



Araştırma Makalesi–Research Article

## ***Ophrys mammosa* Desf. subsp. *mammosa* (Orchidaceae) Polinaryumlarında Bazı Hormonların Araştırılması**

### **Investigation of Some Hormones in Polinariums of *Ophrys mammosa* Desf. subsp. *mammosa* (Orchidaceae)**

Mehmet Aybeke<sup>1\*</sup>

Geliş / Received: 11/11/2022

Revize / Revised: 24/02/2023

Kabul / Accepted: 13/03/2023

#### **ÖZ**

Orkidelerde polenler polinaryum denen kümeler şeklindedir ve orkide polinaryumlarında hormonal hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmanın amacı orkide polinaryumlarındaki hormonların tespit edilmesidir. Bu amaçla araziden toplanan *Ophrys mammosa* subsp *mammosa* polinaryumları, laboratuvara getirilmiştir. Çalışmada Salisilik asit(SA), Absisik asit(ABA), Jasmonik asit(JA), Gibberellik asit(GA3) ve Indol-3-asetik(IAA)asit hormonları numunelerde taranmıştır. Hidrolize olmayan bitkisel ekstraksiyon ile muamele edilen numuneler LC–MS/MS cihazında çalışmaya alınmıştır. LC–MS/MS cihaz çalışması sonucunda Salisilik asit 2,6736 ng/gr, Absisik asit 65,6926 ng/gr, Jasmonik asit 12,2367 ng/gr bulunmuş, Gibberellik asit ve Indol-3-Asetik asit tespit edilmemiştir. Tespit edilen bulgular, güncel literatürler ışığında tartışılmıştır ve ileride yapılacak orkide üreme biyolojisi çalışmalarına katkıda bulunacağına inanılmaktadır. Çalışma bu yönüyle bir ilk olma niteliğindedir.

**Anahtar Kelimeler-Orkide, Polen, Hormon, Salisilik Asit, Jasmonik Asit**

#### **ABSTRACT**

Pollen in orchids is in the form of clusters called polynarium and no hormonal studies have been found in orchid polynariums. Therefore, the aim of the study is to determine the hormones in orchid polynariums. For this purpose, *Ophrys mammosa* subsp *mammosa* polynariums collected from the field were brought to the laboratory. In the study, Salicylic acid, Abscisic acid, Jasmonic acid, Gibberellic acid and Indole-3-acetic acid hormones were screened in the samples. The samples treated with non-hydrolyzed herbal extraction were taken into the study in LC–MS/MS device. As a result of the LC–MS/MS device study, Salicylic acid was found to be 2.6736 ng/gr, Abscisic acid 65.6926 ng/gr, Jasmonic acid 12.2367 ng/gr, Gibberellic acid and Indole-3-Acetic acid were not detected. The findings are discussed in the light of current literature and it is believed that they will contribute to future orchid reproductive biology studies. The study is a first in this respect.

**Keywords- Orchid, Pollen, Hormone, Salicylic Acid, Jasmonic Acid**

<sup>1\*</sup>Sorumlu yazar iletişim: [mehmetaybeke@trakya.edu.tr](mailto:mehmetaybeke@trakya.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0001-9512-5313>)  
Biyoloji Bölümü, Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Balkan Yerleşkesi, Merkez, Edirne, Türkiye

## I. GİRİŞ

Orchidaceae familyası, karasal veya ağaçlar üzerinde epifitler olmak üzere ototrof, saprofitik veya parazitik çok değişik yelpazede bitki formlarını içermektedir [1]. Bitkilerin en büyük ailesi olarak kabul edilen Orchidaceae, 25.000–35.000 türden oluşur [2]. Ülkemizdeki orkidelerin büyük bir bölümü Orchidoideae subfamilyası Orchideae tribusuna ait karasal orkidelerdir. Türkiye’de Orchidaceae familyası 24 cins ve toplamda 229 taksonla temsil edilmektedir [3]. Bu sayı her geçen gün yeni orkidelerin keşfi ile gittikçe artmaktadır. Dikkate değer güzellikteki bu bitkiler, çiçek varyasyonları ve değişik tozlaşma yöntemleri ile birçok araştırmacının ilgi odağı olmuştur [4].

Orkide polenleri konusunda birçok morfolojik ve taksonomik çalışma yapılmıştır. Kısmen de embriyolojik, in vivo polen çimlenmesi ve tozlaşma sonrası gelişim süreci hakkında çalışmalar vardır [5-7]. Tozlaşma sonrası çalışmalarında, polenin stigmaya temasından sonra olan olaylar kısmen hormonal olarak incelenmiştir. Örneğin; *Dendrobium* stigmalarına başka taksonlardan polenlerin tozlaşması sonrasında çiçeklerde etilen hormonunun arttığı ve bununla alakalı olarak çiçek solmasının hızlandığı belirtilmiştir [8]. Curtis [9], *Vanda* cinsine ait polenlerde büyük miktarda oksin hormonu olduğunu ileri sürmüştü ve bu oksin hormonunun tozlaşma sonrasında etileni tetiklediğini belirtmiştir [10]. Ayrıca orkideler dışındaki bazı bitkilerde yapılan bir başka çalışmada polen ekstraktlarında oksin ve giberellinlerin olduğu belirtilmiştir [11]. Bir başka yayında orkide polenlerinin IAA kaynağı olduğu belirtilmiştir [12].

Ayrıca polen aktivitesi ve tohum kapasitesi ilişkisi üzerinde bazı çalışmalar da mevcuttur [13,14]. Oysa Orchidaceae familyasında hem embriyolojik özellikleri hem de polen strüktürleri, diğer Angiospermae familyalardan daha farklıdır [15]. Birçok orkide cinsinde, polenler tetrad şeklindedir ve böylece binlerce tetrad pollinium denen kitlelerde toplanmıştır; aksine birkaç cinsde ise polenler granular taneler halindedir [15]. Orkide polenlerinin polinyum halinde toplanması nedeniyle hemen hemen en fazla gelişmiş çoklu polen üniteleri neredeyse Orchidaceae familyasına özgü olma niteliğindedir. Polinyumlar da viskidyum adında bir sap üzerinde toplanarak polinaryumları oluştururlar. Polenlerin hormon içerikleri ile ilgili fazla çalışmaya rastlanmamış olduğundan bu konu oldukça yenilik içermektedir. Orkidelerde de aynı şekilde polen ve hormon ikileminde yapılan çalışma çok az olup bu sonuçlar yukarıda verilmiştir. Dolayısıyla bu çalışmanın amacı; *Ophrys mammosa* subsp. *mammosa* taksonundaki polinaryumlarda bazı hormon miktarlarının tespit edilmesidir.

## II. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada araştırma materyali, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi arkası otoban kenarındaki çalılık alanlardan toplanmış *Ophrys mammosa* Desf. subsp. *mammosa* taksonuna ait bitkilerden elde edilen polinaryumlar kullanılmıştır (Şekil 1). Toplanan materyalin bir kısmı, herbaryum kurallarına göre kurutularak EDTU 8206 numara ile herbaryuma (Trakya Üniversitesi Herbaryumu) kayıt edilmiştir.



Şekil 1. *Ophrys mammosa* subsp. *mammosa* 'ya ait bitkinin arazi ortamındaki görünümü

Polenlerde hormonlar Agilent 1200 infinity LC (Likit Kromatografi), Agilent 6460 Triple Quadrupole MS/MS sistem Jet Stream Electrospray iyonizasyon kaynaklı (ESI) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) kütle/kütle spektrometresi kullanılarak belirlenmiştir.

Yaklaşık 1 gram bitki dokusu, 10 ml isopropil+metanol+su karışımında homojenizatör ile homojenize edilerek sonrasında 4°C'de 20 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bunu takiben süpernatant alınarak sırasıyla 45µ ve 20µ PTFE filtreden süzölmüştür. Süzölen bu örnek viallere alınarak analiz için 1 µl enjeksiyon yapılmıştır. Çalışmada kalibrasyon eğrileri her bir hormon için 1-200 ng/l aralığında çizilecek deneme 3 tekrerrülü olarak yapılmıştır. Çalışmalarda Agilent Poroshell 120 EC-C18 (4,6x50 mm, 2,7 µm particle size) kolon kullanılmış kolon fırın sıcaklığı 25°C olarak ayarlanmıştır. Mobile Faz A ultrasaf su, 0,2 % amonyum format (v/v), 0,2 % formik asit (v/v). Mobile Faz B metanol, 0,2 % amonyum format (v/v), 0,2 % formik asit (v/v) olarak hazırlanmıştır. Akış hızı sabit sıcaklıkta 0,3 ml/dak olarak ayarlanarak ve gradient profili aşağıdaki gibi uygulanmıştır:

0 - 1 dak, 70 % A, 30 % B; 3 - 7 dak; 30 %, 70 %; 9 -10 dak. 50 % A, 50 % B; 11 - 12 dak; 70 % A, 30 % B. Toplam analiz süresi 12 dakika olarak ayarlanmıştır. Çalışmalarda kütle spektrometresi (MS/MS) koşulları aşağıdaki gibidir: İyonlaştırıcı gaz sıcaklığı: 350°C, Nebulizer gaz basıncı:45 psi, nozzle voltaj: 500V, Kapılar ilgili voltaj: 3000V, sheat gaz sıcaklığı 400°C, sheat gaz akışı 12 l/ dakika. Enjeksiyon sonunda elde edilen pik alanları Mass Hunter (version B.06.01) yazılımı ile açılarak ve pik alanları kullanılarak Absisik asit (ABA), Jasmonik asit (JA) ve Salisilik asit (SA) değerleri belirlenmiştir [16].

Her bir hormon denemesi 3 tekrerrülü olarak gerçekleştirilmiş ve data sonuçları ortalama üzerinden verilmiştir.

### III. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

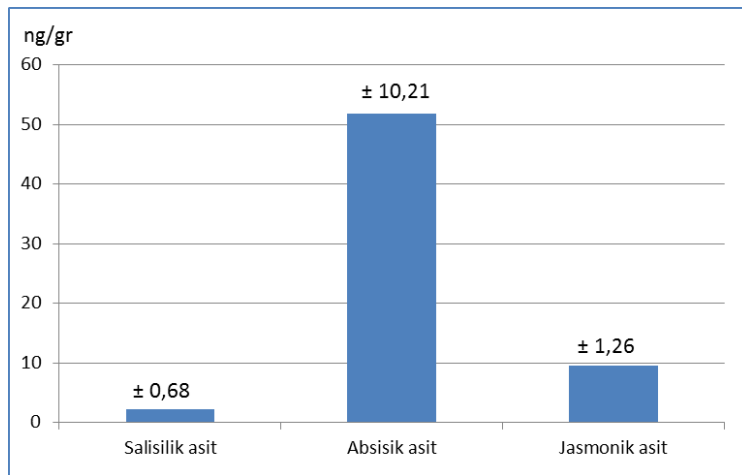
Çalışmada her 3 denemede de Salisilik asit (SA), Absisik asit (ABA) ve Jasmonik asit (JA) hormonları bulunmuş; fakat Gibberellik asit ve Indol asetik asit hormonları polenlerde çıkmamıştır.

1. denemede Salisilik asit 2,4929 ng/gr, Absisik asit 61,5419 ng/gr, Jasmonik asit 11,5850 ng/gr olarak tespit edilmiştir.

2. denemede Salisilik asit 3,4262 ng/gr, Absisik asit 77,3273 ng/gr, Jasmonik asit 13,6933 ng/gr olarak tespit edilmiştir.

3. denemede ise Salisilik asit 2,1017 ng/gr, Absisik asit 58,2087ng/gr, Jasmonik asit 11,4318ng/gr olarak tespit edilmiştir.

Buna göre her 3 denemenin ortalamaları ise Salisilik asit 2,6736 ( $\pm 0,68$ ) ng/gr , Absisik asit 65,6926 ( $\pm 10,21$ ) ng/gr, Jasmonik asit 12,2367 ( $\pm 1,26$ ) ng/gr olarak bulunmuştur. Her 3 denemede de en büyük değerler Absisik asitte, ikinci değerler Jasmonik asitte, 3. değerler de salisilik asitte çıkmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Salisilik asit, Absisik asit, Jasmonik asit hormon ortalamaları (ng/gr). Sütun üzerindeki rakamlar standart sapmadır.

ABA, hem biyotik hem de abiyotik strese verilen yanıtları düzenleyen bir stres hormonudur [17]. ABA, embriyonun olgunlaşması ve çevresel kaynaklı strese karşı cevapta yer alan birinci derecede önemli bir hormondur. Ayrıca, tohumun çimlenmesi sırasında hücre bölünmesi ve buna bağlı olarak uzamada görevlidir. Ekseriyetle büyüme hormonlarına zıt yönde etkiler yaratır ve büyümeye ket vurur. Bu nedenle ABA, meyve

içindeki tohumların, meyvedeki neme ve karanlığa bağlı olarak hızlıca ve erkenden çimlenmesini önler; böylece sonbaharda yayılan bir tohumun sert kış koşullarında erkenden çimlenmesine engel olur. Dolayısıyla zamansız tohum çimlenmesini engellemiş olur ve çimlenmenin ilkbaharda oluşmasına böylelikle zemin hazırlar. Absisik asit, bitkilerin kuraklık gibi abiyotik ve değişik biyotik çevresel stres koşullarına karşı direnmesini sağlayan önemli bir sinyaldir [18]. ABA miktarı, tohum olgunlaşması sırasında normalden 100 kata kadar yükselebilir. Böylelikle gelişen tohumlardaki bu yüksek ABA, çimlenmeyi engellediği gibi ayrıca özel proteinlerin sentezini de sağlamaktadır. Söz konusu bu proteinler, olgunlaşma sürecindeki tohumlarda yüksek su kaybına karşı tohumun sağ kalmasını sağlar. ABA, dormansinin tohumlarda devamını da sağlamaktadır. Ayrıca ABA'nın flavonoid/fenol sentezinde ve antioksidan yanıtın düzenlenmesinde önemli işlevleri vardır [19].

Tozlaşmamış karpuz çiçeklerinde, güçlü ABA biyosentezinin, yumurtalığı döllenmeden önce korumalı, hareketsiz bir durumda tuttuğu gözlemlenmiştir [20].

Tohum gelişiminde absisik asit görevlidir. Absisik asit, sporofitten gametofite ve gametofitten sporofite embriyo gelişiminin birçok aşamasında yer alır. Burada, depo ürünlerinin birikimi, desikasyon toleransı, dormansi, çimlenme ve çimlenme sonrası büyümenin durdurulmasında ABA'nın rolü vardır [21].

Bitki hormonu olarak absisik asit (ABA), bitki büyümesi ve gelişiminin birçok yönünde önemli bir rol oynar ve birçok kanıt göstermiştir ki, ABA domates poleni gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Sonuç olarak ABA, anter spesifik genlerin ekspresyonunu düzenleyerek polen olgunlaşmasını etkiler [22]. ABA'nın büyümeyi teşvik etmedeki güçlü noktası olmasa da, aslında ABA, bitki büyümesi ve gelişiminin birçok yönünde olumlu bir rol oynar. Ancak ABA'nın özelliği, büyüme ve gelişme üzerindeki düzenleyici etkisinin büyük ölçüde konsantrasyonu ile yakından ilgili olmasıdır. Bitkilerdeki ABA içeriği, normal büyüme ve gelişme aşamasında çok hassas bir seviyede tutulur. ABA homeostazi bozulduğunda bitkilerin büyüme ve gelişmesi etkilenecektir [22]. ABA kendi sinyali ile polen olgunlaşmasını düzenler. Azalan ABA sinyal seviyeleri, anter spesifik genlerin ekspresyonunu düzenleyen polen transkripsiyon faktörlerinin değişikliklerine neden olabilir; bu da sonuçta bir dizi anormal polen olgunlaşmasının nedenidir. Dolayısıyla bu bilgiler ışığında; bizim bulgularımızda da ABA'nın diğer hormonlardan daha yüksek çıkması oldukça mantıklı görünmektedir.

ABA, bitki büyümesini, uyku halini düzenleyen ve zorluklara yanıt veren önemli bir bitki hormonudur. ABA'nın sadece dişi ve erkek çiçeklerin farklılaşmasına [23] ve tohum embriyosunun gelişimine [24-26] katılmadığı bulunmuştur. Ayrıca ABA, meyvenin gelişimine ve olgunlaşmasına geniş çapta katılır [27-29] ve şeker sinyal iletimi ve asimilatların dağılımında önemli bir rol oynar [30-32]. Aynı şekilde, diğer hormonlar gibi, ABA da bitki üreme gelişiminde rol oynar. ABA, *Brassica napus*'ta mikrospor türevli embriyoların indüksiyonunda yer almıştır [33]. Bu arada ABA'nın domates meyvesinin ovaryum gelişimi ve meyveye dönüşümü üzerindeki etkileri de doğrulanmıştır [34].

SA'nın hem gelişim ve hem de strese cevapta önemli etkisi vardır [35]. SA büyüme ile ilgili metabolizmada, fotosentezde ve stres koşullarına karşı dayanıklılıkta birçok fizyolojik olayda görevlidir. Ayrıca SA, patojen saldırısı durumunda bir sinyal olarak görev yapar ve patojenite ile ilgili proteinlerin (PR proteinleri) sentezini başlatır; böylelikle sistemik dayanıklılığı sağlar. SA önemli bir stres hormonu olup [36] SA aktivitesi ile biyotik strese karşı direnç sağlanır [37].

SA, ayrıca çiçeklerde termojenite ile alakalıdır. *Cycas* erkek organlarında ilk defa tespit edilip sonradan yapılan araştırmalar ile Annonaceae, Araceae, Aristolochiaceae, Cyclanthaceae, Nymphaeaceae ve Palmae familyalarına ait bazı Angiosperm türlerinin çiçekleri ya da çiçek durumlarında da termojenite varlığı tespit edilmiştir [38]. Bizim bulgularımızda da polenlerin erkek gametofit olduğu ve erkek organlarda bulunduğu dikkate alındığında termojenite nedeniyle SA çıkması muhtemel görünmektedir.

SA, ek kök oluşumunda da etkilidir. Uygun konsantrasyonlarda eksojen SA uygulaması, salatalık hipokotillerinde ek kök oluşumunu desteklemiştir. SA, ek kök oluşumu sırasında düzenleyici olarak işlev görür [39]. Bitki büyüme ve gelişiminde SA, konsantrasyonuna ve bitki büyüme koşullarına ve gelişim aşamalarına bağlı olarak farklı rollere sahiptir [40]. Şöyle ki; genel olarak, optimal SA konsantrasyonlarının uygulanması, bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde faydalı etkiler göstermiştir. Bununla birlikte, yüksek SA seviyeleri bitki gelişimini olumsuz olarak etkiler [41].

ROS (Reaktif oksijen türleri, serbest radikaller), metabolizmanın ve bitkilerin biyotik ve abiyotik çevresel uyarılara verdiği yanıtın önemli düzenleyicileridir ve ROS, bitki gelişimi için de önemlidir [42]. SA, ROS birikimini teşvik ederek pirinçte kök meristem aktivitesini korur [43]. SA'nın abiyotik stres altında spikelet dejenerasyonunun düzenlenmesinde de rol oynayabileceği öne sürülmüştür [44]. SA'nın ısı stresi altındaki bitkilere dışarıdan uygulanması, spikelet dejenerasyonunu önemli ölçüde azaltıp ve polen canlılığını arttırmıştır [45-46]. Diğer çalışmalar ayrıca SA'nın polen canlılığını, çiçek fertilesini ve normal dişi çiçeklerin gelişimini düzenlemede önemli roller oynadığını bildirmiştir [47-48]. Özetle, ROS homeostazi ve SA hormonunun spikelet gelişimini ve polen fertilesini etkilediği gösterilmiştir [49].

SA ve onun türevi, MeSA, *Camelia oleifera*'nın polen tüpü büyümesinde rol oynamıştır [50]. Bazı çalışmalar SA'nın tozlaşma ve dölleme ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Yalı armutunun tozlaştırılmış pistilinde, SA miktarı önemli ölçüde artar ve *in vitro* polen çimlenmesini ve polen tüpünün uzamasını teşvik ettiği ve meyve tutumu oranını oldukça arttırdığı bulunmuştur [51]. *Arabidopsis thaliana*'da SA inhibe edici etkilidir. Dolayısıyla muhtemelen farklı bitki türlerinde polen ve polen tüpünün SA'ya farklı tepkisi nedeniyle SA'nın polen çimlenmesini ve polen tüpü büyümesini destekleyebileceği bulunmuştur [50]. Ancak, *A.thaliana*'dan [52] farklı olarak, eksojen SA ve MeSA, daha düşük konsantrasyonlarda *C.oleifera*'nın polen çimlenmesini ve polen tüpünün uzamasını teşvik etmiştir.

JA özellikle mekanik yaralanmalara, böcek otçullarına, abiyotik ve biyotik stres koşullarına, nematodlara, ağır metallere, soğuk stresine, kuraklık stresine, tuz stresine ve UV stresine, mevsimsel ve sirkadiyen ritimlerin neden olduğu değişikliklere karşı savunmada önemli bir hormondur [53-54]. Mekanik yaralanmaya dayalı herbisit istilasında yaralı dokularda JA aktivitesi hızlanır ve savunma için gerekli metabolizma hızı artırılır [55]. Ayrıca Mazen ve Lin [56], tıpkı bizim sonuçlarımız gibi ABA, SA, JA gibi savunma hormonları arasında antagonistik bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. JA, yaprak sararmasına, yaprak, çiçek ve meyvalarda absisyona neden olmakta, köklenmeyi ve yumru oluşumunu sağlamakta, asmalarda tendril oluşumuna katkı sağlamakta ve beta-karoten ve etilen sentezini artırmaktadır. Ayrıca JA, tohum çimlenmesi ve polen çimlenmesini engellemektedir. Domateste yapılan bir çalışmada, dölleme öncesi mikro ve megagametofit gelişiminde yer alan SIMYB21 geninin transkripsiyonu için JA sinyalinin gerekli olduğu gösterilmiştir [57].

Literatür taramalarımıza göre sadece *Petunia hybrida* ve *Lilium* polenlerinde yüksek oranda Giberellik asit ve IAA tespit edilmiştir [58]. Benzer şekilde orkide polenlerinde de yapılan bir çalışmada yüksek IAA varlığına dikkat çekilmiştir [12]. Oysa bizim sonuçlarımızda bu her iki hormon da tespit edilmemiştir. Bunu yerine daha çok büyümeye ket vurucu Absisik asit, strese ve gelişmeye odaklı Salisilik asit ve Jasmonik asit hormonları yüksek oranlarda çıkmıştır. Tahminimize göre burada polen rezervlerinin, çimlenme gerçekleşinceye kadar stabil halde kalmasına ve çimlenmenin tozlaşmaya kadar engellenmesine odaklı bir strateji izlenmektedir. Sonuçlarımız bu yönüyle oldukça dikkat çekici özelliktedir. Ayrıca yukarıda ayrıntılı olarak verilen bilgiler ışığında polen olgunlaşması ve çimlenmeye hazırlık için bu her 3 hormonun da çıkması oldukça muhtemel görünmektedir. İlâveten bulgularımız, hem orkideler hem de polenler açısından hem de bu 3 hormon açısından dikkat çekici olup yenilik arz etmektedir.

Orkide polenleri üzerinde benzer hiçbir bilgiye rastlanılmamıştır. Orkidelerde tozlaşma (polinasyon) ve sonrasındaki polen çimlenmesi, ovul ve embriyo kesesi gelişimi olaylarında hormonal çalışmalar çok sayıda mevcuttur [12,59]; fakat tozlaşmaya hazır olgun polinasyon hormonlarının ne olduğu ve bunların seviyeleri konusunda herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır. Dolayısıyla belirlenen verilerin orkide polinasyon çimlenmesi ve tozlaşma sonrası ovul gelişimi olaylarıyla (= post pollinasyon fenomena) bütünleşmiş olarak incelendiğinde daha açıklayıcı olacağı anlaşılmaktadır. Muhtemeldir ki tozlaşma ve polen çimlenmesi sürecinde de bu hormonlardan bazıları işlev görebilecektir. Sonuç olarak bulgularımız tamamıyla yeni ve özgün nitelikte olup orkidelerde tozlaşma ve sonrası "post polinasyon fenomena" olaylarında karanlıkta kalmış önemli noktaları aydınlatacağı düşünülmektedir. Sonraki çalışmalarımız bu yönde devam edecektir.

#### KAYNAKLAR

- [1] Leake, J. R. (2005). Plants parasitic on fungi: unearthing the fungi in myco-heterotrophs and debunking the 'saprophytic' plant myth. *Mycologist*, 19, 113-122.
- [2] Attri, L. K., Bhanwra R. K. & Nayyar, H. (2020). Pollination induced embryology studies in *Aerides multiflora* (ROXB.). *International Journal of Botanical Studies*, 5(4), 211–215.
- [3] Güler, N. ve Deniz, İ. G. (2012). *Orchidaceae. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. 1.baskı. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Basımı, İstanbul, 630-652.
- [4] Cozzolino, S. and Widmer, A. (2005). Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 487-494.
- [5] Poddubnaya-Arnoldi, V.A. (1964). *General Embryology of the Angiosperms*. Nauka Publishing House, Moscow,253.
- [6] Arditti, J. (1992). *Fundamentals of Orchid Biology*. John Wiley and Sons, New York, 502.
- [7] Clifford,S.C., & Owens, C.J. (1990). The stigma, style and ovarian transmitting tract in teh Oncidiinae (Orchidaceae): Morphology, developmental anatomy and histochemistry. *Botanical Gazette* 151(4), 440-451.
- [8] Ketsa, S., Bunya-Atichart, K. and Van Doorn, W.G. (2001). Ethylene production and post pollination developoment in Dendrobium flowers treated with foreign pollen. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28,5, 409-415.
- [9] Curtis, J. T. (1943). An unusual pollen reaction in 11h/coniopsis. *American Orchid Society Bullten* 11: 258-60.

- [10] Burg, S.P. and Dijkman, M.J. (1967). Ethylene and Auxin Participation in Pollen Induced Fading of Vanda Orchid Blossoms. *Plant Physiology*, 42, 1648-1650.
- [11] Barendse, G.W.M, Rodrigues-Prereira, A.S., Berkers P.A., Driessen F.M., Van Eyden-Emons, A., Linskens H.F. (1970). Growth Hormones in pollen, styles and ovaries of *Petunia hybrida* and of *Lilium* species. *Acta Botanica Neerlandica*, <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1970.tb00639.x>
- [12] Strauss, M.S., Arditti, J. (1984). Postpollination phenomena in orchid flowers.12. Effects of pollination, emasculation, and auxin treatment on flowers of *Cattleya porcia cannizaro* and the rostellum of *Phalaenopsis*. *Botanical Gazette*, 145(1). 43-49.
- [13] Johnson, S.D., Nilsson, L.A. (1999). Pollen carryover, geitonogamy and the evolution of deceptive pollination systems in orchids. *Ecology*, 80,8, 2607-2619.
- [14] Proctor, H.C. (1998). Effect of pollen age on fruit set, fruit weight and seed set in three orchid species. *Canadian Journal of Botany*, 76,3, 420-427.
- [15] Pandolfi, T., Pacini, E. and Calder, D.M. (1993). Ontogenesis of monad pollen in *Pterostylis plumosa* (Orchidaceae, Neottioideae). *Plant Systematic and Evolution*, 186, 175-185.
- [16] Doganlar, Z. B. (2012). Physiological and genetic responses to pesticide mixture treatment of *Veronica beccabunga*. *Water Air & Soil Pollution*, 223, 6201–6212.
- [17] Mehrotra, R., Bhalothia, P., Bansal, P., Basantani, M.K., Bharti, V., Mehrotra, S. (2014). Abscisic acid and abiotic stress tolerance – Different tiers of regulation. *Journal of Plant Physiology*, 171: 486–496.
- [18] Karakurt, H., Aslantaş, R., Eşitken, A. (2010). Tohum Çimlenmesi ve Bitki Büyümesi Üzerinde Etkili Olan Çevresel Faktörler ve Bazı Ön Uygulamalar. *U. Ü. Ziraat fakültesi Dergisi*, 24, 2, 115-128.
- [19] Jia, H.F., Chai, Y.M., Li, C.L., Lu, D., Luo, J.J., Qin, L. et al. (2011). Abscisic Acid Plays an Important Role in the Regulation of Strawberry Fruit Ripening. *Plant Physiology*, 157 (1):188–99.
- [20] Hu, Z., Lan, S., Zhao, N., Su, N., Xue, Q., Liu, J., Deng, Q., Yang, J. And Zhang, M. (2019). Soft-X-irradiated pollens induce parthenocarpy in watermelon via rapid changes of hormone-signalings and hormonal regulation. *Scientia Horticulturae*, 250, 317–328.
- [21] Chen, K., Guo - Jun, Li, Bressan, R. A., Chun - Peng, S., Jian - Kang, Z. and Yang, Z. (2020). Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62, 1, 25–54.
- [22] Wang, X., Na, X., Dong, K., Li, H., Shi, S., Liu, Z., Cao, X., Cui, X., Dai, S. (2021). SINCED1 affects pollen maturation in tomato by regulating the expression of anther-specific genes. *Plant Growth Regulation*, 95:191–205.
- [23] Xiao, H.S., Lv, L.X., Chen, Z.T. (2003) Dynamic changes of endogenous hormone in litchi (*Litchi chinensis* sonn.) pistil and stamen during flower development. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 9:279–283
- [24] Cheng, Z.J., Zhao, X.Y., Shao, X.X., Wang, F., Zhou, C., Liu, Y.G., Zhang, Y., Zhang, X.S. (2014). Abscisic acid regulates early seed development in *Arabidopsis* by ABI5-mediated transcription of Short Hypocotyl Under Blue1. *Plant Cell*, 26:1053–1068
- [25] Finkelstein, R.R., Gampala, S.S., Rock, C.D. (2002). Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* 14:15–45
- [26] Kanno, Y., Jikumaru, Y., Hanada, A., Nambara, E., Abrams, S.R., Kamiya, Y., Seo, M. (2010). Comprehensive hormone profiling in developing *Arabidopsis* seeds: examination of the site of abscisic acid biosynthesis, abscisic acid transport and hormone interactions. *Plant Cell Physiology*, 51:1988–2001
- [27] Sun, L., Yuan, B., Zhang, M., Wang, L., Cui, M., Wang, Q., Leng, P. (2012). Fruit-specific RNAi-mediated suppression of SINCED1 increases both lycopene and  $\beta$ -carotene contents in tomato fruit. *Journal of Experimental Botany*, 63:3097–3108
- [28] Wang, X., Yin, W., Wu, J., Chai, L.J., Yi, H.L. (2016). Effects of exogenous abscisic acid on the expression of citrus fruit ripening-related genes and fruit ripening. *Scientia Horticulturae*, 201:175–183
- [29] Zhang, Y.S., Li, Q., Jiang, L., Kai, W.B., Liang, B., Wang, J., Du, Y.W., Zhai, X.W., Wang, J.L., Zhang, Y.Q., Sun, Y.F., Zhang, L.S., Leng, P. (2018). Suppressing type 2 protein phosphatases alters fruit ripening and the stress response in tomato. *Plant Cell Physiology*, 59:142–154
- [30] Jia HF, Xie ZQ, Wang C, Shangguan LF, Qian N, Cui MJ, Liu ZJ, Zheng T, Wang MQ, Fang JG (2017) Abscisic acid, sucrose, and auxin coordinately regulate berry ripening process of the Fujiminori grape. *Funct Integr Genomics* 17:441–457
- [31] Oh, H.D., Yu, D.J., Chung, S.W., Chea, S., Lee, H.J. (2017). Abscisic acid stimulates anthocyanin accumulation in 'Jersey' highbush blueberry fruits during ripening. *Food Chemistry*, 244:403–407
- [32] Villalobos-González, L., Peña-Neira, A., Ibáñez, F., Pastenes, C. (2016). Long-term effects of abscisic acid (ABA) on the grape berry phenylpropanoid pathway: gene expression and metabolite content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105:213–223
- [33] Zou, J., Abrams, G.D., Barton, D.L., Taylor, D.C., Pomeroy, M.K., Abramset, S.R. (1995). Induction of lipid and oleosin biosynthesis by (+)-Abscisic Acid and its metabolites in microspore-derived embryos of *Brassica*

- napus L.cv reston (Biological responses in the presence of 8'-Hydroxyabscisic Acid). *Plant Physiology*, 108:563–571
- [34] Kai, W., Fu, Y., Wang, J., Liang, B., Li, Q., Leng, P. (2019). Functional analysis of SINCED1 in pistil development and fruit set in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Scientific Reports*, 9:16943–16955
- [35] Xia XJ, Yan-Hong Z, Kai S, Zhou J, Foyer CH, Jing-Quan Y (2015) Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *J Exp Bot* 66:2839–2856. doi:10.1093/jxb/erv089
- [36] Xiao-Jian, X., Yan-Hong, Zhou, K., Shi, J., Zhou, C.H., Foyer and Jing-Quan, Yu. (2015). Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 66(10): 2839–2856.
- [37] Kang G, G Li, T Guo. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants. *Acta Physiol Plant*. 2014; 36: 2287–2297. doi:10.1007/s11738-014-1603-z.
- [38] [Oçkun, M.A. (2013). *Bağcılıkta Metil Jasmonat (MeJA), Jasmonik Asit (JA) ve Salisilik Asitin (SA) Aşıda Kallun Oluşumu Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- [39] Bellini, C., Pacurar, D.I., Perrone, I. (2014). Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annual Review of Plant Biology*, 65:639–666.
- [40] Koo, Y.M., Heo, A.Y., Choi, H.W. (2020). Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator. *Plant Pathology Journal*, 36:1–10.
- [41] Chun-Juan, D., Xin-Yan, L., Lu-Lu, X., Ling-Ling, W., Qing-Mao, S. (2020). Salicylic acid regulates adventitious root formation via competitive inhibition of the auxin conjugation enzyme CsGH3.5 in cucumber hypocotyls. *Planta*, 252:75.
- [42] Waszczak, C., Carmody, M., and Kangasjarvi, J. (2018). Reactive oxygen species in plant signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 209–236.
- [43] Xu, L., Zhao, H. Y., Ruan, W. Y., Deng, M. J., Wang, F., Peng, J. R., et al. (2017). Abnormal inflorescence meristem functions in salicylic acid biosynthesis to maintain proper reactive oxygen species levels for root meristem activity in rice. *Plant Cell* 29, 560–574.
- [44] Wang, Z. Q., Zhang, W. Y., and Yang, J. C. (2018). Physiological mechanism underlying spikelet degeneration in rice. *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 1475–1481.
- [45] Zhang, C. X., Feng, B. H., Chen, T. T., Zhang, X. F., Tao, L. X., and Fu, G. F. (2017). Sugars, antioxidant enzymes and IAA mediate salicylic acid to prevent rice spikelet degeneration caused by heat stress. *Plant Growth Regulation*, 83, 313–323.
- [46] Zhao, Q., Zhou, L. J., Liu, J. C., Cao, Z. Z., Du, X. X., Huang, F. D., et al. (2018). Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility. *Plant Cell Reports*, 37, 741–757.
- [47] Østergaard, L., Petersen, M., Mattsson, O., and Mundy, J. (2002). An Arabidopsis callose synthase. *Plant Molecular Biology*, 49, 559–566.
- [48] Liu, M. L., Li, W. Y., Zhao, G., Fan, X. M., Long, H. X., Fan, Y. R., et al. (2019). New insights of salicylic acid into stamen abortion of female flowers in tung tree (*Vernicia fordii*). *Frontiers in Genetics*, 10:316.
- [49] Zhou, D., Shen, W., Cui, Y., Liu, Y., Zheng, X., Li, Y., Wu, M., Fang, S., Liu, C., Tang, M., Yi, Y., Zhao, M. and Chen, L. (2021). APICAL SPIKELET ABORTION (ASA) Controls Apical Panicle Development in Rice by Regulating Salicylic Acid Biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 12:636877.
- [50] Lu, M., Junqin, Z., Yiyao, L., Jin, Y., Xiaofeng, T. (2021). CoNPR1 and CoNPR3.1 are involved in SA- and MeSAMediated growth of the pollen tube in *Camellia oleifera*. *Physiologia Plantarum*, 172:2181–2190.
- [51] Zhao, S., Zhang, Y. & Zhao, Y. (2012). Effect of salicylic acid on pollen germinating and pollen tube growth of pear. *Hubei Agricultural Science*, 51, 1366–1369.
- [52] Rong, D., Luo, N., Mollet, J.C., Liu, X. & Yang, Z. (2016). Salicylic acid regulates pollen tip growth through an NPR3/NPR4-independent pathway. *Molecular Plant*, 9, 1478–1491.
- [53] Wasternack, C. (2014). Action of jasmonates in plant stress responses and development—applied aspects. *Biotechnology Advances*, 32:31–39
- [54] Zhao, S., Ma, Q., Xu, X., Li, G., Hao, L. (2016). Tomato jasmonic aciddeficient mutant spr2 seedling response to cadmium stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3):603–610
- [55] Heil, M., Ibarra-Laclette, E., Adame-Alvarez, R.M., Martinez, O., Ramirez-Chavez, E., Molina-Torres, J. et al. (2012). How plants sense wounds: damaged-self recognition is based on plantderived elicitors and induces octadecanoid signaling. *PLoS One*, 7:e30537.
- [56] Mazen, A. and Na-Sheng, L. (2015). Roles of plant hormones in the regulation of host–virus interactions. *Molecular Plant Pathology*, 16(5): 529–540.
- [57] Niwa, T., Suzuki, T., Takebayashi, Y., Ishiguro, R., Higashiyama, T., Sakakibara, H. and Ishiguro, S. (2018). Jasmonic acid facilitates flower opening and floral organ development through the upregulated expression of SIMYB21 transcription factor in tomato. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82, 292–303.

- [58] Barendse, G.W.M, Rodrigues Prereira, A.S., Berkers, P.A., Driessen, F.M., Van Eyden-Emons, A., Linskens, H.F. (1970). Growth Hormones in pollen , styles and ovaries of *Petunia hybrida* and of *Lilium* species. *Acta Botanica Neerlandica*. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1970.tb00639.x>
- [59] Gandawidjaja, D. and Arditti, J. (1982). Post-Pollination Phenomena in Orchid Flowers. XI. Autogamy in *Phajus tankervilleae* (Aiton) Bl, Orchidaceae. *American Journal of Botany*, 69, 3, 335-338.