tohumları ayrı ayrı alınmış ve içine antioksidan olarak 2 - 3 adet küçük BHT (2,6 - di - tert - buthyl - 4 - methyl - phenol) kristali ilave edilmiş 150 ml % 80'lik etanol ile Waring Blendor'da parçalanmışlardır. Blendor'un parçalayıcı kabı 2 x 50 ml % 80 etanolle yıkanmış ve oluşan karışıma ilave edilmiştir. Daha sonra karışımlar +4 °C'de ve karanlık ortamda 16 saat süreyle ekstraksiyon işlemi için bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda Buchner hunisi ile süzme yapılmıştır. Süzme işleminden sonra filtre kağıdı üzerinde kalan çökelti 100 ml % 80 etanol ile aynı şartlarda 24 saat süreyle tekrar ekstraksiyona bırakılmıştır. Sürenin bitiminde karışım aynı şekilde Buchner hunisi ile süzölmüş ve filtre kağıdı üzerindeki çökelti 25 ml % 80 etanol ile yıkanarak süzöntüler birleştirilmişlerdir. Daha sonra süzöntüler toplamı 35 °C'de Rotavopor'da (Büchi) düşük basınç altında su fazına kadar buharlaştırılmıştır. Su fazı saf su ilavesiyle 50 ml. ye tamamlanmış ve seyreltik HCl ile pH'ı 3'e ayarlanmıştır. Bundan sonra su fazı 5 defa 50'şer ml

etil asetat ile çalkalanarak asidik ve nötr maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Bu durumda sitokinin gibi bazik maddeler su fazında kalmaktadır (Baltepe, 1974). Ayırma işleminden sonra su fazının pH'ı seyreltik NaOH ile 7'ye ayarlanmış ve 60 °C'de Rotavapor'da düşük basınç altında 10 ml kalacak şekilde gelineye kadar buharlaştırılmıştır. Bu şekilde yukarıdaki işlemlerden geçirilen su fazı daha sonra Letham (1971)'a göre sitokinin biyotestine tabi tutulmuştur.

Asidik ve nötr maddeleri içeren etil asetat fazı ise 35 °C'de Rotavapor'da düşük basınç altında tamamen uçurulmuştur. Daha sonra uçurma balonu 3 ml metanol ile yıkanarak küçük bir ilaç şişesine alınmıştır. Bu 3 ml metanol çözeltisinin 1 ml. si, metanolde hazırlanan IAA ve ABA markerleriyle birlikte Whatman Nr 1 kromatografi kağıdına uygulanmıştır. Metanol çözeltisi çizgi halinde, markerler ise nokta şeklinde uygulanmış ve izopropanol : amonyak : su (80 : 10 : 10) (Nitsch ve Nitsch, 1955) karışımından oluşan solventte çıkıcı kromatografi ile ayrıştırılmıştır. Ayrıştırma işlemi çözgenin uygulama noktasından itibaren 16 - 17 cm yüksekliğe kadar sürdürülmüştür. Daha sonra markerlerin Rf'leri KMnO₄ ile belirlenmiş ve uygulama noktası ile solventin yükselme sınırı arasındaki kısım 10 eşit parçaya bölünerek, deney ve kontrol ekstraktlarının Rf'lerinin tekabül ettiği kromatogram parçaları küçük ilaç şişelerinin içine konulmuş ve üzerlerine 5'er ml saf su ilave edilerek +4 °C'de karanlıkta 24 saat süreyle eluasyona bırakılmışlardır. Bu sürenin sonunda Nitsch ve Nitsch (1956)'in koleoptil dik büyüme testinin tarafımızdan modifiye edilmiş şekliyle biyolojik teste tabi tutulmuşlardır.

Sigara dumanı uygulanmış ve uygulanmamış tohumlardan elde edilen ekstraktın asidik ve nötr fazını içeren 2 ml. lik metanol çözeltisi ise iki eşit kısma bölünerek her biri ayrı ayrı 0,5 mm kalınlığında Hf₂₅₄ silica - gel ile kaplı 20 x 20 boyutlarında cam plakalara uygulanmışlardır. Bu plaklardan bir tanesine marker olarak metanolde hazırlanmış GA₃, diğer plağa ise yine metanolde hazırlanmış ABA uygulanmıştır. Metanol çözeltileri ve markerlerin uygulanışı bir önceki deneyde olduğu gibi yapılmıştır. Daha sonra plaklar izopropanol : amonyak : su (80 : 10 : 10) karışımını içeren ince tabaka tanklarına konul-

muş ve uygulama noktasından itibaren 10 cm yüksekliğe kadar ayırıştırma işlemi sürdürülmüştür. Markerlerin Rf'leri yine $KMnO_4$ ile belirlenmiştir. Kromatografi işlemi sonunda marker olarak GA_3 uygulanan plakta uygulama noktası ile solventin yükselme sınırı arasındaki mesafe 10 eşit parçaya bölünerek her Rf'e tekabül eden silice - gel kısımları kazınmış ve deney tüplerine alınmışlardır. Her Rf'e ait silice - gel kazıntısı üzerine 10'ar ml metanol ilave edilerek $+4\text{ }^\circ\text{C}$ ve karanlıkta 6 saat süreyle eluasyona bırakılmışlardır. Bu süre sonunda ekstraktlar süzölmüştür. Deney tüplerindeki çözeltiler 2×5 'er ml metanol ile çalkalanarak yeniden süzölmüş ve filtre kağıdı üzerinde kalan çökelti 1 ml metanol ile yıkanmıştır. Daha sonra her Rf'e tekabül eden süzöntüler toplama, içerisinde tek kat filtre kağıdı bulunan 7 cm. lik petrilere dökölerek çeker ocakta buharlaştırılmıştır. Bundan sonra her petriye 3'er ml saf su ilave edilmiş ve $+4\text{ }^\circ\text{C}$ karanlık ortamda 24 saat süreyle eluasyona bırakılmışlardır. Bu süre sonunda Frankland ve Wareing (1960)'in tarafımızdan modifiye edilen marul hipokotili büyüme biyotestine tabi tutulmuşlardır.

Marker olarak ABA uygulanan plakta ise, marker ABA'in Rf'i karşısındaki silice - gel bölgeleri kazınarak alınmış ve Yürekli ve arkadaşları (1974) yöntemi uyarınca spektrofotometrik belirleme için kullanılmışlardır.

2.6.2. Biyolojik testler

2.6.2.1. IAA ve ABA için buğday koleoptili dik büyüme testi

Buğday (cv. Cumhuriyet) tohumları 5 saat süreyle ıslatıldıktan sonra beherler içindeki ıslak filtre kağıtlarının kıvrımları arasına vertikal olarak ekilmişlerdir. Daha sonra bu beherler $24 - 25\text{ }^\circ\text{C}$ karanlık ortama kaldırılarak 67 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu süre sonunda 3 - 3,5 cm boya erişen koleoptiller alınarak uçtan 3 mm. lik kısmın altında kalan 5 mm. lik kısımları yeşil ışık altında kesilmiş ve endogen hormonlarından arındırmak amacıyla saf su da $1/2$ saat bekletilmişlerdir. Bundan sonra her Rf'e tekabül eden eluatların

bulunduğu ilaç şişelerine bu koleoptil parçacıklarından 8'er adet bırakılmış ve 25 °C karanlık ortamda 14 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu süre sonunda koleoptil parçacıklarının boyları milimetrik cetvelle ölçülmüş ve bu şekilde her Rf'in büyüme aktivitesi ayrı ayrı belirlenmiştir.

Kalibrasyon için şimdiye kadar bilinenlerden daha değişik bir yöntem uygulanmıştır. Bunun için bir Rf'in tekabül ettiği kromatogram parçası büyüklüğündeki kromatografi kağıdı parçacıklarına değişik konsantrasyonlarda IAA veya ABA içeren metanol çözeltileri 1'er ml olarak uygulanmıştır. Bu şekilde her parçacığa uygulanan hormon miktarı µg olarak kaydedilmiştir. Daha sonra bu kağıt parçacıkları Rf'lere tekabül eden kromatogram parçalarıyla aynı eluasyon ve biyolojik test işlemine tabi tutulmuşlardır. Kanımızca bu kalibrasyon yöntemi daha önce uygulananlardan daha gerçekçi ve çok daha duyarlı olmuştur.

2.6.2.2. Gibberellinler için marul hipokotili büyüme testi

Marul (*Lactuca sativa* cv. Yedikule) tohumları 3 saat süreyle ışık altında ıslatıldıktan sonra petrilereki çift katlı ıslak filtre kağıtları üzerine ekilmiş ve 23 - 24 °C karanlık ortama kaldırılmışlardır. ıslatmanın başlangıcından toplam 36 saat sonra petrilere alınarak homojen çimlenme yönünden seleksiyon yapılmış ve kök uzunlukları 3 - 4 mm arasında olanlar seçilerek ince tabaka eluatlarının bulunduğu petrilere 10'ar adet gelecek şekilde transplante edilmişlerdir. Daha sonra her Rf'e tekabül eden petrilere ve ayrıca kalibrasyon amacıyla hazırlanmış GA₃ konsantrasyonları eluatlarının bulunduğu petrilere 23 - 24 °C de ve 4000 lux ışık şiddetinde devamlı floresans ışığı altında 60 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu süre sonunda bir milimetrik cetvel yardımıyla hipokotiller ölçülmüştür. Böylece her Rf ve kalibrasyonlara tekabül eden biyolojik aktivite belirlenmiştir. Bir önceki deneyde olduğu gibi kalibrasyonlar hazırlanırken klasik yöntem kullanılmamıştır. Kalibrasyon amacıyla değişik konsantrasyonlarda GA₃ içeren metanol çözeltileri, içinde tek katlı filtre kağı-

dı bulunan 7 cm. lik petrilerin her birine 10'ar ml gelecek şekilde uygulanmış ve kurutulmuşlardır. Bu şekilde her petrideki filtre kağıdına uygulanan hormon miktarı μg olarak kaydedilmiştir. Daha sonra her petriye 3'er ml saf su ilave edilmiş ve diğer Rf'lerde olduğu gibi eluasyona bırakılmışlardır.

İnce tabaka ve kağıt kromatogramlarının Rf'lerinin biyolojik aktiviteleri saptandıktan sonra sonuçlar histogramlar halinde verilmiştir. Her histogram Tukey (1953)'e göre istatistiki analize tabi tutulmuştur. Histogramlarda (.....) biçiminde gösterilen çizgilerin dışında kalan taranmış bölgeler % 5 düzeyinde istatistiki bakımından önemli farklılıkları belirlemektedir.

İnce tabaka ve kağıt kromatografisi için yapılan yukarıdaki bütün işlemler 3'er defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar arasında büyük bir uygunluk olduğu görülmüştür. Histogramların birleştirilmesi marker Rf'lerinin tamamen çakışmaması nedeniyle uygun olmadığından yalnız bir ekstraksiyonun sonucu verilmiştir.

2.6.2.3. Sitokininlerin biyolojik test ile belirlenmesi

Tohumlardan elde edilen etanol ekstraktından etanolün bularlaştırılması sonunda geriye kalan su fazı, daha önceden hormon ekstraksiyonu deney serisinde anlatıldığı gibi etil asetat ayrıştırması ile asidik ve nötr maddelerinden arındırılmış ve 10 ml. ye kadar kondanse edilmiştir. Daha sonra bu fazın içinde bulunan sitokinin grubu maddelerin belirlenmesi için, Letham (1971)'in biyolojik testi şu şekilde değiştirilerek uygulanmıştır :

Raphanus sativus L. (turp) tohumları 4 saat süreyle ıslatıldıktan sonra ıslak pamuk üzerine ekilmiş ve 24 °C karanlıkta 92 saat çimlenmeye bırakılmışlardır. Bu süre sonunda gelişen fideler arasında homojenite bakımından seleksiyon yapılmış ve 4 - 4,5 cm boyunda olanlar alınarak küçük kotiledon yaprakları kesilmiştir. 11 cm. lik petriler içine çift katlı ve eşit ağırlıkta filtre kağıtları yerleştirildikten sonra kondanse su fazları alınarak bu petriler içine dökülmüşlerdir. Ayrıca kalibrasyon için saf suda hazırlanmış değişik konsantrasyonlardaki kinetin çözeltileri yine aynı şekilde petriler içindeki filtre kağıtlarının üzerine dökülerek test sistemleri hazırlanmıştır. Bundan sonra her petriye

teker teker tartılmak suretiyle 10'ar kotiledon adaksial yüzleri filtre kağıdındaki çözeltiye temas edecek şekilde yerleştirilmişlerdir. Kotiledonlar belli bir plan dahilinde petrilere yerleştirilmiş ve böylece hangi kotiledonun nereye yerleştirildiği kolayca belirlenebilmiştir. Daha sonra petrilerin kapakları kapatılmış ve 23 - 24 °C lik ortamda 500 lux ışık şiddetinde devamlı floresans ışığı altında 60 saat süreyle bekletilmişlerdir. Bu süre sonunda kotiledonlar teker teker tartılarak her birindeki ağırlık artışı saptanmıştır.

Bu serideki deneyler 3 defa tekrarlanmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bir deneyin sonucu örnek olarak verilmiştir.

2.6.2.4. Spektrofotometrik yöntemle ABA'in mukayeseli belirlenmesi

Daha önce biyolojik testle deney ve kontrol tohumlarının ABA içerikleri arasında az da olsa bir fark gözlediğimiz için, bu farkı mukayeseli olarak daha iyi belirleyebilmek amacıyla spektrofotometrik yöntemle de başvurulmuştur. Bu amaçla ince tabaka kromatogramında marker ABA'e tekabül eden bölge kazınarak alınmış ve 10 ml metanolla elue edilmiştir. Eluasyon için önce 3 ml metanol ilave edilmiş ve + 4 °C karanlıkta 1 saat bekletilmiştir. Bundan sonra eluat süzölmüş ve çökelti 3 ml metanol ile çalkalanarak yeniden süzölmüştür. Filtre kağıdı üzerinde kalan çökelti 2 x 2 ml metanol ile yıkanmıştır. Bundan sonra süzöltüler toplamı (10 ml) düşük devirde santrifüj edilmiş ve supernatantlar spektrofotometrik ölçümde kullanılmak üzere alınmışlardır. Daha sonra bu supernatantların Shimadzu UV - Vis 240 marka spektrofotometrede 263 nm'de absorpsiyonları ölçölmüştür.

3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

3.1. Sigara Dumanı, Tohum Çimlenmesi ve Dıştan Uygulanan Büyüme Maddeleri Arasındaki İlişkiler

Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında sigara dumanı ile doyurulmuş su veya büyüme maddesi çözeltileri ile muamele edilen, ayrıca sigara dumanı içeren ve içermeyen kapalı sistemlerin atmosferlerinde çimlenmeye bırakılan buğday ve salatalık tohumlarının çimlenme oranlarını saptamak amacıyla yapılan deneylerin sonuçları bu bölümde ele alınmıştır.

3.1.1. Sigara dumanının çimlenme üzerindeki etkileri

Çimlenme ortamlarına farklı aşamalarda sigara dumanı verilen ve verilmeyen *Triticum aestivum* cv. Cumhuriyet ve *Cucumis sativus* cv. Beit alpha tohumlarının radikula belirimi esasına göre saptanan çimlenme oranları tablo 3.1.1.1. ve tablo 3.1.1.2.'de belirtilmiştir. Ayrıca ıslatmanın başlangıcından 48 saat sonra tohumların çimlenme durumları şekil 3.1.1.1. ve şekil 3.1.1.2.'de görülmektedir.

Tablo 3.1.1.1. ve tablo 3.1.1.2.'nin incelenmesinden anlaşılacağı gibi sigara dumanı uygulaması her iki bitki türünün tohumunda da çimlenmeyi önemli ölçülerde etkilemiştir. Sadece şişme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su verilen tohumların çimlenmeleri bu uygulamadan etkilenmemiştir. Fakat ekim ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su verilen ve normal atmosfer koşullarında çimlenmeye bırakılan buğday ve salatalık tohumlarında çimlenme gecikmiştir. Çimlenmenin gerçekleştiği kapalı sistemin atmosferinde sigara dumanı bulunduğu zaman, şişme veya ekim ortamı sigara dumanı içersin veya içermesin çimlenme tamamen engellenmiştir. Bu sonuç, çimlenmenin sigara dumanına en duyarlı olduğu aşamayı çimlenmenin gerçekleştiği atmosferde sigara dumanı bulunduğu durumun oluşturduğunu göster-

Tablo 3.1.1.1. Değişik aşamalarda çimlenme ortamlarına sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan buğday tohumlarının farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri (A_1 , B_1 , C_1 , D_1 , A_2 , B_2 , C_2 ve D_2 materyal ve metod kısmında açıklanmıştır).

| UYGULAMA \ İslatmanın başlangıcından itibaren süre (saat) | Çimlenme % 'si | | |
|---|----------------|----|----|
| | 24 | 48 | 72 |
| A_1 | 23 | 81 | 93 |
| B_1 | 97 | 98 | 98 |
| C_1 | 25 | 86 | 92 |
| D_1 | 97 | 97 | 97 |
| A_2 | - | - | - |
| B_2 | - | - | - |
| C_2 | - | - | - |
| D_2 | - | - | - |

mehtir. Çimlenme periyodunda, sadece şişme sırasında sigara dumanının bulunuşu, daha sonraki aşamalarda çimlenmeyi büyük ölçüde etkilememekte, ancak şişmeden sonra çimlenme ortamının sigara dumanı ile doyurulmuş su ile ıslatılması durumunda çimlenme gecikmektedir. Atmosferde sigara dumanının bulunmayışı daha önceki aşamalarda sigara dumanı uygulamasının etkilerini bertaraf etmektedir. Bu durum, sigara dumanının inhibitif etkisinin kalıcı olmadığını ve bu inhibisyonun devam etmesi için ortamda bu faktörün bulunmasının gerekli olduğunu göstermiştir. Böylece Türkan (1988)'in eksoz gazı kullanarak tohum çimlenmesi için belirlediği inhibisyonu, biz deneme objeleri olan buğday ve salatalık tohumlarında sigara dumanı için çok belirgin şekilde ortaya koymuş bulunuyoruz.

Tablo 3.1.1.2. Değişik aşamalarda çimlenme ortamlarına sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan salatalık tohumlarının farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri (Açıklama tablo 3.1.1.1. deki gibidir).

| UYGULAMA | Çimlenme % 'si | | |
|--|----------------|----|----|
| | 24 | 48 | 72 |
| Islatmanın başlangıcından itibaren süre (saat) | | | |
| A ₁ | 4 | 33 | 87 |
| B ₁ | 51 | 90 | 94 |
| C ₁ | 9 | 43 | 91 |
| D ₁ | 51 | 87 | 97 |
| A ₂ | - | - | - |
| B ₂ | - | - | - |
| C ₂ | - | - | - |
| D ₂ | - | - | - |



Şekil 3.1.1.1. Sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda çimlenmeye bırakılan buğday tohumlarının 48 saat sonraki genel görünüşleri.



Şekil 3.1.1.2. Sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda çimlenmeye bırakılan salatalık tohumlarının 48 saat sonraki genel görünüşleri.

3.1.2. Tohum çimlenmesi - sigara dumanı - dıştan uygulanan büyüme maddeleri arasındaki etkileşimler

Daha önce çeşitli araştırmacılar temperatür ve tuzluluk gibi stres faktörlerinin tohum çimlenmesi üzerinde meydana getirdiği inhibisyonun değişik büyüme maddeleri uygulaması ile ortadan kaldırılabileceğini rapor etmişlerdir (Kabar ve Baltepe, 1990; Kabar, 1979; Öztürk vd., 1993). Biz de bu amaçla toksik bir stres faktörü olarak gördüğümüz ve çimlenme üzerindeki etkisinin reverzibl olduğunu saptadığımız sigara dumanı uygulamasının engelleyici olduğu aşamada ortama büyüme maddeleri ilave ederek bu inhibitif etkinin kısmen veya tamamen ortadan kaldırılıp kaldırılamayacağı hususunu araştırdık. Kullandığımız büyüme maddelerinin çimlenmede rol oynadığı ve dormansi halindeki tohumların çimlenmesini teşvik ettiği uzun zamandan beri bilinmektedir. Deneylerin sonuçları tablo 3.1.2.1. ve 3.1.2.2.'de verilmiştir.

Tabloların incelenmesinden de görüleceği üzere kinetin ve GA₃ tek başlarına veya kombinasyon halinde verildikleri zaman saf suda tohum çimlenmesini etkilememişlerdir. Bu tohumların endogen hormon miktarı optimal düzeyde olduğu için bu sonuç gayet doğaldır. Çünkü büyüme maddesi uygulamaları ancak çeşitli nedenlerle dormansi halinde bulunan tohumlarda çimlenmeyi teşvik etmektedir. Burada kesin olarak belirlediğimiz bir husus da sigara dumanının her iki tohumun çimlenmesi üzerinde meydana getirdiği çimlenme inhibisyonunun aynı anda ortama büyüme maddesi verilerek azaltılmadığıdır. Bu durum sigara dumanının meydana getirdiği inhibisyonun endogen hormon sentezinin engellenmesi yoluyla ortaya çıkmadığını düşündürmektedir. Çünkü böyle olsaydı dıştan büyüme maddesi ilavesiyle çimlenmede belli bir artış görmüş olmamız gerekirdi. Sonuçlar sigara dumanının çimlenme üzerindeki bu reverzibl etkilerinin hormon sentezi dışındaki bir mekanizmaya müdahale sonucu ortaya çıkmış olabileceğini düşündürücü niteliktedir. Yine sonuçlar inhibisyonunda esas belirleyici etmenin ıslatma ortamında değil, çimlenme ortamının atmosferinde bulunan sigara dumanı olduğunu bize göstermektedir. Çünkü ıslatma ortamındaki sigara dumanı çimlenmeyi geciktirdiği

halde, ön uygulama ne olursa olsun atmosferdeki sigara dumanı çimlenmeyi tamamen engellemiştir.

Tablo 3.1.2.1. Sigara dumanı ile doyurulmuş ve doyurulmamış belirli konsantrasyonlardaki GA₃ kinetin ve GA₃ + kinetin çözeltileri veya musluk suyunda ıslatılan buğday tohumlarının, sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri (Ah₁, Bh₁, Ch₁, Dh₁, Eh₁, Fh₁, Gh₁, Hh₁, Ah₂, Bh₂, Ch₂, Dh₂, Eh₂, Fh₂, Gh₂ ve Hh₂ materyal ve metod kısmında açıklanmıştır.)

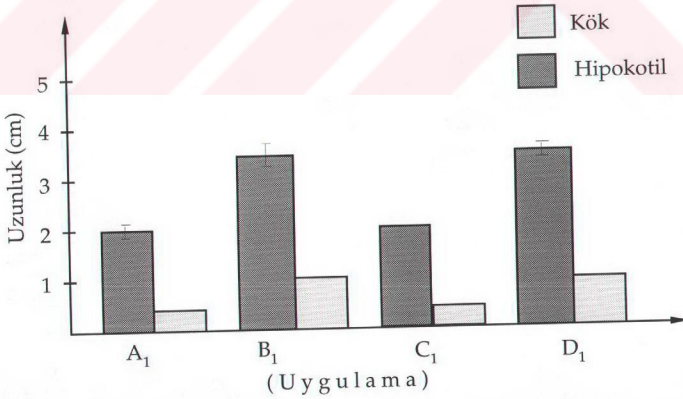
| UYGULAMA | Çimlenme % 'si | | |
|--|----------------|----|----|
| | 24 | 48 | 72 |
| Islatmanın başlangıcından itibaren süre (saat) | | | |
| Ah ₁ | 98 | 98 | 98 |
| Bh ₁ | 26 | 81 | 95 |
| Ch ₁ | 97 | 98 | 98 |
| Dh ₁ | 25 | 81 | 95 |
| Eh ₁ | 97 | 98 | 98 |
| Fh ₁ | 27 | 82 | 95 |
| Gh ₁ | 97 | 97 | 97 |
| Hh ₁ | 29 | 82 | 94 |
| Ah ₂ | - | - | - |
| Bh ₂ | - | - | - |
| Ch ₂ | - | - | - |
| Dh ₂ | - | - | - |
| Eh ₂ | - | - | - |
| Fh ₂ | - | - | - |
| Gh ₂ | - | - | - |
| Hh ₂ | - | - | - |

Tablo 3.1.2.2. Sigara dumanı ile doyurulmuş ve doyurulmamış belirli konsantrasyonlardaki GA_3 kinetin ve GA_3 + kinetin çözeltileri veya musluk suyunda ıslatılan salatalık tohumlarının, sigara dumanı içeren ve içermeyen ortamlarda farklı zamanlarda ölçülen çimlenme yüzdeleri (Açıklama tablo 3.1.2.1.'de anlatıldığı gibidir).

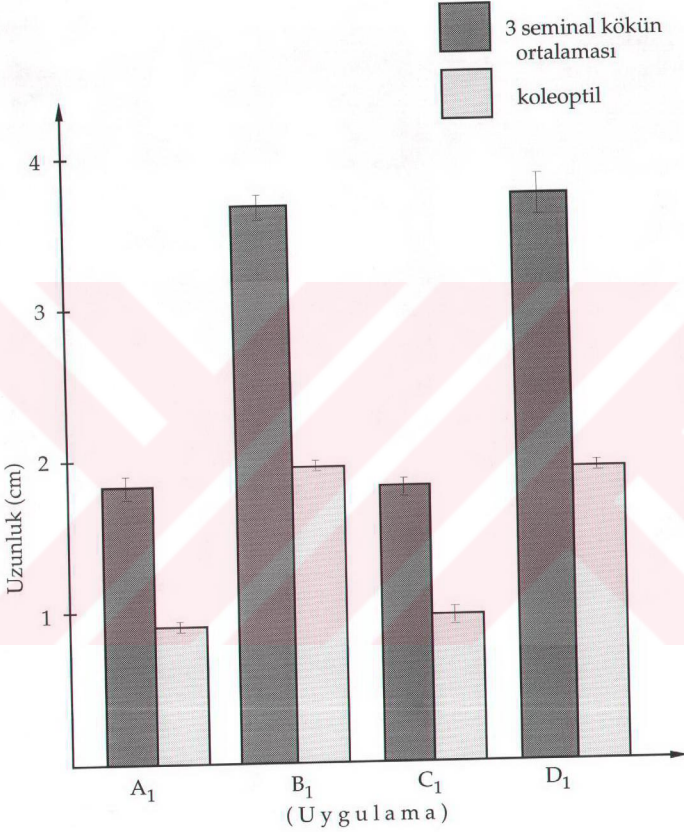
| UYGULAMA | Çimlenme % 'si | | |
|-----------------|----------------|----|----|
| | 24 | 48 | 72 |
| Ah ₁ | 45 | 85 | 97 |
| Bh ₁ | 4 | 34 | 87 |
| Ch ₁ | 46 | 91 | 97 |
| Dh ₁ | 3 | 42 | 88 |
| Eh ₁ | 54 | 89 | 97 |
| Fh ₁ | 5 | 46 | 85 |
| Gh ₁ | 51 | 90 | 97 |
| Hh ₁ | 7 | 39 | 88 |
| Ah ₂ | - | - | - |
| Bh ₂ | - | - | - |
| Ch ₂ | - | - | - |
| Dh ₂ | - | - | - |
| Eh ₂ | - | - | - |
| Fh ₂ | - | - | - |
| Gh ₂ | - | - | - |
| Hh ₂ | - | - | - |

Islatma veya ekim ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş ve normal musluk suyu veya çeşitli büyüme maddeleri uygulanan, fakat çimlenme atmosferinde sigara dumanı bulunmayan tohumların çimlenmeleri sonucu oluşan kök, koleoptil veya hipokotillerin islatmadan 72 saat sonra ölçülmesiyle elde edilen değerler şekil 3.1.1.3., şekil 3.1.1.4., şekil 3.1.2.1. ve şekil 3.1.2.2.'de verilmiştir.

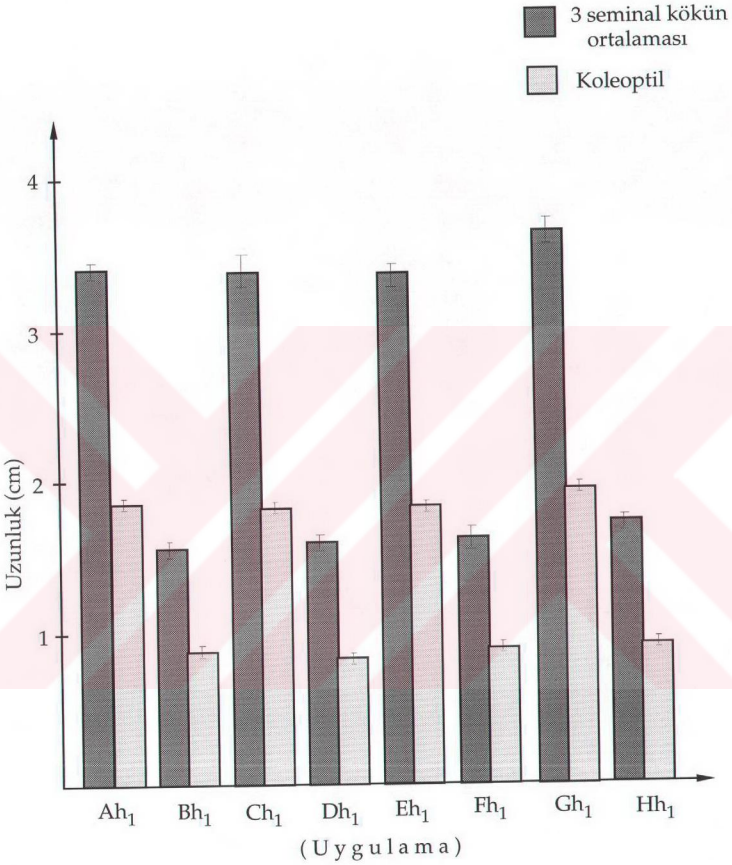
Şekillerde de görüleceği üzere sadece şişme ortamlarında sigara dumanı ile doyurulmuş su veya hormon çözeltileri kullanılan tohumlardan oluşan fidelerin kök, koleoptil veya hipokotil büyümelerindeki inhibisyon önemsenmeyecek derecede az olmaktadır. Fakat ekim ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su veya hormon çözeltileri verilen ve sigara dumanı içermeyen atmosferde çimlenme - gelişmeye bırakılan tohumlarda çimlenmenin gecikmesi yanında koleoptil, hipokotil ve özellikle kök büyümesinde belirgin bir inhibisyon göze çarpmaktadır. Burada, hormon uygulamasının sigara dumanının bu morfojenetik belirimler üzerinde oluşturduğu inhibisyonun ortadan kalkmasını sağlayamadığı açıkça görülmektedir.



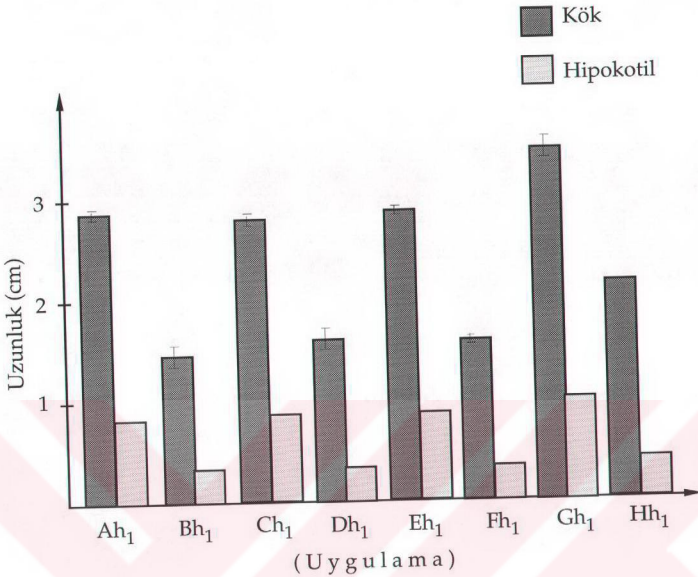
Şekil 3.1.1.3. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su veya normal su verilen salatalık tohumlarından oluşan fidelerin islatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve hipokotil uzunlukları (A₁, B₁, C₁ ve D₁ materyal ve metod kısmında açıklanmıştır).



Şekil 3.1.1.4. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş su ve normal su verilen buğday tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve koleoptil uzunlukları (A₁, B₁, C₁ ve D₁ materyal ve metod kısmında açıklanmıştır).



Şekil 3.1.2.1. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş veya normal GA₃, kinetin, GA₃ + kinetin çözeltileri ve musluk suyu verilen buğday tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve koleoptil uzunlukları (Ah₁, Bh₁, Ch₁, Dh₁, Eh₁, Fh₁, Gh₁ ve Hh₁ materyal ve metod kısmında açıklanmıştır).

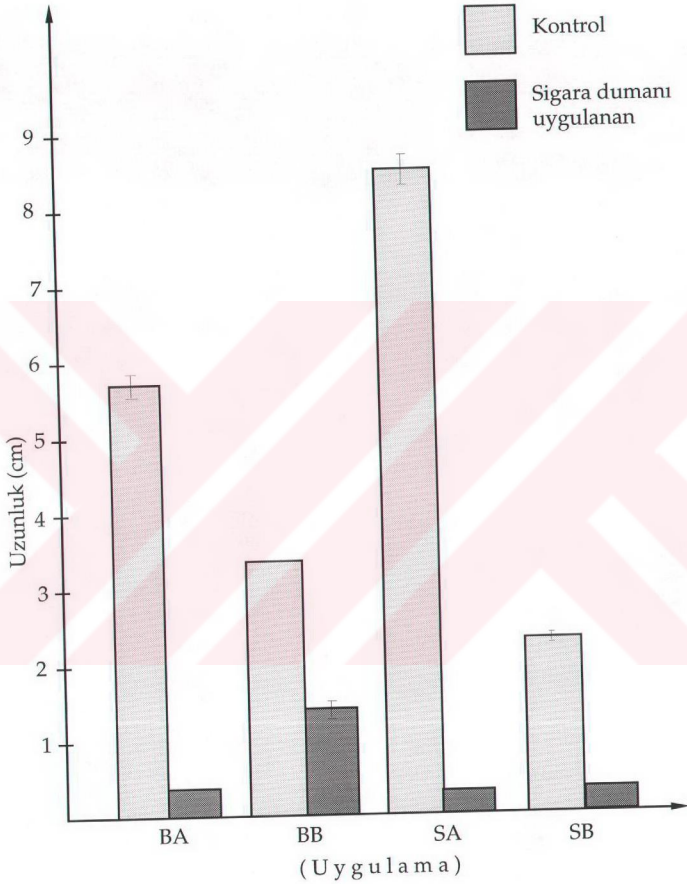


Şekil 3.1.2.2. Çimlenme periyodunun değişik aşamalarında çimlenme ortamlarına sigara dumanı ile doyurulmuş veya normal GA₃, kinetin, GA₃ + kinetin çözeltileri ve musluk suyu verilen salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 72 saat sonra ölçülen kök ve hipokotil uzunlukları (Açıklama 3.1.2.1. deki gibidir).

3.2. Sigara Dumanının Kök, Koleoptil veya Hipokotil Büyümesi Üzerindeki Etkileri

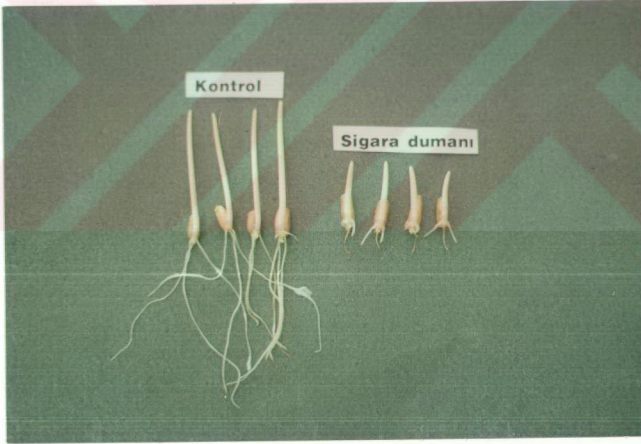
Gelişme ortamlarına sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan çimlenmiş buğday ve salatalık tohumlarının kök, koleoptil ve hipokotil uzunlukları şekil 3.2.1.'de verilmiştir. Ayrıca ıslatmanın başlangıcından 103 saat sonra bu tohumlardan oluşan fidelerin genel görünüşleri şekil 3.2.2. ve şekil 3.2.3.'de görülmektedir.

Şekil 3.2.1.'in incelenmesinde anlaşılacağı gibi çimlenmenin ilk morfojenetik belirimlerinin başlamasından hemen sonra büyümenin gerçekleştiği ka-

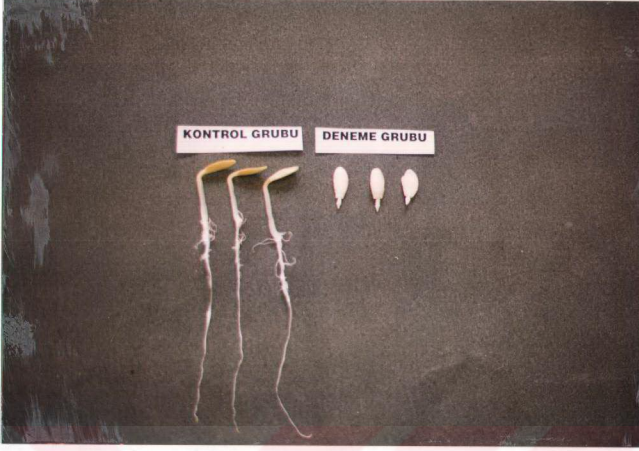


Şekil 3.2.1. Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan buğday ve salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 103 saat sonra ölçülen kök, koleoptil veya hipokotil uzunlukları (BA = 3 seminal kökün ortalaması, BB = koleoptil, SA = salatalık kökü, SB = hipokotil).

palı sistemin atmosferine sigara dumanı uygulanması kök, koleoptil veya hipokotil büyümesinde çok büyük oranlarda inhibisyona yol açmıştır. Ayrıca sigara dumanının kök büyümesi üzerinde oluşturduğu inhibisyon hipokotil veya koleoptil büyümesi üzerindeki inhibitif etkilerinden daha belirgin biçimde ortaya çıkmıştır. Bu da kök sisteminin atmosferdeki sigara dumanına karşı daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Bizim sigara dumanında saptadığımız bu inhibitif etki Stiles (1950), Özgöçü ve arkadaşları (1986) ve Çivici (1987)'nin bulgularına benzerlik göstermektedir. Ayrıca bileşim bakımından sigara dumanına benzeyen bir kirletici olan eksoz gazının büyüme üzerinde daha önce tarafımızdan (1988) ve Türkan (1988) tarafından gözlenen etkileri sonuçlarımıza uygunluk göstermektedir.



Şekil 3.2.2. Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan buğday tohumlarından oluşan fidelerin 103 saat sonraki görünüşleri.

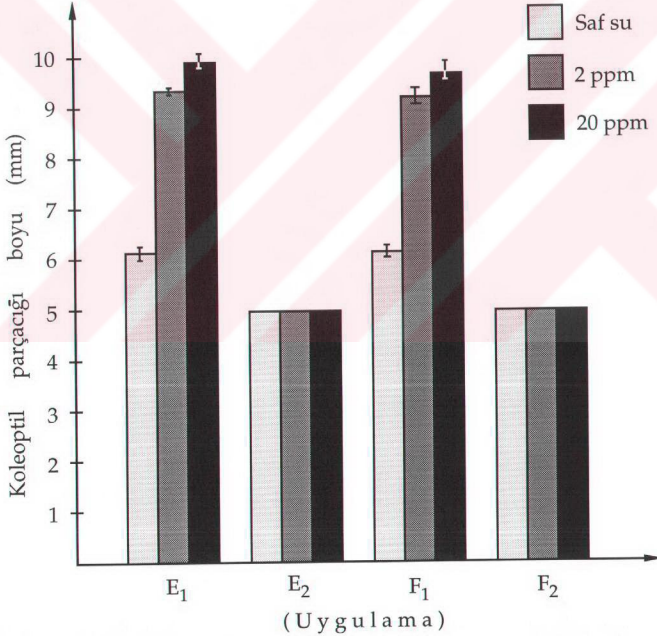


Şekil 3.2.3. Çimlenme aşamasından sonra sigara dumanı uygulanan (Deneme grubu) ve uygulanmayan (kontrol grubu) salatalık tohumlarından oluşan fidelerin ıslatmadan 103 saat sonraki görünüşleri.

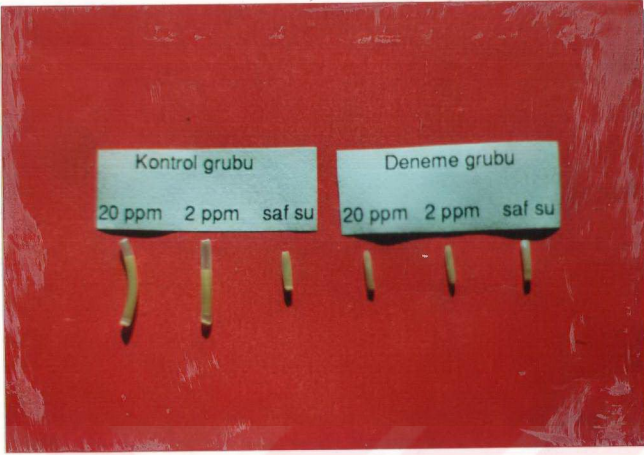
3.3. Koleoptil Parçacıklarının Büyümleri Üzerinde Sigara Dumanı - IAA Etkileşimi

Sigara dumanı içeren ve içermeyen kapalı sistemlerde büyümeye bırakılan buğday koleoptillerinden kesilen ve farklı konsantrasyonlardaki IAA çözeltileri ve saf su içerisine alınan koleoptil parçacıklarının sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan ortamlardaki büyüme aktiviteleri şekil 3.3.1. ve şekil 3.3.2.'de belirtilmiştir. Şekillerde de görüleceği üzere koleoptil parçacıklarının büyümleri sigara dumanı içeren ortamda tamamen engellenmektedir. Yani hormon, aynı anda uygulanan sigara dumanının koleoptil parçacıklarının büyümleri üzerinde oluşturduğu inhibisyonu bertaraf edememektedir. Fakat fide büyümesinin belirli bir aşamasından sonra sigara dumanına maruz bırakılıp kök ve koleoptil büyümlerinde belirgin bir inhibisyon oluşturulan bitkilerden kesilen koleoptil parçacıkları sigara dumanı içermeyen ortamda hormona cevap vermektedir. Hatta şekil 3.3.1.'den de görüleceği üzere IAA, daha önce

uygulanan sigara dumanının meydana getirdiği inhibisyonu tamamen bertaraf etmektedir. Ancak IAA, ortamda sigara dumanı bulunduğu zaman etkisini gösterememektedir. Bu durum, sigara dumanının koleoptil parçacığında hormona karşı büyük ölçüde bir duyarlılık azalmasına yol açtığını ve bu etkinin, ancak bu faktörün ortamda bulunduğu sürece görülebildiğini ortaya koymaktadır. Bu konuda daha önce bir literatür verisine rastlamadığımız için, böyle bir sonucun ilk kez tarafımızdan elde edilmiş olduğunu söyleyebiliriz. Daha önce UV ışığının da koleoptillerde bu tür bir duyarlılık azalması meydana getirdiği bildirilmiş ise de bu faktörün ortadan kalkmasıyla duyarlılığın restore edilemediği görülmüştür (Vardar ve Baltepe, 1973).



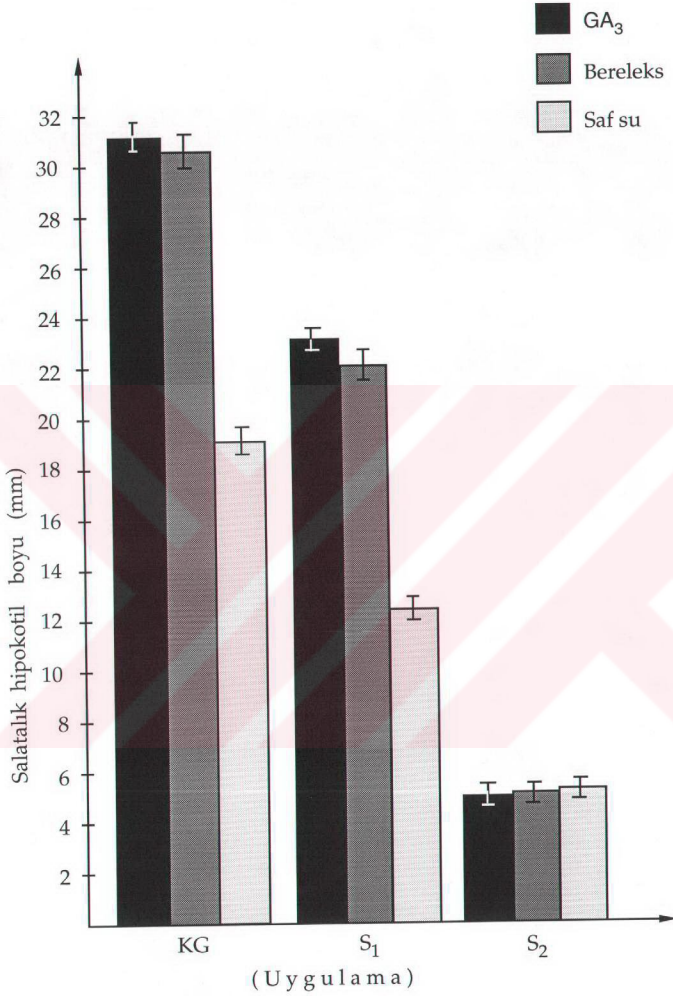
Şekil 3. 3.1. Saf su ortamında ıslatılıp çimlendirilen buğday tohumlarının behere transplantasyonundan sonra temiz atmosferde (E grubu) veya sigara dumanlı atmosferde (F grubu) oluşan koleoptillerden alınan parçacıkların, temiz atmosferde (E₁, F₁) veya sigara dumanlı atmosferde (E₂, F₂) 14 saat sonra çeşitli konsantrasyonlardaki IAA çözeltilerine karşı büyüme davranışları.



Şekil 3. 3.2. Şekil 3.3.1.'de gösterilen E₁ (kontrol grubu) ve F₂ (deneme grubu) koleoptil parçacıklarının deney sonrasındaki görünüşleri.

3.4. Hipokotil Büyümesi Üzerinde Sigara Dumanı - Hormon Etkileşimi

Bilindiği gibi bazı Cucurbitaceae türlerinin hipokotil büyümesi, ışık altında gibberellin uygulaması ile arttırılabilmektedir (Baltepe ve Mert, 1973). Hatta salatalık bitkisinde bu özellikten yararlanılarak bir biyolojik test de geliştirilmiştir (Brian vd., 1964). Şekil 3.4.1.'in incelenmesinden anlaşılacağı üzere salatalık bitkilerinin hipokotil büyümesi üzerinde sigara dumanının oluşturduğu engelleyici etki, ortamda sigara dumanı bulunduğu zaman GA₃ ve Bereleks uygulaması ile bertaraf edilememektedir. Fakat gelişme ortamlarına belirli bir aşamadan sonra sigara dumanı verilip kök ve hipokotil büyümelerinde belirgin bir inhibisyon oluşturulan fideler sigara dumanı bileşenlerini içermeyen ortama alındıkları zaman, sigara dumanının oluşturduğu inhibisyondan kurtuldukları gibi gibberellinlere karşı duyarlılıklarını yeniden kazanmaktadır.



Şekil 3. 4.1. Islatmadan 48 saat sonra gelişme ortamlarına sigara dumanı verilen (S grubu) ve bundan 48 saat sonra GA₃ veya Bereleks uygulanarak temiz (S₁) ve sigara dumanlı (S₂) atmosferlerde 2200 lux ışık altında 48 saat bekletilen salatalık fidelerinin gösterdikleri büyüme davranışının kontrol bitkileri (KG) ile mukayeseli ölçüm sonuçları.



Şekil 3.4.2. Şekil 3.4.1.'de anlatılan S_2 (deneme grubu) ve KG (kontrol grubu) bitkilerinin deney süresi sonunda görünüşleri (Ber. = Bereleks, s.s = saf su).

Ayrıca gelişme ortamlarına belirli bir aşamadan sonra sigara dumanı verilen bitkilerin klorofil sentezleme yeteneklerinde de azalma göze çarpmaktadır (Şekil 3.4.2.).

Burada vardığımız sonuçlar koleoptillerle yaptığımız deney serisinin sonuçlarına uygunluk arz etmektedir. Bu seride de, kullandığımız salatalık hipokotilleri üzerinde sigara dumanının oluşturduğu engelleyici etki, bu kirlenici faktör ortadan kalktıktan sonra devam etmemektedir. Yani reverabl özelliğe sahiptir. Sigara dumanlı ortamdan kurtulan hipokotiller hormona karşı büyüme davranışı gösterme yeteneklerini yeniden kazanmaktadır. Ancak ortamda sigara dumanı bulunduğu sürece hangi konsantrasyonda olursa olsun

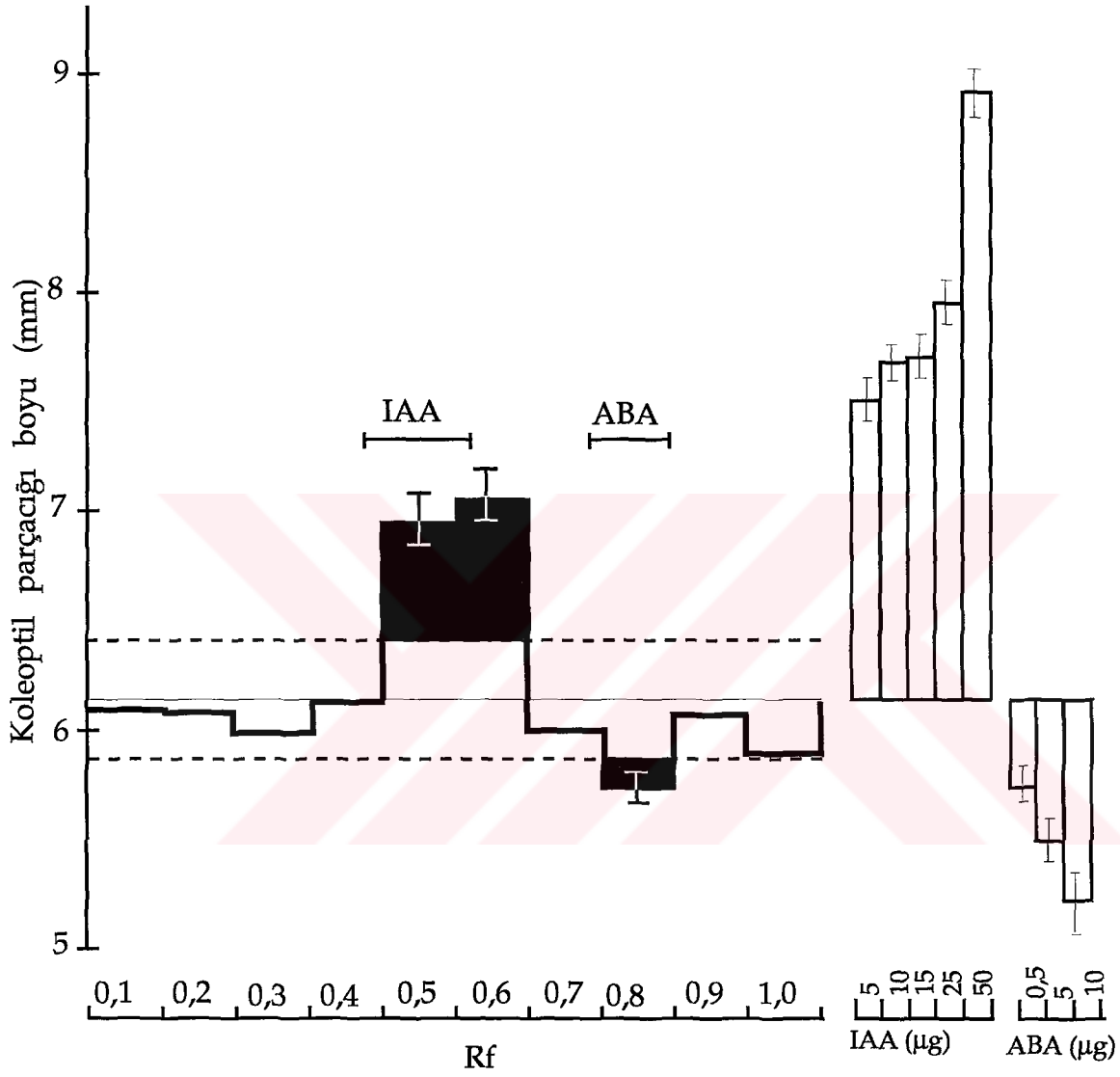
GA₃ veya Bereleks, bu bitkilerde bir büyüme davranışı meydana getirememektedirler. Şu halde endogen hormon seviyesi ne olursa olsun sigara dumanı, ortamda bulunduğu sürece, bitki dokusunun mevcut hormon konsantrasyonuna karşı duyarlılığında çok büyük ölçüde bir azalma meydana gelmektedir. İşte bu durumu daha iyi aydınlatılabilmek amacıyla sigara dumanının çimlenme ve ilk morfogenetik belirimleri engellediği aşamada, bu uygulamaya maruz kalmış tohumlardan endogen hormon ekstraksiyonu ve mukayeseli determinasyonu yapılmasının bir zorunluluk olduğunu düşünerek bir sonraki deney serisini düzenlemiş bulunuyoruz.

3.5. Sigara Dumanının İçsel Hormon Sentezi Üzerindeki Etkileri

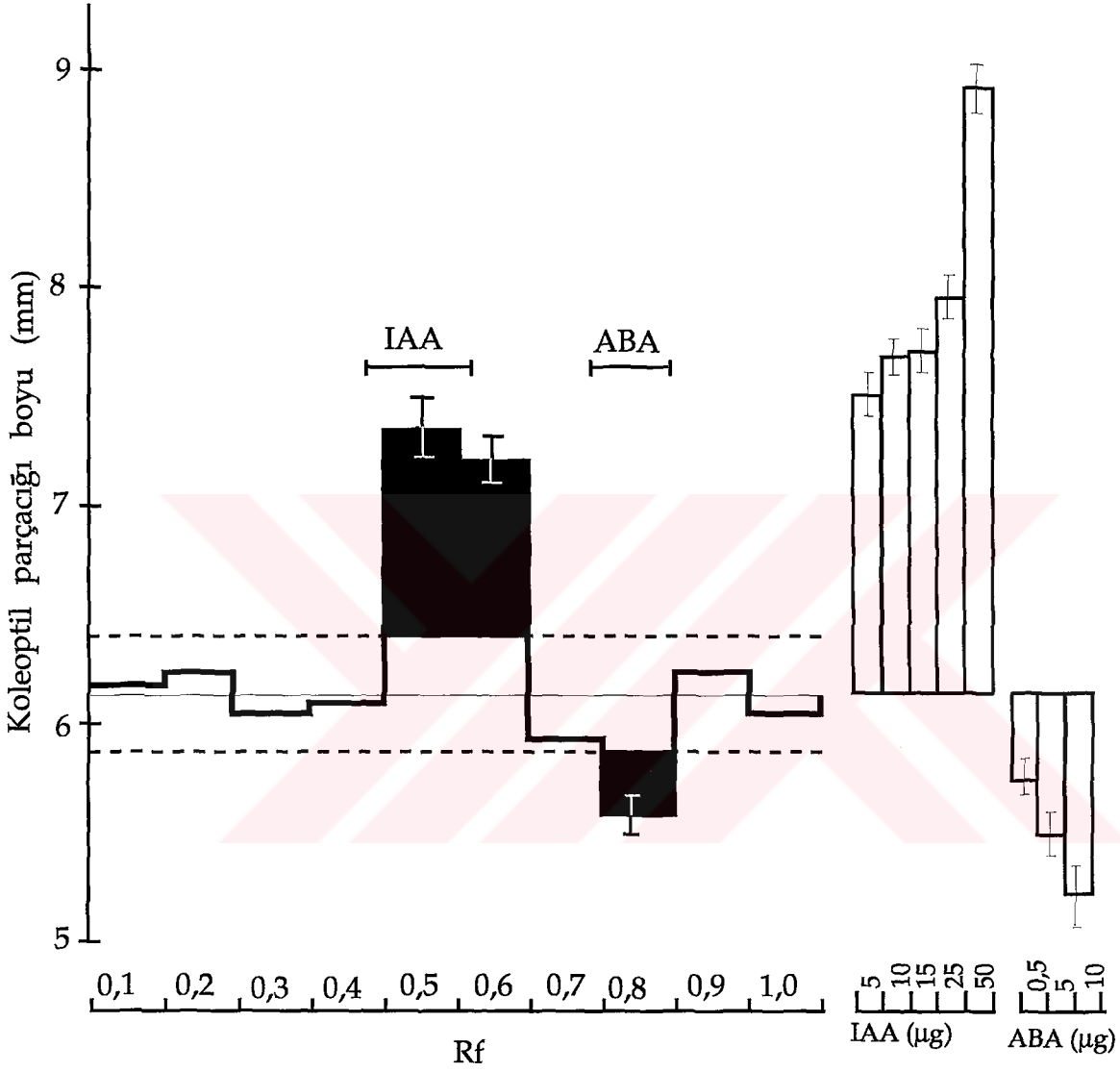
Sigara dumanı ile muamele edilen ve edilmeyen buğday tohumlarının içsel ABA düzeyleri hem biyolojik test ve hem de spektrofotometrik yöntem ile, IAA, gibberellin ve sitokinin düzeyleri ise sadece biyolojik test ile saptanmaya çalışılmıştır.

3.5.1. Sigara dumanının içsel IAA ve ABA sentezi üzerindeki etkileri

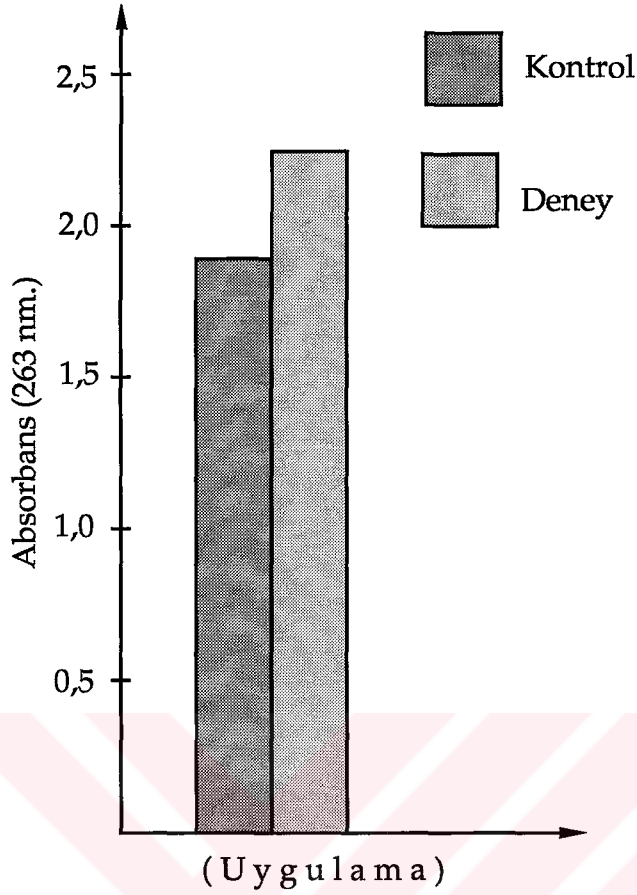
Çimlenmeyi tamamen engelleyici şekilde sigara dumanı uygulanan ve uygulanmayan ortamlarda çimlenmeye bırakılan buğday tohumlarından belirli süre sonunda elde edilen etanol ekstraktının asidik - nötr maddeleri içeren etil asetat fazının kağıt kromatografisine uygulanmasından sonra, buğday koleoptili dik büyüme metodu ile saptanan içsel IAA ve ABA düzeyleri şekil 3.5.1.1. ve şekil 3.5.1.2.'de verilmiştir. Histogramların incelenmesinden anlaşılacağı üzere sigara dumanı içsel IAA düzeyinde istatistiki olarak önemsenecek derecede bir değişikliğe yol açmamaktadır. Bu da sigara dumanının çimlenmekte olan tohumlarda IAA sentezini engellemediğini açıkça göstermektedir. Yine bu histogramlarda görüleceği üzere sigara dumanı ile muamele edilen tohum-



Şekil 3. 5.1.1. Sigara dumanı uygulanmamış buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının kağıt kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, buğday koleoptili dik büyüme biyotesti ile ölçülen IAA ve ABA aktiviteleri.



Şekil 3. 5.1.2. Sigara dumanı uygulaması ile çimlenmesi engellenmiş buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının kağıt kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, buğday koleoptili dik büyüme biyotesti ile ölçülen IAA ve ABA aktiviteleri.



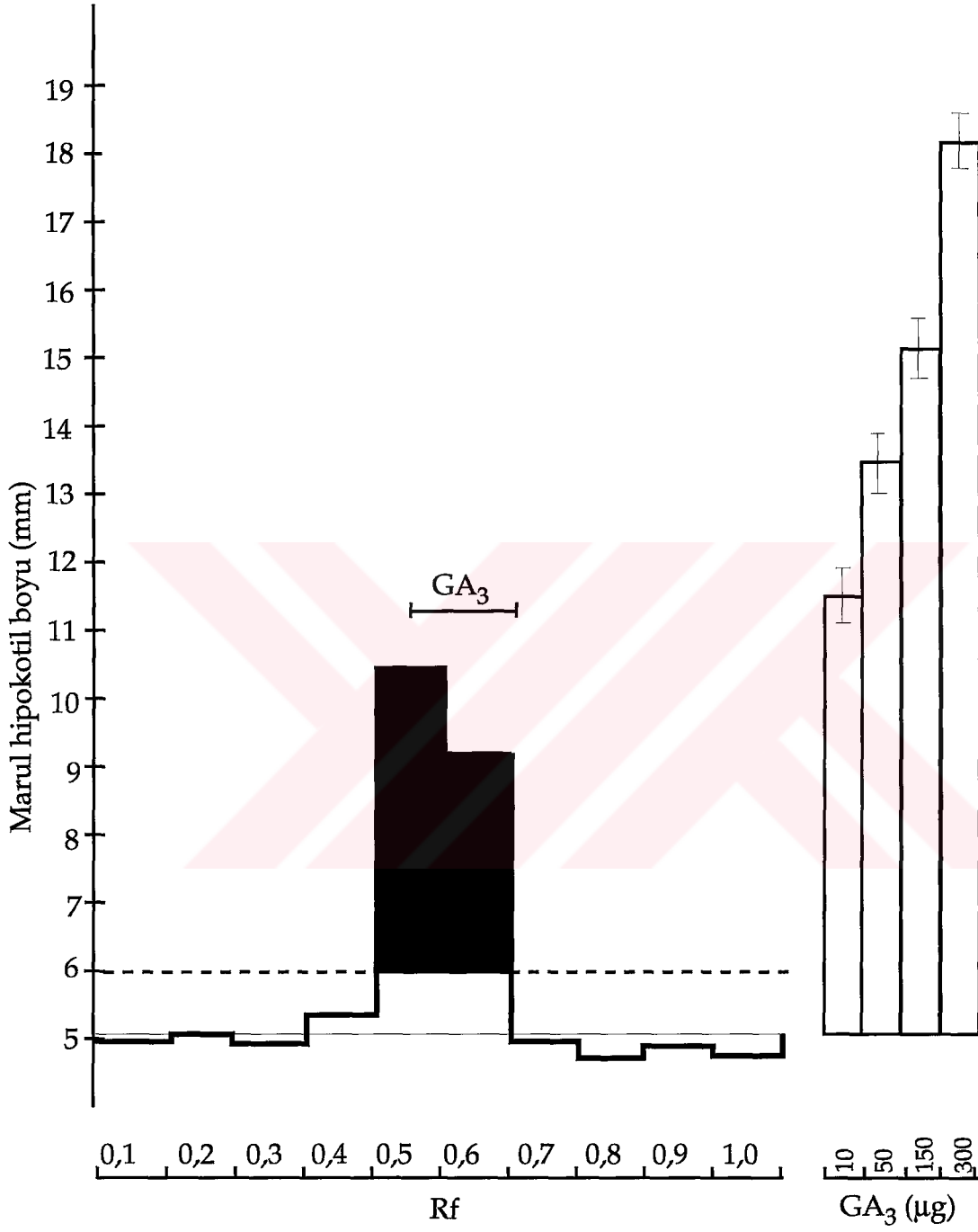
Şekil 3. 5.1.3. Sigara dumanı uygulaması ile çimlenmesi engellenmiş (deney) ve sigara dumanı uygulanmamış (kontrol) tohumlardan elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi sonunda ABA'e tekabül eden bölgenin metanol eluatında ölçülen absorbans değerleri.

ların içsel ABA düzeylerinde az da olsa bir artış göze çarpmaktadır. Zaten spektrofotometrik metotla 263 nm absorbans değerine bağlı kalınarak yapılan ABA tayininde bu sonucu doğrulayan bulgular elde edilmiştir (Şekil 3.5.1.3.). Ancak bilindiği gibi tohumlarda fenolik bileşikler fazla miktarlarda bulunmaktadır ve bu bileşikler ABA ile yakın Rf'lerde lokalize olmaktadır. Bu açıdan kromatogramlarımızda ABA'e tekabül eden Rf bölgelerinde görülen inhibisyon aktivitesi yalnızca ABA'den kaynaklanmayabilir. Burada inhibitör - β kompleksinin varlığı (Bennet - Clark ve Kefford, 1953)'ndan söz etmek daha doğru olur. Bu nedenle sigara dumanının az da olsa inhibitör - β kompleksi

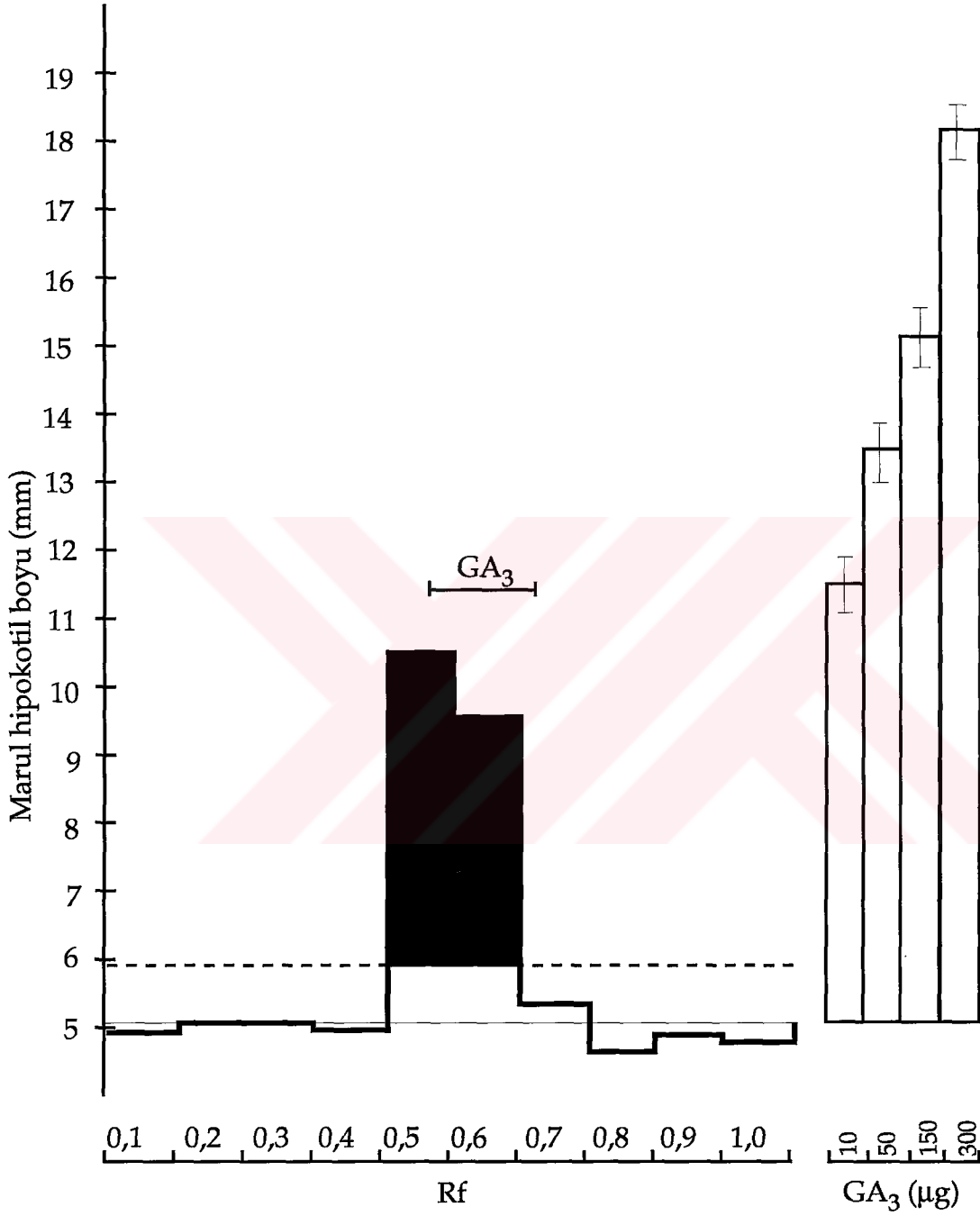
miktarında bir artışa yol açtığını söyleyebilmekteyiz. Daha sonra spektrofotometrik ölçümle de ABA'nın absorpsiyon maksimumu olan 263 nm'de, sigara dumanı uygulanmış tohumların ekstraktında absorpsiyonda belirgin bir artış görmüş olmamız, bu uygulamanın ABA sentezinde artışa yol açtığını düşündürmektedir. Ancak bu konuda kesin sonuca varabilmek için gaz kromatografik analizin şart olduğu bilinmektedir. IAA spektrofotometrik analizi ise maksimum absorpsiyon dalga boyunun spesifik olmaması nedeniyle son zamanlarda pek kullanılmamaktadır ve kullanılması da önerilmemektedir (Rivier ve Crozier, 1987).

3.5.2. Sigara dumanının içsel gibberellin sentezi üzerindeki etkileri

Sigara dumanı uygulanmayan ve çimlenmeyi tamamen engelleyici şekilde sigara dumanı uygulanan ortamlarda belirli bir süre çimlenmeye bırakılan buğday tohumlarının etanol ekstraktının asidik - nötr maddeleri içeren etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi ile ayrıştırılmasından sonra, sadece gibberellinlere özgü bir biyotest olan marul hipokotili büyüme testi ile saptanan içsel gibberellin düzeyleri şekil 3.5.2.1. ve şekil 3.5.2.2.'de verilmiştir. Histogramların incelenmesinden görüleceği üzere çimlenmeyi tamamen engelleyen sigara dumanı uygulaması çimlenmekte olan tohumlarda, çimlenmenin anahtar maddesi olan içsel gibberellin düzeyini ve dolayısıyla sentezini etkilemektedir.

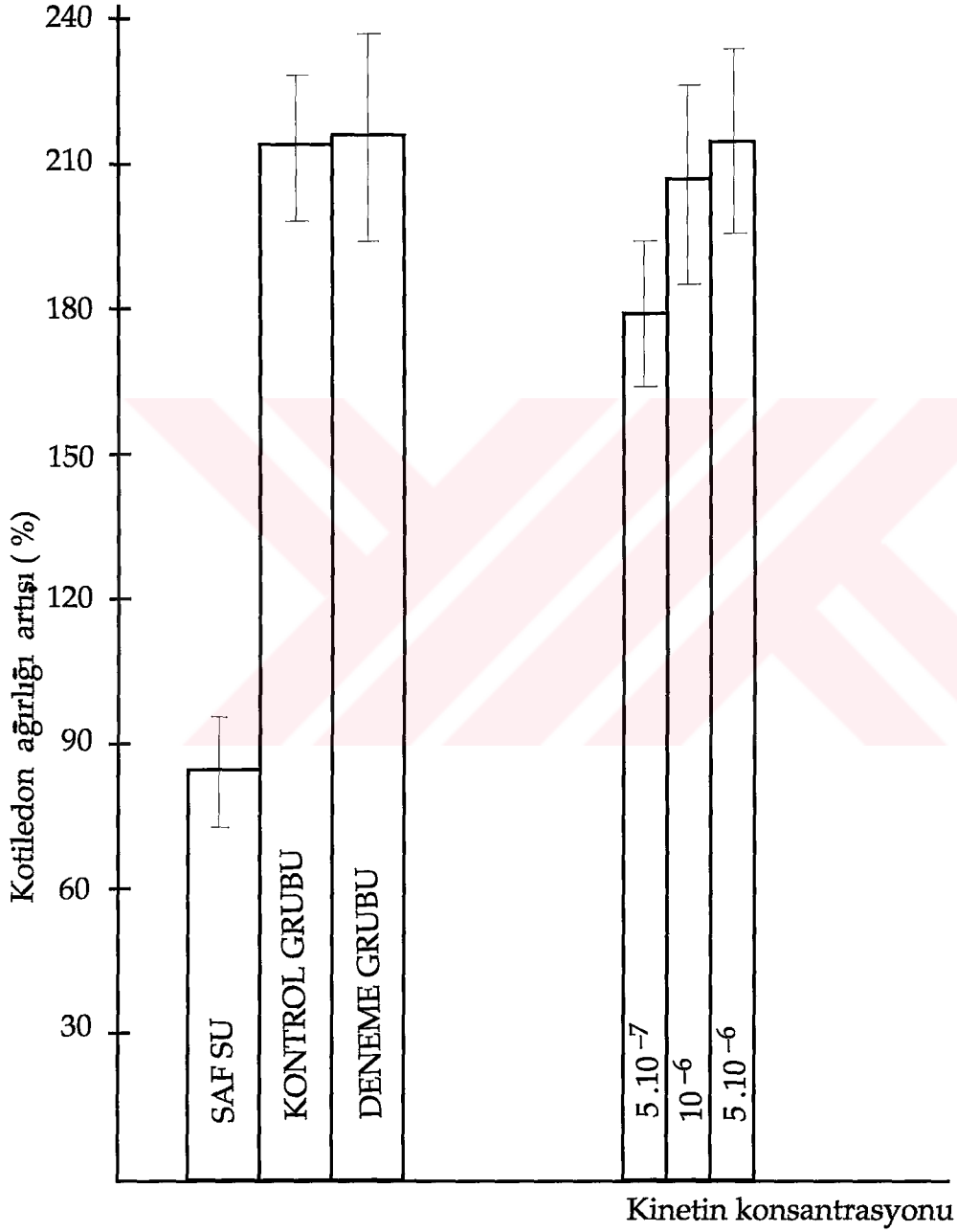


Şekil 3. 5.2.1. Sigara dumanı uygulanmamış buğday tohumlarından elde edilen etanol ekst-raktının etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, marul hipoko-tili büyüme biyotesti ile ölçülen gibberellin aktiviteleri.



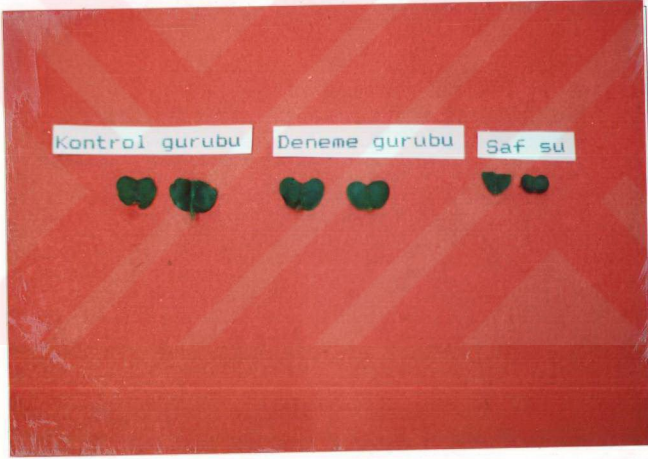
Şekil 3. 5.2.2. Sigara dumanı uygulaması ile çimlenmesi engellenmiş buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat fazının ince tabaka kromatografisi ile ayrıştırılması sonunda, marul hipokotili büyüme biyotesti ile ölçülen gibberellin aktiviteleri.

3.5.3. Sigara dumanının içsel sitokinin sentezi üzerindeki etkileri



Şekil 3. 5.3.1. Sigara dumanı uygulanan (deneme grubu) ve uygulanmayan (kontrol grubu) buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının etil asetat ile ayrıştırılması sonunda geriye kalan ve bazik maddeleri içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile saptanan sitokinin aktiviteleri.

Çimlenmeyi tamamen engelleyecek şekilde sigara dumanı uygulanan ve sigara dumanı uygulanmayan ortamlarda belirli bir süre çimlenmeye bırakılan buğday tohumlarının etanol ekstraktının bazı maddeleri içeren su fazında bulunan endogen sitokinlerin (Baltepe, 1974; Khan, 1973), turp kotiledonu genişleme biyotesti ile saptanan aktiviteleri şekil 3.5.3.1. ve şekil 3.5.3.2.'de verilmiştir. Şekillerde de görüleceği üzere sigara dumanı uygulaması çimlenmekte olan tohumlarda içsel sitokinlerin düzeyini ve dolayısıyla sentezini hiç etkilememektedir.



Şekil 3. 5.3.2. Turp kotiledonlarının, sigara dumanı ile muamele edilen (dene-me grubu) ve edilmeyen (kontrol grubu) buğday tohumlarından elde edilen etanol ekstraktının su fazlarında ve 500 lux ışık altında 60 saat sonra saptanan durumları.

Bütün deney serilerinden elde edilen veriler bir araya getirilip karşılaştırıldığında şu sonuçlara varmamız mümkündür; sigara dumanı çimlenmenin çeşitli aşamalarında çimlenmeyi geciktirmekte, ancak ortam atmosferinde bulunduğu sürece çimlenmeyi tamamen engellemektedir. Çimlenme üzerinde görülen bu inhibisyon, çimlenme sonrası aşamada sigara dumanı ile muamele edilen çimlenmiş tohumların kök, koleoptil veya hipokotil büyümesinde de belirgin bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Yapılan hormon ekstraksiyonları sonunda, çimlenmesi bu şekilde tamamen engellenmiş tohumlarda auksin, gibberellin ve sitokinin sentezlerinin normal tohumlardaki gibi gerçekleştiği, ancak inhibitör maddeler (ABA) düzeyinde kısmi bir artış meydana geldiği anlaşılmaktadır. Bu durum çimlenmenin hormon sentezinin engellenmesi yoluyla değil, embriyodaki hücrelerin mevcut hormon düzeyine karşı duyarlılıklarında ve davranış yeteneklerinde büyük bir azalış sonucu inhibisyona uğradığını düşündürmektedir. Nitekim hipokotillerin ve koleoptil parçacıklarının sigara dumanının ortamda bulunduğu sürece dıştan uygulanan hormonlara karşı hiç bir davranış gösterememeleri bu görüşümüzü doğrular niteliktedir. İnhibisyonun ancak ortamda bu kirletici etmen bulunduğu sürece görülmesi, bu inhibitif etkinin aynı zamanda reverzibl olduğunu da ortaya koymuştur.

Bildiğimiz kadarıyla bu konuda ilk kez tarafımızdan yapılan bu çalışmanın, laboratuvarlarımızda henüz mümkün olmayan daha duyarlı hormon tayinleriyle de devam ettirilerek konunun çok yönlü ele alınıp irdelenmesi kanımızca çok yararlı olacaktır. Daha ileride bu tür çalışmalarla konuya daha da açıklık getirmeyi amaçlamış bulunuyoruz.

KAYNAKLAR

- BALTEPE, Ş., (1974). Sitokininler için Basit Ekstraksiyon ve Biyolojik Test Metodları. *Acta Biologica*, 24, 21 - 28
- BALTEPE, Ş., ve MERT, H.H., (1973). Bazı Cucurbitaceae türlerinin hipokotil büyümesine gibberellik asit ve indol asetik asitin etkileri. **VI. Bilim Kongresi Tebliğleri**, 5 - 8 Kasım 1973, Ankara.
- BANDYOPADHYAY, A., ve SHARMA, A., (1960). Tobacco and Its Mutagenic Effects. *The Nucleus*, 23, 3, 157 - 169
- BAZZAZ, F.A., ROLFE, G.L., ve WINDLE, P., (1974). Differing Sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination. *J. Environ. Qual.*, 3, 156 - 158
- BEEVERS, L., (1976). Senescence In; Bonner J, Varner JE (eds.). **Plant Biochemistry**. Academic press. New York, 771 - 794.
- BENNET - CLARK, T.A., ve KEFFORD, N.P., (1953) Chromatography of the growth substances in plant extracts. *Nature*, 171, 645 - 647.
- BENNETT, J.P., RESH, H.M., ve RONECKLES, V.C., (1974). Apparent stimulations of plant growth by air pollutants. **Canadian Journal of Botany**, 52, 35 - 41.
- BRIAN, P.W., HEMMING, H.G., ve LOWE, D., (1964). Comparative potency of nine gibberellins. **Annals of Botany**, N.S. Vol, 28, No 111, 369 - 389.
- BUCHER, J.B., (1981). SO₂ - Induced ethylene evolution of forest tree foliage

age, and its potential use as stress - Indicator (short commun.). **Eur. J. for Pathol.**, 11, 369 - 373.

COLWILL, D.M., THOMPSON, J.R., ve RUTTER, A.J., (1982). An assessment the conditions for shrubs alongside motorways. **TRRL Laboratory Report 1061**, Crowthorne, Berkshire.

ÇETİK, R., (1965). The vegetation of Murgul area Affected by sulphur dioxide. **Commun. Fac. Sci. Univ. Ank.**, 10, 140 - 196.

ÇIVİCİ, İ., (1987). Investigations on the effects of cigarette smoke application on the development of roots. **Ege Üniversitesi Fen Fak. Dergisi**, seri B, 9,1, 1 - 10.

DMOWSKI, K., ve KAROLEWSKI, M.A., (1979). Cumulation of zinc, cadmium and lead in invertebrates and in some vertebrates according to the degree of an area contamination (cf. Çap vd., (1987)).

EVANS, L. S., GMUR, N.F., ve KELSCH, J.J., (1977). Perturbation of upper lead surface structures by simulated acid rain. **Environ and Exp. Bot.**, 17, 145 - 149.

FLETCHER, R.A., ADDIPE, N.O., ve ORMROD, D.P., (1972). Abscisic acid protects bean leaves from ozone - induced phytotoxicity. **Can. J. Bot.**, 50, 2389.

FRANKLAND, B., ve WAREING, P.F., (1960). Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. **Nature** (London) 185, 255 - 256.

GODZIK, J., ASHMORE, M.R., ve BELL, J.N., (1985). Responses of radish cultivars to long term and short term exposures to sulphur dioxide, nitrogen dioxide and their mixtures, **New Phytol.**, 100, 191 - 197.

- GOLDSMITH, C.D., SCANLON, P.F., ve PIRIE, W.R., (1976). Lead concentrations in soil and vegetation associated with highways of different traffic densities. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, 16, 66 - 70.
- HALLGREN, J.E., (1978). Physiological and biochemical effects of sulphur dioxide on plantes. In **sulphur in the Environment. Part II. Ecological Impacts**, (Ed:J.O.NRIAGU), John Wiley ve Sons, New York, 163 - 209.
- HAINES, B.L., JERSTED, J.A., ve NEUFELD, H.S., (1985). Direct foliar effects of simulated acid rain. II. Leaf surface characteristics, **New Phytol.**, 99, 407 - 416.
- HASSET, J.J., MILLER, J.E., ve KOEPPE, D.E., (1976). **Environ. Pollut.**, 11, 297.
- HECK, W.W., (1964). Plant injury induced by photochemical reaction products of propylene - nitrogen dioxide mixtures. **J. Air Pollut. Contr. Ass.**, 14, 225 - 261.
- HERNANDEZ, L.M., RICO, C., GONZALES, J., ve HERNAN, A., (1987). Environmental contamination by lead and cadmium in plants from urban area of Madrid, Spain. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, 38, 203 - 208.
- HESELTINE, E., RIBOLI, E., ve SHUKER, L., (1988). **Tobacco or Health, Smoke - Free Europe : 4**, Published by WHO Regional office for Europe, IARC and Commission of the European Community.
- HILL, A.C., ve BENNETH, J.H., (1970). Inhibition of apparent photosynthesis by nitrogen oxides. **Atmos. Environ.**, 4, 341 - 348.
- IRWING, P.M., ve MILLER, J.E., (1980). Response of field grown soybeans to acid precipitation alone or in combination with sulphur dioxide. **Ecolo-**

gical Impact of Acid Precipitation, ed. : D.Drablos and A.Dollan, SNFS - As - NLH, Norveç, 170 - 171.

- JONES, T., ve MANSFIELD, T.A., (1982). Studies on dry matter partitioning and distribution of C - labelled assimilates in plants of *Phleum pratense* exposed to SO₂ pollution. **Environ. Pollut.** (Series A). 28, 199 - 207
- KABAR, K., (1979). *Hordeum vulgare*'de Yüksek Sıcaklık Şartları ve Tuza Tolerans İlişkilerinin Çimlenme Üzerindeki Etkilerinin Analizi. **Yüksek Lisans Tezi**, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi.
- KABAR, K., ve BALTEPE, Ş., (1990). Effects of Kinetin and Gibberellic acid in Overcoming High Temperature and Salinity (NaCl) Stresses on the Germination of Barley and Lettuce Seeds. **Phyton** (Horn Austria), 30, 1, 65 - 74.
- KEFFORD, N.P., (1955). The growth substances seperated from plant extracts by chromatography I. **Journ. of Expt. Bot.** 6 : 129 - 151.
- KHAN, M.I., (1973). Isolation of Radioactive Cytokinin From roots of *Taraxacum officinale* Web., **J. Sci. Univ. Karachi** (India), 2 , 1, 37 - 40.
- KIMMERER, T.W., ve KOZLOWSKI, T.T., (1982). Ethylene, ethane, acetaldehyde, and ethanol production by plants under stress. **Plant Physiology**, 69, 840 - 847.
- KNIGHT, L.I., (1913). Toxicity of Smoke. **Bot. Gazette**, 55, 377.
- LEE, C.K., LOW, K.S., AZHAR, P., ve LOI, P.S.T., (1983). Heavy metals in some Malaysian mosses. **Pertinika**, 6, 48 - 55.

- LETHAM, D.S., (1971). Regulation of Cell Division in Plant Tissues. XII. A Cytokinin Bioassay Using Excised Radish Cotyledons. **Physiol. Plant.**, 25, 391 - 396.
- LUCKEY, T.D., (1968). Insecticide hormoligosis. **Journal of Economic Entomology**, 61, 7 - 12.
- MATTSON, W.J.Jr., (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen content. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 11, 119 - 161.
- McNARY, T.J., MILCHUNAS, D.G., LEETHAM, J.W., LAUENROTH, W.K., ve DODD, J.L., (1981). Effect of controlled low levels of SO₂ on grasshopper densities on a northern mixed - grass prairie. **Journal of Economic Entomology**, 74, 91 , 93.
- MEUDT, W.J., (1971). Interactions of sulfite and manganous ion with peroxidase oxidation products of indole - 3 - acetic acid. **Phytochemistry**, 10, 2103 - 2109.
- MOLICSH, H., (1916). Über das Treiben ruhender Pflanzen mit Rauch. **Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien. Abt.1, Math, - nat, Kl.**, 125 - 141.
- MUNZUROĞLU, Ö., (1988). Trafik Araçlarından Kaynaklanan Hava Kirlenmesinin Bitkiler Üzerindeki Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi, Elazığ.
- NAEGELE, J.A., (1974). Effect of Pollution on Plants. **Industrial Pollution**, ed. : N.I. Sax, Van Nostrand Reinhold Co, 82 - 99
- NEUFELD, H.S., JERSTED, J.A., ve HAINES, B.L., (1985). Direct foliar effect of acid rain. I. Damage, growth and gas exchange. **New Phytol.**, 99, 389 - 405.

- NEUMANN - VISSCHER, S., (1982). Plant growth hormone effects on insect growth and reproduction. **Proceedings of the 5th International Symposium on Insect - Plant Relationships**, Pudoc Press, Wageningen, 57 - 62.
- NITSCH, J.P., ve NITSCH, C., (1955). The separation of natural plant growth substances by paper chromatography. **Beitr. Biol. Pflanzen**, 31 , 387 - 408
- NITSCH, J.P., ve NITSCH, C., (1956). Studies of the growth of coleoptile and first internode sections. A new, sensitive straight growth test for auxins. **Plant. Physiol.**, 31 , 94 - 111
- ÖZÖRGÜCÜ, B., ÇIVİCİ, İ., ve TÜRKAN, İ., (1986). Kolşisin ve sigara dumanı uygulanmış köklerin DNA içeriği üzerinde gözlemler. **VIII. Ulusal Biyoloji Kongresi (3 , 5 Eylül) Bildiri Metinleri**, Cilt I, E.Ü.Fen.Fak., İzmir, 613 - 627.
- ÖZTÜRK, M., GEMİCİ, M., YILMAZER, Ç., ve ÖZDEMİR, F., (1993). Alleviation of Salinity Stress by GA₃, KIN and IAA of seed Germination of *Brassica campestris* L., **Tr. J., Botany.**, 17, 2, 47 - 52.
- PEISER, G.D., ve YANG, S.F., (1979). Ethylene and ethane production from sulphur dioxide - injured Plants, **Plant Physiology**, 63, 142 - 145.
- RIVIER, L., ve CROZIER, A., (1987). **Principles and Practice of Plant Hormone Analysis**. Vol. 2. Typeset and printed by W. and G. Baird Ltd., The Greystone Press, Antrim, Northern Ireland.
- ROSEN, P.M., MUSSELMAN, R.C., ve KENDER, W.J., (1978). Relationship of stomatal resistance to SO₂ and O₃ injury in grapevines. **Sci. Hortic**, 8, 137 - 142.

- ROYAL COLLEGE OF PHISICIANS OF LONDON, (1977). Smoking or Health. Pharmacology and Toxicology of Tobacco Smoke. The Third Report From The Royal College of Physicians of London, London, **Pitman Medical**, 39 - 47
- STEBBING, A.R.D., (1979). An experimental approach to the determinants of biological water quality. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B : Biological Sciences**, 286, 465 - 481.
- STILES, W., (1950). **An Introduction to the Principles of Plant Physiology**, London, 434.
- TAYLOR, J.S., REID, D.M., ve PHARIS, R.P., (1981). Mutual antagonism of sulphur dioxide and abscisic acid in their effect on stomatal aperture in broad bean (*Vicia faba* L.) epidermal strips. **Plant Physiol.**, 68, 1504 - 1507.
- THOMAS, B.T., EDMUNDS, J.W., ve CURRY, S.J., (1975). Lead content of canned fruit. **J.Sci. Fd. Agric.**, 26, 1 - 4.
- THOMAS, B., ROUGHAN, T.A., ve WATTERS, E.D., (1973). Lead and cadmium content of some canned fruit and vegetables. **J.Sci. Fd. Agric.**, 24, 447 - 449.
- THOMSON, W.W.J., DUGGER, W.M., ve PALMER, R.L., (1965). Effects of peropyacetyl nitrate on ultrastructure of chloroplasts. **Bot. Gaz.**, 126, 66 - 72.
- TINGEY, D.T., STANDLEY, C., ve FIELD, R.W., (1976). Stress ethylene evolution : A measure of ozone effects on plants. **Atmospheric Environment**, 10, 969 - 974.
- TRICHOPOULOS, D., HATZAKIS, A., WYNDER, E., KATSOUYANNI,

K., ve KALANDIDI, A., (1987). Time Trends of Tobacco Smoking, Air Pollution, and Lung Cancer in Athens. **Environmental Research**, 44, 169 - 178.

TUKEY, J.W., (1953). Some selected quick and easy methods for statistical analysis. **Transactions of New York Acad. Sci.**, 88 - 97.

TÜRKAN, İ., (1986). İzmir il merkezi çevre yolları kenarında yetişen bitkilerde kurşun, çinko ve kadmiyum kirlenmesinin araştırılması. **Doğa Tu. Bio. D.**, 10, 116 - 120.

TÜRKAN, İ., (1988). Egzoz gazının salatalık (*Cucumis sativus* L.) ve buğday (*Triticum aestivum* subsp. *Vulgare*) üzerinde morfolojik ve anatomik etkenlikleri. **IX. Ulusal Biyoloji Kongresi**, 21 - 23 Eylül, Sivas

YAKAR - OLGUN, N., (1959). Action of Cigarette smoke Tar on Root Tips. **İstanbul Üni. Fen Fakültesi Mecmuası. Seri B, Cilt 24, Sayı 3 - 4.**

YANG, S.F., ve SALEH, M.A., (1973). Destruction of indole - 3 - acetic acid during the aerobic oxidation of sulfite, **Phytochemistry**, 12, 1463 - 1466.

YÜREKLİ, K., GÜVEN, A., ve GÖRK, G., (1974). Spektrofotometre ile büyüme hormonlarının kantitatif tayinleri üzerinde çalışmalar. **Bitki**, 1, 60 - 68.

VARDAR, Y., ve BALTEPE, Ş., (1974). The effect of ultraviolet irradiation on the tissue sensitivity, on the level of endogenous auxins, and on the IAA transport and accumulation. **Proc. Res. Inst. Pomol. Poland, Ser. E**, 224 - 251.

ZAHN, R., (1970). The effect on plants of a combination of subacute and toxic sulphur dioxide doses. **Staub. Reinhaltung der luft**, 30, 20 - 23.