



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



In vitro KOŞULLARDA SİYAH VE BEYAZ
NOHUT (*Cicer arietinum* L.) GENOTİPLERİNDE
TUZ STRESİNİN ÇİMLENME VE BÜYÜME
ÜZERİNE ETKİLERİ

Fatma AKIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Ağustos-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Fatma AKIN tarafından hazırlanan “*In vitro* Koşullarda Siyah Ve Beyaz Nohut (*Cicer arietinum* L.) Genotiplerinde Tuz Stresinin Çimlenme Ve Büyüme Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması 06/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç. Dr. Sibel DAY

Danışman

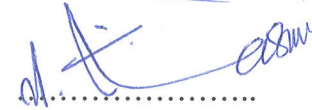
Doç. Dr. Muhammad ASIM

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ali Tevfik UNCU

İmza


.....


.....


.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ahmet AVCI
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.



Fatma AKIN

06/08/2018

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ *In vitro* KOŞULLARDA SİYAH VE BEYAZ NOHUT (*Cicer arietinum* L.) GENOTİPLERİNDE TUZ STRESİNİN ÇİMLENME ve BÜYÜME ÜZERİNE ETKİLERİ

Fatma AKIN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Muhammad ASIM

2018, 47 Sayfa

Jüri

Danışman: Doç. Dr. Muhammad ASIM

Doç. Dr. Sibel DAY

Dr. Öğr. Üyesi Ali Tefik UNCU

Nohut bitkisi (*Cicer arietinum* L) yüksek protein içeriği yönünden insan beslenmesinde önemli bir baklagil olarak değerlendirilmektedir. Bu tez çalışması, *in vitro* ortamda farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarında (Kontrol, 6.5, 12.5, 25, 50, 75, 100, 150 ve 200 mM) iki farklı nohut genotipinin (desi tipi siyah nohut ve kabulü tipi beyaz nohut çeşidi Er-99) yetiştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca farklı LED ışıkları (beyaz, mavi ve kırmızı) ve farklı sürelerde (0, 1, 2 ve 4 saat) hidroprimingün siyah nohut bitkisi üzerindeki etkisi *in vitro* ortamda çimlenme ve büyüme parametreleri açısından incelenmiştir. Siyah nohut, beyaz nohut çeşidi Er-99'a göre tuz stresi karşısında daha iyi bir tolerans göstermiştir. Er-99, 50 mM'dan sonra sürgün çıkışı göstermezken, 75 mM'dan sonra kök çıkışı da gözlenmemiştir. Siyah nohut bitkisi 200 mM NaCl uygulaması karşısında herhangi bir canlılık belirtisi göstermezken, 50 mM tuz uygulamasından sonra tuz stresi bitki çimlenmesini ve gelişimini olumsuz etkilemeye başlamıştır. Tuz stresine karşı daha yüksek bir tolerans sergilemiş olan siyah nohut bitkisi, sera veya tarla gibi daha geniş ölçekte gerçekleştirilebilecek çalışmalar ile nohut bitkisinde tuz stresine olan toleransı artırmaya yönelik olarak ışık tutabileceği düşünülmektedir. Element analizi sonucu, siyah nohut bitkisinin hem kök hem de gövdesinde tuz uygulamalarında Na ve Cl içerikleri daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, siyah nohut bitkisi, tuz stresine tolerant nohut bitkilerin geliştirilmesini hedefleyen ıslah çalışmalarına dahil edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Beyaz nohut, *Cicer arietinum*, hidropriming, *in vitro* ortam, LED ışıkları, siyah nohut, tuz stresi.

ABSTRACT

MS THESIS

EFFECTS OF SALT STRESS ON GERMINATION AND GROWTH OF BLACK AND WHITE CHICKPEA (*Cicer arietinum* L.) GENOTYPES UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

Fatma AKIN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Muhammad ASIM

2018, 47 Pages

Jury

Advisor Assoc. Prof. Dr. Muhammad ASIM

Assoc. Prof. Dr. Sibel DAY

Asst. Prof. Dr. Ali Tevfik UNCU

Chickpea (*Cicer arietinum* L) is considered as an important pulse plant for human diet due to high protein content. This thesis study was conducted by growing two different chickpea genotypes (desi black chickpea and kabuli white chickpea variety-Er-99) under *in vitro* conditions with different NaCl concentrations (Control, 6.5, 12.5, 25, 50, 75, 100, 150 and 200 mM). In addition, the effect of different LED lights (white, blue, red) and various hydropriming durations (0, 1, 2 and 4 hours) were also examined on the germination and growth of black chickpea in terms of basic growth parameters. The black chickpea showed better tolerance to salt stress compared to white chickpea, Er-99. While shoot emergence of Er-99 was not recorded after 50 mM, roots of Er-99 failed to emerge at concentration of 75 mM. Black chickpea did not exhibit any signs of viability against NaCl application at 200 mM. Salt stress started to affect adversely on plant germination and development after 50 mM salt treatment. Black chickpea plant showed higher tolerance than white chickpea to salt stress and it is recommended that research must be carried out on larger scale such as greenhouse or field in order to improve tolerance of chickpea plants to salt stress. In terms of element analysis, Na and Cl content is higher in both shoot and root of black chickpea in salinity treatment. Moreover, this plant can be included to breeding studies, with target to develop salt tolerant plant.

Keywords: White chickpea, *Cicer arietinum*, hydropriming, *in vitro* conditions, LED lights, black chickpea, salt stress

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması lisansüstü eğitim hayatımda bitirmiş olduğum ikinci tez çalışmasını teşkil etmektedir. Her bir tez çalışması kendi içinde pek çok zorluk içermektedir. Bunu özellikle belirtmek isterim, elbette daha önce bir tez çalışmış olmanın faydasını gördüm lakin tez çalışmamın başında bunu kolayca halledebileceğimi düşünmüştüm. Her bir zorluğun içinde öğrenilecek ve ders çıkarılacak pek çok şeyle insan karşılaşılıyor ve yolun başındayken bunların hiç biri tahmin edilemiyor.

Kimsenin inkâr edemeyeceği ikinci bir gerçek ise bir tez çalışması kesinlikle tek başına bitirilmiyor. Bu noktada bana desteği olan kişilerden başta yüksek lisans tez danışman hocam Doç. Dr. Muhammad ASİM'a tez çalışmam sürecinde her türlü yardım ve desteği esirgemediği için teşekkür ederim. Tez deneylerini yürüttüğüm laboratuvarı ortak kullandığımız Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü değerli öğretim üyelerine anlayışları ve destekleri için çok teşekkür ederim. Özellikle MBG bölümü değerli öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Emine Nedime KORUCU ve Dr. Öğr. Üyesi Aslı DAĞERİ hocalarıma yardımları ve destekleri için çok teşekkür ederim.

Değerli tez jüri üyelerim Doç. Dr. Sibel DAY ve Dr. Öğr. Üyesi Ali Tefvik UNCU hocalarıma katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Değerli araştırma görevlisi arkadaşlarım Canan SEVİNÇ, Dr. Ayşe Suna NALÇACI BALKANİYİ, ve Şeyma BAKIRCI'ya yardımları ve destekleri için teşekkür ederim. Tez çalışmam süresinde bana yardımcı olan lisans öğrencisi arkadaşlar Özge, Beyza, Betül, Büşra, Çağla ve Ayşegül'e teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi araştırma görevlilerinden Mehmet Burak TAŞKIN ve Sevba ÇOLAK hocalarıma laboratuvarlarının kapılarını açıp element analizinde yardım ettikleri için teşekkür ederim.

Son olarak, maddi manevi her konuda desteğini esirgemeyen ve yanımda olan canım aileme varlıkları için teşekkür ederim.

Fatma AKIN
KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT..... | v |
| ÖNSÖZ | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | ix |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI | 3 |
| 2.1. Nohut | 3 |
| 2.2. Toprakta Tuzluluk Problemi | 7 |
| 2.3. Bitkilerde Tuz Stresi ve Tolerans Mekanizmaları | 9 |
| 2.4. Priming Uygulamaları (Önçimlendirme)..... | 10 |
| 2.5. LED Işık Uygulamaları..... | 12 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 13 |
| 3.1. Bitki Materyali, Büyüme Ortamı ve Koşulları | 13 |
| 3.2. Yüze Sterilizasyonu | 14 |
| 3.3. Farklı Priming ve Işık Uygulamaları | 14 |
| 3.4. Tuz Stresi Uygulamaları | 14 |
| 3.5. <i>In vitro</i> Çimlenme Çalışmaları | 15 |
| 3.6. Temel Büyüme Parametreleri | 15 |
| 3.7. Element Analizi (Na, K ve Cl)..... | 15 |
| 3.8. Prolin Analizi | 16 |
| 3.8. İstatistik Analizi | 16 |
| 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA..... | 17 |
| 4.1. <i>In vitro</i> Koşullarda LED Işık ve Hidropriming Denemesi | 17 |
| 4.2. <i>In vitro</i> Koşullarda Tuz (NaCl) Uygulaması | 24 |
| 4.2.1. <i>In vitro</i> koşullarda NaCl uygulamasının siyah nohutta çimlenmeye etkisi .. | 24 |
| 4.2.2. <i>In vitro</i> koşullarda NaCl uygulamasının beyaz nohutta çimlenmeye etkisi . | 26 |
| 4.2.3. <i>In vitro</i> koşullarda NaCl uygulamasının siyah nohutun büyümesine etkisi . | 28 |
| 4.2.4. <i>In vitro</i> koşullarda NaCl uygulanmış siyah nohutta element analizi (Na, K ve Cl) | 32 |
| 4.2.5. <i>In vitro</i> koşullarda NaCl uygulanmış siyah nohutun tuz tolerans yüzdesi ... | 34 |
| 4.2.6. <i>In vitro</i> koşullarda NaCl uygulanmış siyah nohutta prolin konsantrasyonun ölçülmesi | 35 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... | 36 |
| KAYNAKLAR | 38 |

| | |
|-----------------------|-----------|
| EKLER | 43 |
| ÖZGEÇMİŞ | 46 |



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Ca⁺²: Kalsiyum

Cl⁻: Klor iyonu

CO₃⁻²: Karbonat iyonu

Cu: Bakır

Fe: Demir

HCl: Hidroklorik asit

HCO₃⁻¹: Bikarbonat iyonu

Mg⁺²: Magnezyum

Na⁺¹: Sodyum

NaCl: Sodyum Klorür

NaOCl: Sodyum hipoklorit

NaOH: Sodyum Hidroksit

NO₃⁻¹: Nitrat iyonu

SO₄⁻²: Sülfat iyonu

Zn: Çinko

Kısaltmalar

cm: Santi metre

dS/m: desi Siemens/metre

EC: Elektriksel İletkenlik

FAO: Food and Agricultural Organisation (Gıda ve Tarım Örgütü)

ha: hektar

mg/l: miligram /litre

mM: mili Molar

S. D: Serbestlik Derecesi

TAEK: Türkiye Atom Enerjisi Kurumu

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu

µS/cm: mikro Siemens/santimetre

1. GİRİŞ

Doğada, bitkilerin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkileyen çok sayıda abiyotik ve biyotik faktör bulunmaktadır. Böcek saldırıları, patojenler biyotik stres faktörü grubunda sınıflandırılırken; kuraklık, tuz stresi, soğuk ve sıcak stresi, toprakta bulunan besin elementlerinin noksanlığı veya toksisitesi ise abiyotik stres faktörü olarak sınıflandırılmaktadır. Doğa ve insan kaynaklı pek çok faktör tarım arazilerinde tuzluluğun artmasına neden olmaktadır. Bitkisel gıda kaynaklarının üretiminde kayba neden olan sorunlardan biri de tarım arazilerde artan tuzluluk problemi. Topraklarda artan tuzluluktan kaynaklı ortaya çıkan verim kaybı, gün geçtikçe büyümekte olan dünya nüfusunu besleme noktasında çözülmesi gereken önemli problemlerden biridir.

1950 yılında 2,5 milyar olan dünya nüfusu, 1970 yılında 3,7 milyara ve 2010 yılında ise 6,9 milyara ulaşmıştır. FAO'nun (Food and Agricultural Organization) 2050 yılı için öngörüsü ise dünya nüfusunun 9,2 milyara ulaşacak olmasıdır (Alexandratos ve Bruinsma, 2012). Gıda üretiminde artan yeniliklere ve gelişen teknolojiye rağmen dünyada hâlâ açlıkla mücadele eden 795 milyon insan bulunmaktadır (Anonymous, 2015). Nüfus artışına paralel olarak insanların temel gıda ihtiyaçlarının yeterli düzeyde karşılanabilmesi için tarımsal ve hayvansal üretim miktarının artışına ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlara ek olarak, diyetlerinde yeterli miktarda demir (Fe), çinko (Zn) ve vitamin A bulunmayan gıda maddeleri ile beslenen veya beslenmek zorunda olan insanlarda ortaya çıkan "gizli açlık" sorunu dünyada çözülmesi gereken problemler listesinde ilk sıralarda yer almaktadır (HarvestPlus, 2017). Özellikle vejetaryenlerin diyetlerinde zengin protein içeriğinden (kuru tanede yaklaşık %30'a varan) ve düşük glisemik indeksinden dolayı nohut bitkisi önemli bir bitkisel gıda kaynağıdır (Knights ve ark., 2007). Ayrıca zengin beta-karoten içeriği ile bilinen altın pirinçle kıyaslandığında daha fazla beta-karoten içermektedir (Jukanti ve ark., 2012).

Nohut, yüksek protein içeriğinden dolayı, diyetlerde hayvansal kaynaklara alternatif bir bitkisel protein kaynağı olarak çıkan baklagiller buğday, pirinç gibi önemli kültür bitkilerine kıyasla besin içeriği bakımından da bir üstünlüğe sahiptirler. Esansiyel aminoasitler bakımından hayvansal proteinlere yakın değerler göstermektedir. Nohut bitkisi tanede bulunan hem vitaminler hem de Fe (demir), Zn (çinko), Cu (bakır) gibi mineraller açısından zengindir. Ayrıca diğer baklagil bitkilerine kıyasla nohut bitkisinin daha az su isteği bulunmaktadır, yani kuraklığa daha fazla dayanıklıdır. Bezelye, bakla ve fasulye gibi bitkilerin su istekleri ise daha fazladır (Gülümser, 2016).

Tuz stresi küresel olarak ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır. İklim değişikliğinin olumsuz etkilerinin daha fazla hissedilmeye başlaması ile özellikle kurak veya yarı kurak iklimin hâkim olduğu bölgelerde gerekli önlemler alınmazsa kuraklık ve tuzluluk problemlerinin ana bitkisel gıda kaynaklarının üretimini olumsuz yönde etkileyeceği beklenmektedir. İklim değişikliğinin kaçınılmaz sonuçlarından biri de pek çok türün yok edilme tehdidi altında olması veya tamamen yok olmasıdır (Abdallah ve ark., 2014). Bu açıdan gen havuzunda tuz stresine tolerans gösterebilen genotiplerin bitkilerin muhafaza edilmesi, bu bitkilerin ıslah programlarına dâhil edilmesi ve sayılarının artırılması gıda krizini önleme noktasında büyük önem taşımaktadır. Buğday, arpa gibi önemli bitkilerin ilk kültüre alındığı topraklar olan Bereketli Hilal bölgesi nohut bitkisinin de ilk kültüre alındığı bölgedir ve nohut bitkisi buradan alınıp diğer bölgelere yayılmıştır (Roorkiwal ve ark., 2014). Suriye’de önemli tohum bankalarından biri olan ve özellikle Bereketli Hilal bölgesine ait olan buğdaygiller, baklagiller familyasından bitki tohumlarının muhafaza edildiği ICARDA’da (Uluslararası Kurak Alanlarda Tarımsal Araştırma Merkezi) bulunan koleksiyonun yaklaşık %80’i artan savaş ve terör olaylarından dolayı Norveç’te bulunan Svalbard Tohum Deposu’na yollanmıştır (ICARDA, 2018).

Tuz stresi, çimlenmeyi olumsuz etkilemekte ve çimlenmenin gerçekleşmesine ket vurabilmektedir. Çimlenme bitkilerin yaşam döngüsünü başlatan hayati bir adım olduğu için, bu aşamada bitkilerin farklı streslere karşı oluşturduğu yanıtlar, tolerans düzeyleri hakkında ön bilgi vermeye yardımcı olmaktadır (Atici ve ark., 2005). Bitkilerde tolerans mekanizmasını anlamak özellikle yeni hatların geliştirilebilmesi için bitki ıslahçılarında yol gösterebilmektedir.

Bu tez çalışmasında Desi tipi (siyah) nohut çeşidinin tuz stresine karşı oluşturduğu cevabı temel büyüme parametreleri, çimlenme ve element analizleri ile ortaya konmuştur.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nohut

Nohut (*Cicer arietinum* L.), baklagiller (Fabaceae) familyası *Cicer* cinsine ait olan bir baklagil türüdür. Yaklaşık 10.000 yıl önce arpa, buğday, çavdar, mercimek, bezelye, fiğ ile birlikte nohut bitkisi Bereketli Hilal bölgesinde ilk kez kültüre alınmıştır (Redden ve Berger, 2007). *Cicer* cinsi, *C. arietinum* L. gibi tek yıllık ve bazı çok yıllık türlerden oluşmaktadır. Eski dünyada kültüre alınan ilk nohut bitkisi ise *Cicer arietinum* L.'dir (Tanno ve Willcox, 2006). Bitki otsu bir çalı görünümüne sahip olmasına rağmen, gerçek bir çalı haline dönüşmez (Saxena ve Singh, 1987). Kültür nohudu olan *Cicer arietinum* L. diploid ($2n=16$) bir baklagil bitkisidir (Sethy ve ark., 2006).

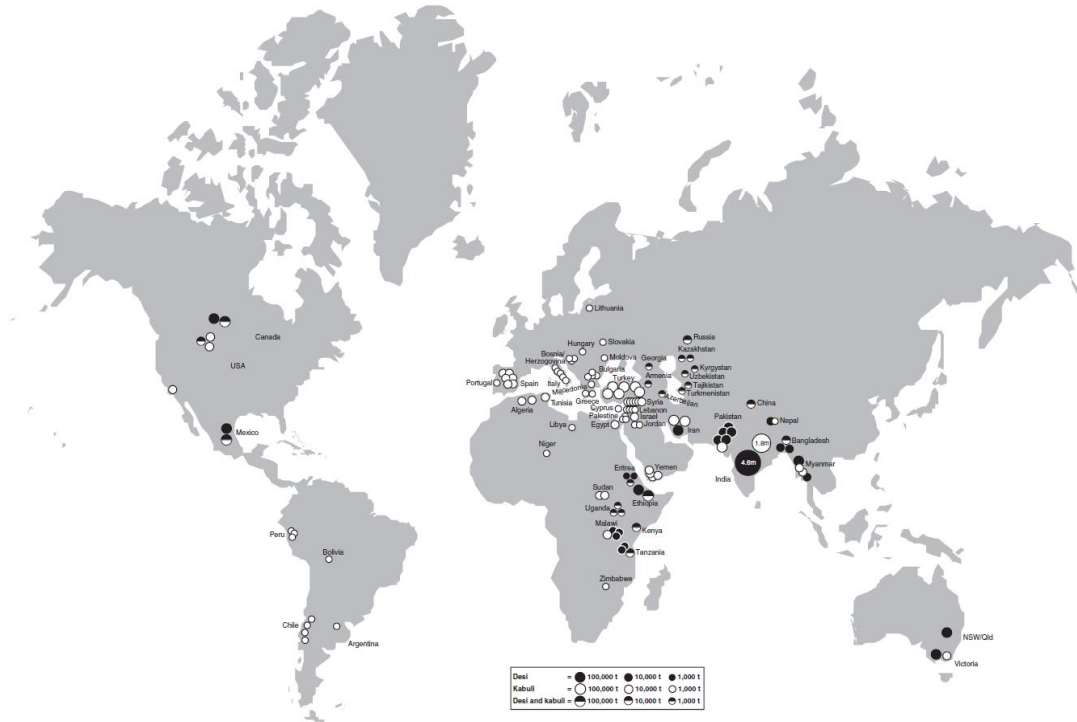
van der Maesen (1972)'in yapmış olduğu sınıflandırmaya göre *Cicer* cins kapsamındaki bitkiler tek veya çok yıllıktır. Morfolojik karakterizasyona göre ise *Cicer* cinsi kapsamında 39 tür olduğu belirtilmiştir. Daha sonra gerçekleştirilen revizyon çalışmaları sonucunda *Cicer* cinsinin 9'u tek yıllık, 35'i ise çok yıllık olmak üzere 44 türden oluştuğu belirtilmiştir (van der Maesen ve ark., 2007). *Cicer* cinsine ait türlerden on tanesi Türkiye'de bulunmakta ve beşi endemik karakterdedir (Öztürk, 2011).

van der Maesen, *Cicer* cinsi kapsamındaki bitkileri 2 alt cins, 4 bölüm ve 14 alt bölüme ayırmıştır. Geleneksel sınıflandırmaya göre *Cicer* cinsi Peunonosis ve Viciastrum olmak üzere iki alt cinsten, morfolojik özellikleri ve coğrafi dağılımlarına göre ise Monocicer, Chamacicer, Polycicer ve Acanthocicer olmak üzere 4 ayrı bölümden oluşmaktadır. Monocicer sekiz adet tek yıllık türden, Chamacicer ise bir tek yıllık ve birçok yıllık türden, son iki bölüm ise geriye kalan çok yıllık türlerden oluşmaktadır (van der Maesen, 1972; Saraçoğlu, 2007).

Genetik markörler yardımı ile gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda nohudun ana vatanı olan Bereketli Hilal bölgesinin nohut gen kaynakları açısından en zengin bölge olduğu gösterilmiştir (Roorkiwal ve ark., 2014). *Cicer* taksonlarının Türkiye'de yoğunlaştığı bölgeler Güneydoğu Anadolu, Akdeniz, Doğu Anadolu ve Ege bölgeleridir. Türkiye florasında yayılış gösteren türler *C. arietinum*, *C. reticulatum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. bijugum*, *C. incisum*, *C. montbretii*, *C. floribundum*, *C. isauricum*, *C. heterophyllum*, *C. uluderensis* ve *C. anatolicum* 'dur (van der Maesen, 1972; Öztürk, 2011).

Coğrafik dağılım ve tohum rengine göre kabuli ve desi olmak üzere iki tip nohut çeşidi bulunmaktadır. Hintçede, lokal-yerel anlamına gelen Desi tipi nohut çeşitlerinin boyları genel olarak kısa (15-60 cm) ve yaprakları küçüktür. Desi tipinde olan nohut çeşitlerinin çiçekleri ya mavi ya da mor renktedir. Desi tipindeki nohutların tanelerinin kabukları Kabuli tipi nohut çeşitlerine göre daha kalındır. Tane renkleri ise sarı, kahverengi, siyah veya yeşilimsi olmak üzere daha geniş bir yelpaze gösterir Desi tipi nohut çeşitleri soğuğa karşı daha çok dayanıklıdır (Babaoğlu, 2004).

Kabuli tipi nohut üretimi, 1980’li yılların başında toplam nohut üretiminin yaklaşık %15’ine tekabül ederken, bu oran Kabuli tipte nohut üretiminin artması ile değişmiştir. Dünyada nohut üretiminin yaklaşık %70’i Desi tipi nohut çeşitlerinden yapılmaktadır. Türkiye’de ağırlıklı olarak Kabuli tipte nohut üretimi yapılmaktadır (Knights ve ark., 2007). Kabuli tipteki nohut çeşitleri Desi tipindekilere göre daha uzun boyludurlar (yaklaşık 1 m’ye kadar uzayabilirler). Desi tipinin aksine antosiyanin oluşumu gözlenmez ve çiçek rengi beyazdır. Tane rengi beyaz veya açık krem renkte olan Kabuli tipi nohutların tane iriliği daha büyüktür. Ayrıca soğuğa dayanıklı değildir. Desi tipi nohut çeşitleri Türkiye’de özellikle Doğu, Güneydoğu ve Orta Anadolu bölgelerinin tarımsal desenine uyum sağlamayı başarmıştır. (Babaoğlu, 2004). Dünyada, Kabuli ve Desi tipi nohut üretim deseni Şekil 2.1.’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Dünyada Kabuli ve Desi tipi nohut üretim deseni. Knights ve ark. (2007)’dan alınmıştır.

Türkiye’de nohut tüketimi çoğunlukla Kabuli tipinden yapılmaktadır. Yemeklerde kullanımının yanı sıra, *leblebi* adı verilen kuruyemiş olarak da tüketilmektedir (Knights ve ark., 2007). Türkiye’de özellikle pek çok ilde bahar aylarının gelmesi ile kabuğundan çıkartılarak taze yeşil nohut olarak da tüketilmektedir.

Tarımı yapılan baklagillerde, 2016 yılında tüm dünyada en fazla üretimi yapılmış beş baklagil sırası ile kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), bezelye (*Pisum sativum* L.), nohut (*Cicer arietinum* L.), kuru börülce (*Vigna unguiculata*) ve mercimektir (*Lens culinaris*). Üretim alanı açısından sıralama yapıldığında ise sırasıyla kuru fasulye, nohut, kuru börülce, bezelye ve mercimektir. Baklagiller arasında kuraklığa dayanıklılığı ile bilinen nohut bitkisinin elliden fazla ülkede üretimi yapılmaktadır. 2016 yılında dünya genelinde yaklaşık 13 milyon ha alanda, yaklaşık 12 milyon ton nohut üretimi gerçekleşmiştir. 2016 yılında nohut üretiminin en fazla yapıldığı ülkeler sırasıyla Hindistan, Avustralya, Myanmar, Pakistan ve Türkiye’dir ve ekim alanlarına göre ise Türkiye’nin yedinci sırada olduğu listede ilk 5 ülke Hindistan, Pakistan, Avustralya, İran ve Myanmar’dır (Anonymous, 2018).

Türkiye’de tane baklagil üretiminin yarısını nohut bitkisi ile karşılanmaktadır. Kırmızı mercimek ve kuru fasulye birinci sırada olan nohudu takip etmektedir. 2017 yılı için Türkiye’de üretim değerleri sırası ile nohut (470 bin ton), kırmızı mercimek (239 bin ton) ve kuru fasulye (400 bin ton) şeklindedir (Anonim, 2018).

Tanesinde diğer tahıl gruplarına nispeten daha fazla protein içeren tane baklagillerin rizosfer bölgesinde *Rhizobium leguminosarum* gibi bakteri türleri arasında gerçekleşen simbiyotik ilişkiden dolayı büyük önem taşımaktadırlar. Biyolojik azot fiksasyonun neredeyse yarısı baklagiller ailesindeki bitkiler ve *Rhizobium* bakteri türleri arasındaki simbiyotik ilişki sayesinde gerçekleşmektedir (Kantar ve ark., 2003). Biyolojik azot fiksasyonun etkin bir şekilde kullanımı azot gübrelerinin kullanımını azaltarak hem ekonomik olarak üreticiye hem ekolojik olarak tarım topraklarına katkı sağlamaktadır. Yıllık üretimi dünyada tahılların yıllık üretiminin yaklaşık otuz beşte birine tekabül eden baklagiller özellikle ekim nöbetinde en çok tercih edilen bitki gruplarından (Meyveci ve ark., 2005; Anonymous, 2018).

Farklı oranlarda tuz stresine maruz kalan nohut bitkilerinde genotip veya çeşit farklılığına bağlı olarak farklı tolerans motifleri ortaya çıkartılmıştır. Bazı nohut çeşitlerinin 8 dS/m tuz uygulaması sonucunda bitkilerin tamamen öldüğü, bazı nohut çeşitlerinin ise 50 mM tuz uygulaması sonucunda ise nohutta çimlenme oranının %85

oranında düştüğü belirtilmiştir (Elsheikh ve Wood, 1990; Larher ve ark., 1991; Aldemir, 2014).

Özcan ve ark. (2000), Türkiye’de tescil edilmiş olan nohut çeşitleri (Canitez-87, ILC-195/2 ve Damla) farklı düzeylerde tuz (NaCl) stresine maruz bırakıldıklarında toprak üstü aksamalarında prolin, Na^{+1} , Cl^{-1} , P ve K^{+1} konsantrasyonlarının değiştiğini belirtmişlerdir. Saksı denemesi şeklinde gerçekleştirilen çalışmada tuz stresi için toprağa 68 mmol.kg^{-1} NaCl olarak tuz ilave edilmiştir. Tuz stresine maruz bırakılan bu çeşitlerin prolin, Na^{+1} , Cl^{-1} ve P değerleri artarken, K^{+1} konsantrasyonunda ise azalma olduğu tespit edilmiştir. Diğer çeşitlere göre tuz stresinden daha az etkilenen Damla çeşidinin kuru ağırlığı diğer çeşitlere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yine Damla çeşidinin Na^{+1} ve Cl^{-1} konsantrasyonu daha düşük bulunmuştur. Prolin konsantrasyonu açısından kıyaslandığında ise sekiz haftalık gelişme sonunda en fazla artışın Damla (%255) ve ILC-195/2 (%268) çeşitlerinde ölçüldüğü rapor edilmiştir.

Khalid ve ark. (2001) *in vitro* koşullar altında 0, 8, 12 ve 16 dS/m NaCl koşullarında farklı nohut çeşitlerinin tuz tolerans düzeylerini belirlemek amacıyla gerçekleştirmiş oldukları çalışmada tuzluluğun artması ile çimlenmenin de olumsuz etkilendiğini belirtmişlerdir. Plumula ve kök uzunluklarının en uzun olduğu doz, tuz uygulanmamış olan kontrol grubunda olduğu belirtilmiştir. Ayrıca tuzluluk düzeyinin artması ile yaş ve kuru ağırlıklarının da düştüğünü rapor etmişlerdir.

Yorgancılar ve Babaoğlu (2005), tuz stresi gibi bitkilere ciddi verim kayıplarına neden olan bor (B) stresinin Türkiye kökenli farklı buğday genotiplerinde etkisini *in vitro* ve saksı koşulları altında araştırmışlardır. 200 ml’lik kavanozlarda %0.7 agar, %3 sukroz ve beş farklı B konsantrasyonunda 50 ml MS ile kurguladıkları çalışmada seçilmiş olan B dozlarının çimlenmeyi etkilemediğini ama genotip ve B konsantrasyonu interaksyonunun istatistiki olarak önemli olduğu ifade edilmiştir. Saksı ve *in vitro* deneme sonuçlarının birbirlerini desteklediği ve *in vitro* çalışma sonuçlarının daha sonra gerçekleştirilebilecek olan tarla ve sera denemeleri için ön çalışma olabileceği tavsiye edilmiştir.

Rajakumar (2013) *in vitro* koşullar altında tuz stresine maruz kalan *Oryza sativa* L. bitkisinde tuz stresinin çimlenmeye olan etkisini biyokimyasal parametrelerle incelemiştir. Çalışmada 0-300 mM arasında artan tuz uygulaması sonucunda tuz stresi çimlenmeyi etkilemiştir. En yüksek tuz uygulamasının (300 mM) olduğu koşullarda prolin birikiminin de en yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir. Tuz stresinin artması ile bitkide protein içeriğinin düştüğü, 300 mM NaCl koşullarında %64’lük bir düşüş

gerçekleşmiştir. Benzer şekilde nişasta içeriklerinin de incelendiği çalışmada en yüksek nişasta içeriği kontrol grubunda, en düşük nişasta içeriği ise en yüksek tuz uygulamasının olduğu grupta ölçülmüştür.

Zawude ve Shanko (2017) 0, 5, 10 ve 15 dS/m NaCl koşulları altında Etiyopya'nın yerel nohut genotipleri ile gerçekleştirmiş oldukları çalışmada, bitkilerin tuza tolerans cevaplarını araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan tüm genotiplerde, tuz konsantrasyonunun artması ile birlikte kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök ve gövde yaş ağırlığı, kök ve gövde kuru ağırlık parametrelerinde azalma gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Genotip farklılığına bağlı olarak bitkilerin tuz stresine olan tolerans düzeylerinin farklı olduğunu rapor etmişlerdir.

Day ve Aasim (2017), tuz stresine oldukça hassas olan yer fıstığı bitkisini iki ay boyunca 5-20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ arasında KCl ve NaCl tuzlarına maruz bırakmışlardır. Yer fıstığı bitkisi (*Arachis hypogaeae*) EC değeri 8 dS/m'nin üstüne çıktığında çimlenmeyi başaramamaktadır. Araştırmacılar yer fıstığı bitkisini prime ettikten sonra (ön koşullandırma) plumula eksplantları 1.0 mg/l BAP ve 5-20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ arasında KCl ve NaCl tuz içeren MS besi ortamında kültüre almıştır. İki ay boyunca bitki gelişimleri takip edilmiştir ve tuz kaynağından bağımsız olarak tüm kallus ve rejenere sürgünlerde kahverengileşme veya nekroz oluşumu olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca %100 oranında kallus indüksiyonu ve sürgün rejenerasyon gerçekleştiği belirtilmiştir. Tuz konsantrasyonunun artması ile sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda azalma olduğu tespit edilmiştir. NaCl'nin bitkilerin gelişimine verdiği zararın KCl'ye kıyasla daha fazla olduğu ortaya konmuştur. MS besi ortamında 0,5 cm'den küçük olarak elde edilen sürgünler köklendirilmek üzere 0,25-2,0 mg/l IBA veya % 0,15-0,6 arasında sukrozla birlikte 1 mg/l IBA ile zenginleştirilmiş besi ortamlarında köklendirilmiştir. Köklendirilmiş olan bu sürgünlerin, aklimitizasyonu da başarılı olmuştur. Priming uygulaması sonrası bitkilerin tuz içeren besi ortamında kültüre alınması ve %100 oranında kallus indüksiyonunun görülmesi de priming uygulamasının olumlu etkisi olduğunu göstermektedir.

2.2. Toprakta Tuzluluk Problemi

Toprak çözeltisinde bulunan suda çözünebilir tuzların birikmesi tarımsal üretimi, toprakların bozulmasına ve dolaylı yoldan ekonomiyi de etkileyen önemli bir problemdir. CO_3^{-2} , SO_4^{-2} , Cl^- , NO_3^{-1} , HCO_3^{-1} ve Ca^{+2} , K^+ , Mg^{+2} ve Na^{+1} tuzluluğa neden

olan minerallerdendir (Rao ve ark., 2016). Topraklarda tuzlulaşmanın başlıca nedenleri yeraltı sularının yükselmesi, çözünmemiş tuzları taşıyan suyla yapılan sulama ve yoğun tarım uygulamalarıdır (Munns ve ark., 2003). İklim değişikliğinin dünya üzerinde kendini daha fazla hissettirmesi ile özellikle kurak ve yarı kurak iklimin hâkim olduğu bölgelerde tuzluluk problemi daha şiddetli görülmeye başlanmıştır. Ayrıca dünyanın pek çok yerine de tuzluluk problemi ortaya çıkmaktadır (Rengasamy, 2006). Kurak ve yarı kurak bölgelerde tuzluluğun daha fazla görülme sebebi, toprağa düşen yağış miktarının toprak çözeltisinde bulunan fazla tuzu yıkayıp uzaklaştırabilecek düzeyde olmamasıdır.

Tuz birikmesinin diğer bir sebebi ise rüzgâr ve yağmurların yardımı ile okyanuslardaki tuzların taşınımıdır. Yağmur suları ile 6-50 mg.kg⁻¹ arasında NaCl taşımaktadır (Munns ve Tester, 2008). Toprakta tuzlulaşmanın artması sonucunda bitkiler, ihtiyacı olan besin elementlerini topraktan yeterince alamamakta ve bu durum bitkinin ölümü ile sonuçlanmaktadır (Taş ve ark., 2013). Çizelge 2.1.'de tuzdan etkilenmiş toprakların sınıflandırılmasına ait bir çizelge verilmiştir.

Çizelge 2.1. Tuzdan etkilenmiş toprakların sınıflandırılması (FAO, Management of Irrigation-Induced Salt Affected Soils Tuzluluk Broşüründen alınmıştır).

| Tuzdan etkilenmiş Toprak Sınıfı | Elektrik İletkenliği (dS/m) | Toprak pH'sı | Sodyum Adsorpsiyonu | Toprak Fiziksel Durumu |
|---------------------------------|-----------------------------|--------------|---------------------|------------------------|
| Tuzlu | >4 | <8,5 | <13 | Normal |
| Tuzlu-Sodik | >4 | <8,5 | >13 | Normal |
| Sodik | <4 | >8,5 | >13 | Düşük |

Dünya topraklarının (12.781,3 milyon ha) %3,1'inin tuzlu (397,1 milyon ha), %3,4'ünün (434,3 milyon ha) ise sodik toprak olduğu hesaplanmıştır (FAO, 2017). 1995 yılında yayımlanan bir çalışmada, tuzluluğun tarımda yol açtığı zararın tüm dünyada yıllık 12 milyar dolar olduğu hesaplanmıştır (Ghassemi ve ark., 1995; Pitman ve Läuchli, 2002). Türkiye topraklarının %2'si, tarım topraklarının ise %7'si tuzluluk problemi ile karşı karşıyadır. Yaklaşık 1,5 milyon ha alanda tuzluluk ve alkalilik görülmekle birlikte bu alanın üçte biri Konya Kapalı havzası olarak karşımıza çıkmaktadır (Koç, 2017).

2.3. Bitkilerde Tuz Stresi ve Tolerans Mekanizmaları

Toprakta ortaya çıkan tuzlulaşmaya bazı bitkiler tolerans gösterebilirken, bazı bitkiler ise toprak çözeltisinde bulunan çok az miktarda tuza bile tolerans gösterememektedirler. Normal gelişimlerini tuzlu koşullar altında bile devam ettiren bitkiler, *halofit* grubu altında toplanmaktadır. *Glikofit* bitkiler ise tuzlu koşullara hassasiyeti olan bitkilerdir (Eruz, 1979). Elektrik iletkenliği (EC) 0 ile 2 dS/m arasında tuzluluğun bitkiler üzerindeki etkisi ihmal edilebilir. 2 ile 4 dS/m arasında tuzluluğa hassas olan bitkiler ölebilir. EC değeri 4 dS/m'yi geçtiğinde çoğu bitki tuz stresine karşı tolerans gösterememektedir. EC değeri 8 dS/m'yi aştığında ise yalnızca tuza tolerant bitkiler normal gelişimlerini devam ettirebilmektedir (Eruz, 1979). Tuza hassasiyetlerine göre bitkilerin sınıflandırılması Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı bitkilerin tuzlu koşullara olan toleransı. Tuzluluk değeri EC olarak ifade edilmiştir (FAO, Management of Irrigation-Induced Salt Affected Soils Tuzluluk Broşüründen alınmıştır).

| Hassas (0-4 dS/m) | Orta derecede tolerant (4-6 dS/m) | Tolerant (6-8 dS/m) | Yüksek derecede tolerant (8-12 dS/m) |
|-------------------|-----------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| Badem | Mısır | İncir | Arpa |
| Fasulye | Darı süpürgesi | Yulaf | Pamuk |
| Yonca | Marul | Nar | Zeytin |
| Soğan | Soya | Ayçiçeği | Çavdar |
| Patates | Domates | Buğday | Buğday çimi |

Mangrove, Atriplex ve kinoa en iyi bilinen halofit bitkilerdendir (Flowers ve Colmer, 2015). Mangrove bitkisi tuz bezleri ile tuzu uzaklaştırırken, Atriplex bitkisi ise tuz tüylerinin yardımı ile gövdeden fazla tuzu uzaklaştırmaktadır. Böylece Atriplex bitkisinin yapraklarında biriken fazla tuz yağmurla vs uzaklaşmaktadır. Kinoa bitkisi ise yaprak vakuollerinde Na⁺ biriktirebilmekte ve artan Na⁺ konsantrasyonuna karşılık K⁺ iyonlarını hücre içinde tutarak Na/K dengesini koruyabilmektedir ve böylece hücre içinde homeostasisi sağlamış olmaktadır (Ruiz ve ark., 2016).

Tuza tolerant olan bitkilerin tolerans mekanizmasının fizyolojik temellerini anlayabilmek için hangi aşamada bitki büyümesinin kısıtlandığını anlamak gerekiyor. Bitkiler, tuz stresine karşı iki fazda cevap oluşturabilmektedirler: Birincisi dış osmotik basıncın artışına başlangıçta hızlı bir cevap oluşturmak, ikincisi ise yapraklarda sodyum iyonların birikmesine yavaş bir cevap oluşturulmasıdır (Munns ve Tester, 2008). Bitkiler stres koşulunda yaşamaya devam edebilmek için çeşitli stratejiler

geliştirmektedirler. Moleküler düzeyde bitkiler transkripsiyon, mRNA sürecinin düzenlenmesi, translasyon, protein modifikasyonları ve protein sentezin durdurulması gibi yollarla stres faktörlerine karşı cevap oluşturmaktadırlar. Munns ve Tester (2008) bitkilerde tuz tolerans mekanizmasını dört ayrı grupta sınıflandırmıştır.

1. **Osmotik Stres Toleransı:** Bitki osmotik stresi algılar algılamaz kök uçlarında ve genç yapraklarda hücrelerin büyümesine ket vurmaktadır. Stoma hücrelerinin de kapanması ile bitkinin tolerans cevabına destek olmaktadır.
2. **Yaprak ayalarından Na^{+1} iyonlarının atılması:** Bu özellik, tuzlu ortamlarda yetiştirilen bitkilerde en fazla arzu edilen özelliklerden biridir. Na^{+1} iyonlarının köklerden atılması ise yapraklardan Na^{+1} birikmesini engellemektedir. Eğer Na^{+1} iyonlarının atılmasında bir sıkıntı olursa bitki türüne bağlı olmakla birlikte tuz stresinin etkisi günler veya haftalar sonra kendini göstermektedir. Ksileme ilk aşamada Na^{+} iyonlarının hızlıca yüklenmesi de ozmotik düzenlemeye yardımcı olmaktadır ve bu da tuz stresine tolerans cevabında epey önemli bir rol oynamaktadır.
3. **Doku toleransı:** Bazı bitki türleri dokularında Na^{+1} veya Cl^{-1} iyonlarını biriktirerek tolerans cevabını oluşturmaktadırlar. Bu tolerans mekanizması ise Na^{+1} ve Cl^{-1} iyonlarının hücre içinde ve hücreler arasında kısımlara ayrılması ile gerçekleştirilmektedir. Kinoa örneğinde olduğu gibi yaprak torbacıklarında bu iyonların biriktirilmesi ile bitkinin su kaybını azaltmasına yardımcı olmaktadır (Adolf ve ark., 2013). Hücre içinde özelleşmiş bu kısımlarda iyonların toplanması ile iyonların sitoplazmada birikmesi engellenmektedir.
4. **Osmotik çözücülerin birikmesi:** Organik çözücülerin hücre sitoplazmasında birikmesi ile osmotik düzenleme gerçekleştirilmektedir. Böylece Na^{+1} iyonlarının birikmesi de engellenmektedir. Ozmoprotektan olarak bilinen bu çözücülerden bazıları ise şunlardır: Prolin, glisin, betain, trehaloz, mannitol ve sorbitol (Rao ve ark., 2016). Stres varlığında, prolinin bitkide birikiyor olması genellikle bitkinin strese karşı tolerans olduğu şekilde yorumlanmaktadır (Kishor ve ark., 2005).

2.4. Priming Uygulamaları (Önçimlendirme)

Çimlenme, bitkilerin yetiştirilmesinde hassas bir aşamadır. Tohumların çimlenmesi istirahat halinde olan tohumun canlı bir metabolizmaya dönüştüğü oldukça

karmaşık bir süreçtir (Atici ve ark., 2005). Çimlenme sırasında karşılaşılan pek çok sorun, bitkinin büyüme ve gelişmesini, bitki verimini olumsuz etkileyebilmektedir. Önçimlendirme veya ozmotik koşullandırma olarak da adlandırılan priming uygulamasının birincil amacı tohum ekimi ile ilk sürgün çıkışı arasında geçen süreyi kısaltmaktadır (Nawaz ve ark., 2013). Hindistan'da 1995-97 yılları arasında 21 köyden, 246 çiftçiden nohut, mısır ve çeltik tohumlarını ekmeden evvel suda bekletmelerini ve vernalizasyon ihtiyaçlarına göre uygun dönemlerde ekim yapmaları istenmiştir. Bu projeye katılan çiftçiler, kendilerine verilen nohut, mısır ve çeltik tohumlarının yarısını bir gece öncesinden suda bekletip hava yolu ile kurutup, diğer yarısını ise suda bekletmeden klasik yöntemle ekmişlerdir. Harris ve ark. (1999)'nın Hintli çiftçiler ile gerçekleştirmiş olduğu bu proje sonunda her üç bitki grubunun tohumlarında daha hızlı sürgün çıkışı gözlemlendiği, bitkilerin daha güçlü olduğu, daha erken çiçeklenme gerçekleştiği, bitkilerin kuraklığa karşı daha tolerant olduğu, verimin arttığı ve priming uygulanan bitkilerin daha erken hasat edildiği rapor edilmiştir.

Priming yöntemleri arasında en kolay ve ucuz olan yöntem ekimden evvel tohumları su içinde bekletmektir. Bu yöntem özellikle, elinde çok imkânı olmayan ve kurak veya yarı kurak bir iklimin hâkim olduğu topraklarda ekim yapan çiftçiler için oldukça ekonomik ve cazip bir yöntemdir. Priming uygulamaları aşağıdaki şekilde özetlenmiştir.

1. **Hidropriming:** Tohumları su içinde bir süre bekletme yöntemidir. Suda bekletilen tohumlar daha sonra kurutularak veya kurutmadan ekilebilir.
2. **Halopriming:** NaCl (sodyum klorür), KNO₃ (potasyum nitrat), CaCl₂ (kalsiyum klorür) ve CaSO₄ (kalsiyum sülfat) gibi inorganik tuzların bulunduğu solüsyonlarda tohumların bekletilmesidir. Genel olarak tuzlu solüsyonlarda bekletilip ekilen tohumlar çimlenme, sürgün çıkışı ve gelişimi, tuz stresine cevap oluşturmada etkili olmakla birlikte herhangi bir cevap oluşturmayan durumlar da bulunmaktadır (Nawaz ve ark., 2013). Farklı tuz kaynaklarını içeren solüsyonlarda bekletilen ekmeklik buğday tohumları (tuz stresine tolerant ve hassas) 0, 120 ve 240 mM NaCl içeren ortamlarda çimlenmeye bırakıldığında her iki çeşitte de çimlenme oranında ve plumullerde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir (Ashraf ve Iram, 2002).
3. **Ozmopriming:** Ozmotik koşullandırma olarak da bilinen bu yöntem çözücü olarak şeker, polietilen glikol (PEG), gliserol, sorbitol ve mannitol kullanıp, sonrasında tohumların kurutulmasına dayanmaktadır.

- 4. Hormonal priming:** Bu yöntemde ise salisilik asit, askorbat, kinetin gibi bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumlu etkileyen hormonlarla tohumların önce hormonlu solüsyona batırılıp sonra ekilmesi bitkilerin tuz stresine olan toleransını artırmasına katkıda bulunmuştur.

2.5. LED Işık Uygulamaları

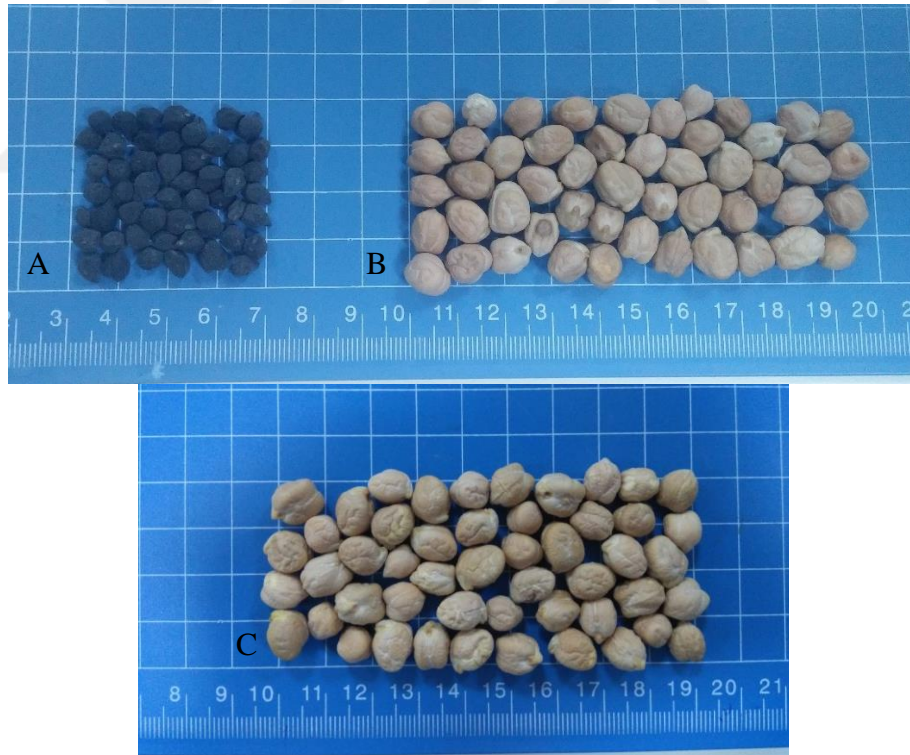
Işık, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen önemli bir faktördür. Son 50 yıl içerisinde LED (Light-emitting diodes) teknolojisindeki gelişmeler özellikle tarımsal üretimde önemli katkılar sunmuştur. LED ışıklarının kullanımı iklim odalarında ve seralarda geniş yer bulmuştur. LED ışıklarının en önemli avantajı, kontrollü olarak bitkilerin yetiştirilmesine imkân verip, bitkilerin fotosentez verimini artırmasına destek olmasıdır. Özel sektörde, tohumculuk firmalarında verimi artırdığı için farklı renklerde LED ışıklarına olan talep artmaktadır. LED ışıklarının kullanımına güncel örneklerden biri ise NASA çalışanlarının uzayda mekik içerisinde marul yetiştirmesidir. Ayrıca dikey tarım uygulamalarında su kültürü sistemi yaygınlaşmaktadır, buna paralel olarak LED ışıklarının kullanımı da artmaktadır. Dikey tarıma odaklanan biyoteknolojik şirketleri yılın 365 gününde su kültürü ve LED ışıklarının kullanımı ile bitki üretimini sürdürebilmektedirler (Bendix, 2018). Avustralyalı bir grup ise ıslah çalışmalarında buğday bitkisinin yetiştirme süresini kısaltmak için LED ışıklarının kullanımına başvurmuşlardır (Watson ve ark., 2018).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, Necmettin Erbakan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Bitki Materyali, Büyüme Ortamı ve Koşulları

Bu tez çalışmasında, bitki materyali olarak Desi tipi siyah nohut ve Kabuli tipi tescilli beyaz nohut çeşitleri kullanılmıştır. Siyah nohut tohumları, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Öğretim üyesi Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR tarafından temin edilmiştir. Karşılaştırma amacıyla ise Kabuli tipi beyaz nohut çeşidi olarak mutasyon ıslahı ile geliştirilmiş olan TAEK-Sağel çeşidi Türkiye Atom Enerjisi Kurumu çalışanı Dr. Zafer Sağel'den ve Er99 isimli nohut çeşidi ise Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Siyah nohut ve Sağel çeşidi nohutlarının karşılaştırılmasına dair fotoğraf Şekil 3.1.'de 'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Tez çalışmasında kullanılan Desi tipi (siyah nohut) (A), Sağel (B) ve Er99 (C) nohut çeşitleri (50şer tohum)

Bu tez çalışmasında MS (Murashige ve Skoog, 1962) mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. Besi ortamı hazırlamak için %3 süzkroz ve %0,65 agar ile katılaştırılan temel besi ortamı kullanılmıştır. Ortam hazırlanmasında distile saf su kullanılmıştır.

Besi ortamlarının pH'sı 1 N NaOH veya 1 N HCl kullanılarak 5,7-5,8'e ayarlandıktan sonra otoklavda 1,2 atmosfer basınç altında 121 °C'de 20 dk boyunca sterilizasyona tabi tutulmuştur. Tez kapsamında yapılmış tüm çalışmalar LED ışık altında 16 saat ışık 8 saat karanlık fotoperiyodunda gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık ise $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmuştur.

3.2. Yüze Sterilizasyonu

Nohut tohumlarının sterilizasyonu için farklı oranda sodyum hipoklorit (NaOCl) farklı sürelerde (dk) uygulanmıştır (Aasim ve ark., 2013). Siyah nohutta çamaşır suyunda bekleme süresi 15 dk iken, beyaz nohutta ise 30 dk olarak optimize edilmiştir. Daha sonra, tohumlar üç kez siyah nohut için 5'er dk, beyaz nohut için ise 10'er dk boyunca otoklavlanmış steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyondan sonra tohumlar besi ortamı içeren steril magenta kapları içinde $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınıp, çimlendirilmiştir.

3.3. Farklı Priming ve Işık Uygulamaları

Bu tez çalışmasında ayrıca farklı ışık (beyaz, kırmızı ve mavi) ve hidropriming uygulamalarının (1 saat, 2 saat ve 4 saat) etkileşimi incelenmiştir. Tesadüf blokları deneme desenine göre 3'er tekerrürlü olarak bu çalışma yürütülmüştür. Yüze sterilizasyonundan sonra siyah nohut tohumları ilk olarak farklı sürelerde (kontrol, 1 saat, 2 saat ve 4 saat) steril saf su içinde bekletilmiştir. Sonrasında farklı renkte LED ışıklar altında 16 saat ışık 8 saat karanlık fotoperiyodunda çimlenme ve büyüme gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık ise $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmuştur. Besi yerine ekimden 22 gün sonra bitkilerin büyüme parametreleri ölçülmüştür.

3.4. Tuz Stresi Uygulamaları

Bu çalışmada *in vitro* koşullarda tuz kaynağı olarak NaCl seçilmiştir. Tuz konsantrasyonlarına göre besi yeri için eklenecek olan tuz miktarı hesaplanmıştır. Tesadüf blokları deneme desenine göre tuz uygulamaları 4'er tekerrürlü olarak bu çalışma yürütülmüştür. Her bir tekerrürde 12şer tohum ekilmiştir. Besi ortamının pH değerleri de tuz eklendikten sonra otoklavlanmadan önce kontrol edilmiştir (Day ve ark., 2016). Tuz uygulaması için 6,25; 12,5; 25; 50; 75; 100; 150 ve 200 mM'lık NaCl içeren besi ortamları hazırlanmıştır. Bitkilerin tuza tolerans yüzdeleri ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Tuza Tolerans Yüzdesi} = \left(\frac{\text{Bitki Kuru Ağırlığı}_{\text{Tuz}}}{\text{Bitki Kuru Ağırlığı}_{\text{Kontrol}}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

3.5. *In vitro* Çimlenme Çalışmaları

Steril edilmiş olan beyaz ve siyah nohut tohumları farklı oranlarda NaCl içeren besi ortamlarında kültüre alınmıştır. Kontrol grubu besi ortamında NaCl eklenmemiştir. Bu çalışma kapsamında çimlenme ile ilgili farklı parametreler kaydedilmiştir (Ranal ve ark., 2009). Çimlenme yüzdesini hesaplamak için çimlenen tohum sayısı, toplam tohum sayısına bölünüp yüz ile çarpılmıştır. Ortalama çimlenme süresi ise Gairola ve ark. (2011)'nin vermiş olduğu formüle göre hesaplanmıştır.

3.6. Temel Büyüme Parametreleri

Tuz stresinin bitki tohumu üzerindeki etkilerini inceleyebilmek için sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı; kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı parametreleri ölçülmüştür. Her bir tekerrürden 5'er bitki alınmıştır, tekerrürde geride kalan bitkiler diğer analizler için ayrılmıştır. Ayrıca tuza tolerans yüzde parametrelerine de bakılmıştır (Karakullukçu ve Adak, 2008). Bitki kök ve sürgün kuru ağırlığını ölçülmesi için bitkilerin yaş ağırlığı tartıldıktan sonra 65 °C'ta bir gece boyunca bekletilmiştir. Bitki yaş ve kuru ağırlıklarının tartımı aynı tartıda gerçekleştirilmiştir.

3.7. Element Analizi (Na, K ve Cl)

Element analizi çalışmaları için Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi laboratuvarlarından faydalanılmıştır. Bitki kök ve gövde örnekleri 65 °C'de beş gün süre ile kurutulup, ardından element analizi için kahve öğütücüsünde öğütülmüştür.

Na ve K tayini: Öğütülmüş ve kurutulmuş bitki örneklerinden 0,25 g tartılmıştır. Yaş yakma işleminde nitrik asit (HNO₃) ve per klorik asit (HClO₄) karışımı kullanılmıştır. Hem sodyum hem de potasyum için standart çözeltiler hazırlanmıştır ve fleymfotometre cihazı buna göre kalibre edilmiştir. Elde edilen okuma değerlerine göre de "Standart Eğri" oluşturulmuştur. Örneklerin sodyum ve potasyum değerleri fleymfotometre cihazında okunmuştur (Kacar ve İnal, 2008).

Cl tayini: Ögütülmüş ve kurutulmuş bitki örneklerinden 0,1 g tartılmıştır. Johnson ve Ulrich (1959)'ın belirttiği şekilde potasyum kromat indikatörü kullanılarak ve AgNO₃ ile titre edilerek elde edilen değerlere göre hesaplanmıştır. Bitkideki klor miktarı aşağıdaki (3.2) eşitliğe göre hesaplanmıştır (Kacar ve İnal, 2008):

$$\text{Ekstrakte Edilebilir Klor (\%)} = \left(\frac{(\text{Örnek-Tanık}) \text{titrasyonda kullanılan AgNO}_3 \text{ miktarı (ml)}}{\text{Bitki örneği miktarı (mg)}} \right) \times 100 \quad (3.2)$$

3.8. Prolin Analizi

Bitkide temel büyüme parametre ölçümlerinin alındığı gün ayrıca prolin konsantrasyonunun belirlenmesi için sırası ile 0,10 g kök ve sürgünden taze örnekler alınmıştır.

Prolin analizi için 0,1 g örnek 3 ml %3'lük sülfosalisilik asit ile ekstrakte edilmiştir. Bu ekstrakt filtre kağıdından süzöldükten sonra ninhidrin asit çözeltisi ile glasiyal asit çözeltisi eklenmiştir ve ardından su banyosunda 95 °C'de 1 saat boyunca bekletilmiştir. 1 saat süre sonunda ekstrakt karışımının bulunduğu cam tüpler buza alınıp hızlıca soğumaları sağlanmıştır. Soğuduktan sonra tüplere 4 ml toluen eklenip yaklaşık 2 dk boyunca vorteksle iyice karıştırılmıştır. Vortekslenen tüplerde üst tarafta kalan sıvı fazdan alınan örnekler kuvarzlara eklenip, spektrofotometrede 520 nm'de okunmuştur.

3.8. İstatistik Analizi

Denemeler, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup her muamele, 3 veya 4 tekerrürlü Magenta GA7 kutuları veya petrilerden oluşmuştur. Elde edilen veriler "SPSS 20 for Windows" programı yardımıyla varyans analizine tabi tutulup olup, ortamlarını karşılaştırmak amacıyla Duncan (DMRT) testi kullanılmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevrilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. *In vitro* Koşullarda LED Işık ve Hidropriming Denemesi

Bu çalışmada farklı sürelerde hidropriming uygulamaları (1 saat, 2 saat ve 4 saat) ve farklı LED ışıkları (beyaz, kırmızı ve mavi) interaksyonunun desi tipi siyah nohut çeşidinin çimlenme ve bitki gelişimi üzerine etkisinin olup olmadığı anlaşılmaya çalışılmıştır. Siyah nohut tohumlarının yüzey sterilizasyonu gerçekleştirildikten sonra tohumlar MS besi ortamına aktarılmıştır. Çimlenme oranı %100 olduğu için çimlenme verileri ile istatistik analizi yapılmamıştır. Temel büyüme parametrelerinin ölçümü sonucunda kaydedilen veriler alınıp istatistik analizi yapılmıştır.

Çizelge 4.1. Farklı LED ışık ve hidropriming uygulamalarına maruz bırakılan siyah nohut bitkisinde sürgün ve kök uzunluğu, sürgün ve kök yaş ağırlığına ait varyans analizi

| Varyans Kaynağı | S.D. | Sürgün Uzunluğu | | Kök Uzunluğu | | Sürgün Yaş Ağırlığı | | Kök Yaş Ağırlığı | |
|-----------------|------|-----------------|----------|--------------|----------|---------------------|----------|------------------|----------|
| | | K.O. | F Değeri | K.O. | F Değeri | K.O. | F Değeri | K.O. | F Değeri |
| LED Işık (I) | 2 | 91,419 | 72,561** | 37,710 | 8,772** | 0,022 | 4,244** | 0,005 | 0,881ös |
| Priming (P) | 3 | 3,793 | 3,010** | 1,033 | 0,240ös | 0,000 | 0,095ös | 0,006 | 0,962ös |
| I×P | 6 | 2,211 | 1,755* | 4,774 | 1,110* | 0,009 | 1,820* | 0,003 | 0,540ös |
| Hata | 24 | 1,260 | - | 4,299 | - | 0,005 | - | 0,006 | - |
| Genel Toplam | 35 | - | - | - | - | - | - | - | - |

** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

Çizelge 4.1.'de görüleceği üzere ışık uygulaması tek başına uygulandığı koşullarda sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve sürgün yaş ağırlığı açısından hidropriming uygulamasının tek başına uygulandığı koşullarda ise sadece sürgün uzunluğu açısından $p \leq 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Priming ve ışık uygulamaları etkileşiminin sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve sürgün yaş ağırlığı parametreleri açısından $p \leq 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Kök yaş ağırlığı parametresi açısından bakıldığından ise tüm uygulamalardan kaynaklı olarak önemli bir değişiklik olmadığı anlaşılmaktadır.

Kök sayısı, sürgün ve kök kuru ağırlığı ve sürgün/kök boy oranı parametrelerine göre yapılan varyans analiz tablosu ise Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Kök sayısı açısından sadece LED ışık ve LED × hidropriming interaksyon uygulaması koşullarında $p \leq 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Fakat priming uygulama süresi farklılığı kök sayısında önemli bir değişiklik oluşturmamıştır.

Çizelge 4.2. Farklı LED ışık ve hidropriming uygulamalarına maruz bırakılan siyah nohut bitkisinde kök sayısı, sürgün kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve sürgün/kök boy oranına ait varyans analizi

| Varyans Kaynağı | S.D. | Kök Sayısı | | Sürgün Kuru Ağırlığı | | Kök Kuru Ağırlığı | | Sürgün/Kök Boy Oranı | |
|-----------------|------|------------|----------|----------------------|----------|-------------------|----------|----------------------|----------|
| | | K.O. | F Değeri | K.O. | F Değeri | K.O. | F Değeri | K.O. | F Değeri |
| Işık (I) | 2 | 73,940 | 5,370** | 0 | 0,483ös | 0 | 0,579ös | 0,135 | 3,827* |
| Priming (P) | 3 | 20,448 | 1,485ös | 0 | 0,185ös | 0 | 2,166* | 0,015 | 0,420ös |
| IxP | 6 | 32,869 | 2,387** | 0 | 1,849* | 0 | 1,034ös | 0,083 | 2,341** |
| Hata | 24 | 13,770 | - | 0 | - | 0 | - | 0,035 | - |
| Genel Toplam | 35 | - | - | - | - | - | - | - | - |

** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

Sürgün kuru ağırlığı parametresi açısından ise LED ışık ve hidropriming uygulamaları tek başına incelendiğinde önemli bir farklılık yaratmazken LED × hidropriming interaksiyon varlığında $p \leq 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Kök kuru ağırlığı parametresi açısından bakıldığında ise priming uygulamasında $p \leq 0.05$ düzeyinde anlamlı sonuç elde edilmiştir. LED ışık uygulaması ve interaksiyon uygulamalarının kök kuru ağırlığında önemli bir farklılığa neden olmadığı görülmüştür.

Priming uygulaması tek başına incelendiğinde sürgün/kök boy oranında değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Işık uygulaması altında ise elde edilen verilerin $p \leq 0.05$ düzeyinde, LED × hidropriming interaksiyonu koşullarında ise $p \leq 0.05$ düzeyinde önemli olduğu görülmüştür. Sokht-Abandani ve Ramezani (2012)'nin mısır, pirinç ve hıyar bitkilerinde yaptığı osmopriming uygulamaları sonucunda priming uygulamasının mısır bitkisinin sürgün ve kök uzunluğu, çimlenme oranı ve kök yaş ağırlığını etkilediği; priming süresinin ise bu parametrelere ek olarak sürgün yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığını etkilediği rapor edilmiştir. Çiftçiler ile yürütülen başka bir çalışmada, çinko sülfat solüsyonu içinde 16 saat boyunca bekletilen mısır tohumlarının ekimi sonucunda verim açısından %25 oranında, toplam kuru biyokütle, koçan sayısı ve koçan ağırlığı açısından da artış olduğu belirtilmiştir (Harris ve ark., 2007; Nawaz ve ark., 2013).

Bu denemede gerçekleştirilen uygulamalar sonucunda ortaya çıkan farklılığı göstermek için yapılan Duncan analiz sonuçlarının tamamı EK-1'de verilmiştir. Siyah nohut bitkisinde temel büyüme parametrelerinin ölçümü ile kaydedilen verilerin LED ışıklarının tek başına uygulanması ile yapılan Duncan analiz sonucu Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Farklı ışık uygulamalarına göre incelendiğinde sürgün uzunluğu 11,07 cm ile 16,57 cm arasında, kök uzunluğu ise 11,67 cm ile 14,97 cm arasında değişmiştir. Yani kırmızı ışık uygulaması altında yetişen bitkilerin hem sürgün uzunluğu hem de kök uzunluğu beyaz ve mavi ışık uygulamalarına göre daha yüksek olmaktadır. Ayrıca LED ışık × hidropriming interaksyonuna bakıldığında da en uzun sürgün ve kök uzunluğuna kırmızı ışık altında yetiştirilmiş bitkilerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.3. Farklı LED ışık uygulamaları altında yetişen siyah nohut bitkisinden elde edilen veriler ile Duncan analizi gerçekleştirilmiştir.

| Işık | | | | | | | | |
|----------|----------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| LED Işık | Sürgün Uzunluğu (cm) | Kök Uzunluğu (cm) | Sürgün Yaş Ağırlığı (g) | Kök Yaş Ağırlığı (g) | Kök Sayısı | Sürgün Kuru Ağırlığı (g) | Kök Kuru Ağırlığı (g) | Sürgün/Kök Uzunluğu Oran |
| Beyaz | 11,07c** | 11,67b** | 0,448b** | 0,297ös | 18,90b** | 0,040ös | 0,027ös | 0,983b* |
| Mavi | 14,16b | 12,21b | 0,527a | 0,307 | 19,06b | 0,041 | 0,029 | 1,185a |
| Kırmızı | 16,57a | 14,97a | 0,514a | 0,338 | 23,28a | 0,042 | 0,029 | 1,142a |

Bitki sürgün yaş ağırlıkları farklı ışık uygulamaları altında yetiştirildiğinde ise 0,448 g ile 0,527 g arasında değişmekte ve en yüksek yaş ağırlık mavi ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerde görülmüştür. Bitki kök yaş ağırlıkları, farklı ışık uygulamaları altında 0,297 ile 0,338 g arasında değişmektedir, sürgün yaş ağırlığından farklı olarak en yüksek kök yaş ağırlığı kırmızı ışık altında elde edilmiştir. En çok kök sayısı 23,28 ile kırmızı ışık altında elde edilirken, en yüksek sürgün/kök boy oranı 1,185 ile mavi ışık altında yetiştirilmiş bitkilerden elde edilmiştir. Verim açısından önemli bir belirleyici olan kuru ağırlık miktarında, farklı ışık uygulamaları altında dikkate değer bir farklılık oluşmamıştır.

Bu tez çalışmasında sürgün ve kök kuru ağırlık değerlerinde, LED ışık farklılığına bağlı olarak önemli bir değişiklik kaydedilmemiştir. Fakat literatürde farklı renklerde ışık uygulamalarının bitki verimini artırmaya yönelik olarak faydalı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Astolfi ve ark. (2012) farklı LED ışıkları altında kayın ağacı, pırnal meşesi ve kuş kiraz ağaçlarını yetiştirdiği çalışmada bitkilerin değişen metabolik aktivitelerini incelemiştir. Çalışma sonucunda farklı LED ışıklarının kullanımının bitki yaş ve kuru ağırlık, sürgün uzunluğu ve yaprak alanı gibi parametrelerde artışa neden olduğunu belirtmişlerdir.

Hidropriming uygulaması için solüsyon olarak otoklavlanmış steril saf su kullanılmıştır. Kontrol grubu dışındaki tohumlar 1, 2 ve 4er saat distile saf sular içinde

bekletilmişlerdir. Bu uygulamaya bağımlı olarak kaydedilen verilerin Duncan analiz sonucu Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

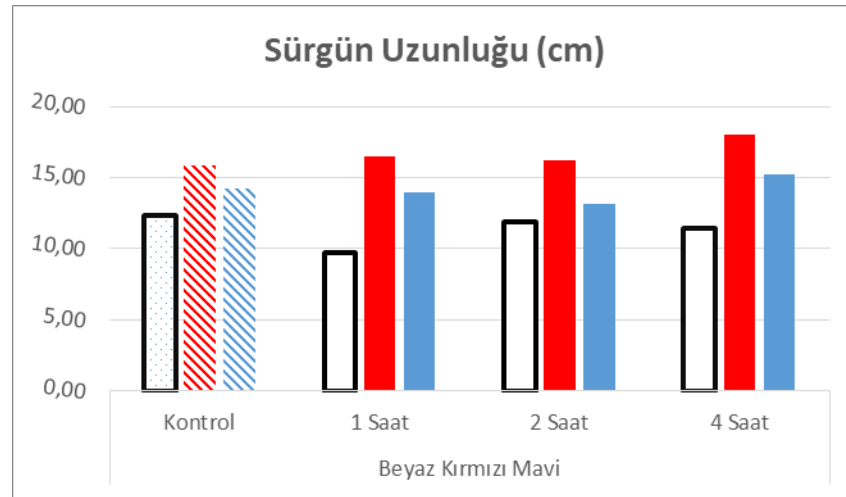
Çizelge 4.4. Farklı hidropriming süresinin siyah nohut bitkisinin büyüme gelişimi üzerine etkileri

| Hidropriming (süresi) | Sürgün Uzunluğu (cm) | Kök Uzunluğu (cm) | Sürgün Yaş Ağırlığı (g) | Kök Yaş Ağırlığı (g) | Kök Sayısı | Sürgün Kuru Ağırlığı (g) | Kök Kuru Ağırlığı (g) | Sürgün/Kök Uzunluğu Oranı |
|-----------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------|
| Kontrol | 13,78ab** | 12,45ös | 0,486ös | 0,293ös | 18,33ös | 0,040ös | 0,032a* | 1,106ös |
| 1 saat | 13,38b | 13,01 | 0,497 | 0,295 | 20,41 | 0,041 | 0,029ab | 1,047 |
| 2 saat | 13,74ab | 13,15 | 0,499 | 0,320 | 21,06 | 0,041 | 0,027ab | 1,118 |
| 4 saat | 14,88a | 13,16 | 0,503 | 0,348 | 21,85 | 0,042 | 0,026b | 1,142 |

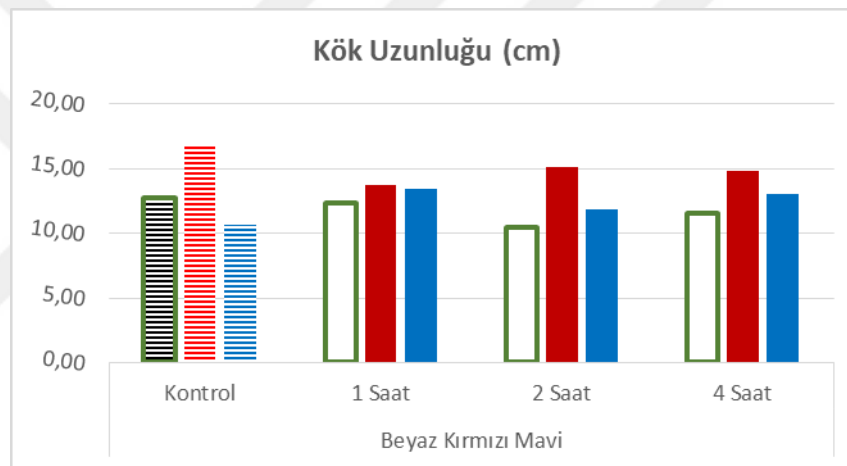
Farklı priming uygulamaları altında, sürgün uzunluğu hidropriming süresi arttıkça artmıştır. Kontrol grubunda 13,78 cm olan sürgün uzunluğu, 4 saatlik hidropriming uygulaması sonucunda 14,88 cm'e ulaşmıştır. Kök kuru ağırlığında ise tam zıttı bir değişiklik görülmüştür. 0,032 g ile 0,026 g arasında değişen kök kuru ağırlığı en yüksek kontrol grubunda en düşük ise 4 saatlik hidropriming sonucunda olduğu kaydedilmiştir. Önemli bir farklılık görülmeyen kök uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, kök sayısı ve sürgün kuru ağırlığı parametrelerinde kontrol grubunda en düşük değerler kaydedilirken 4 saatlik priming uygulaması sonucunda ise en yüksek değerler kaydedilmiştir. Bu çalışmada priming kaynağı olarak su kullanılmıştır. Priming kaynağı olarak giberellin, tuz, polietilen glikol (PEG) ile mısır tohumlarını prime eden Tian ve ark. (2014), prime ettikleri mısır tohumlarında çimlenme performansı, fide gelişimi ve tohum veriminin arttığını belirtmişlerdir.

LED ışık ve hidropriming uygulamalarının interaksiyonu, siyah nohut bitkisinin büyümesinde diğer uygulamaların tek başına uygulandığı koşullara göre daha çok sayıda parametre açısından önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Sürgün ve kök uzunluğu açısından elde verilerle ilgili grafik Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir. Sürgün uzunluğu 9,71 ile 18,02 cm arasında değişmiştir. En yüksek sürgün uzunluğu 4 saatlik hidropriming sonrası kırmızı LED ışık altında yetiştirilen bitkilerde görülmüştür. Kök uzunluğu ise 10,40 ile 16,23 cm arasında değişmiştir. En yüksek kök uzunluğu değerlerine yine kırmızı LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerden elde edilmiştir.

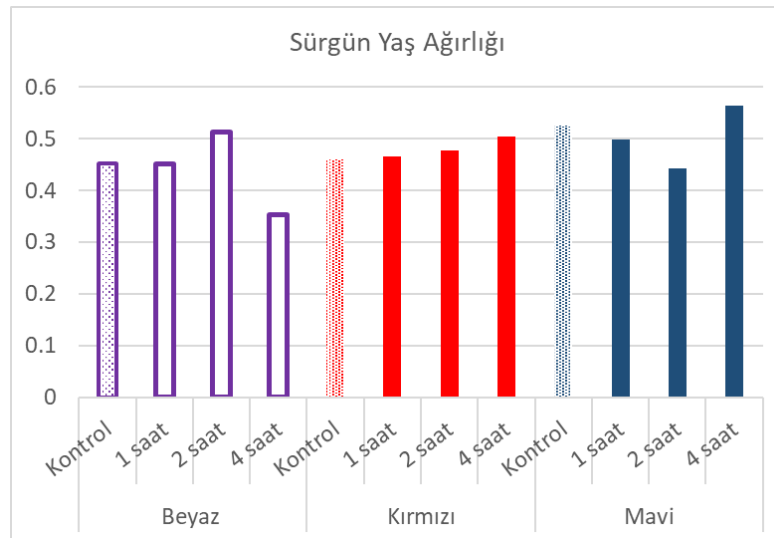


Şekil 4.1. Farklı LED ışıkları ve farklı sürelerde hidropriming uygulanmış siyah nohut bitkisinde sürgün uzunluğu değerleri



Şekil 4.2. Farklı LED ışıkları ve farklı sürelerde hidropriming uygulanmış siyah nohut bitkisinde kök uzunluğu değerleri

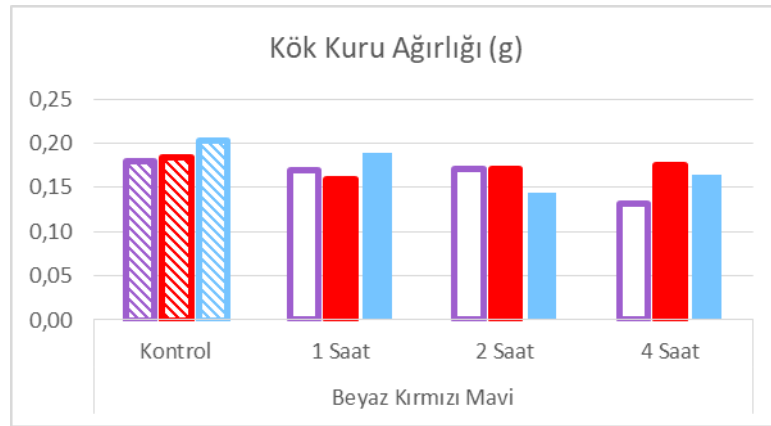
Sürgün yaş ağırlığı için kaydedilen değerler 0,367 g ile 0,582 g arasında değişmektedir. En yüksek sürgün yaş ağırlık değeri, 4 saat süre hidroprimingin ardından mavi LED ışık altında kültüre alınmış olan siyah nohut bitkilerinden alınmıştır. En düşük sürgün yaş ağırlığı değeri ise, 4 saatlik hidroprimingin ardından beyaz LED ışık altında kültüre alınmış olan tohumlardan yetişen bitkilerde görülmüştür. Mavi ve kırmızı LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerden, 4 saatlik hidropriming uygulanmış olanlarda sürgün yaş ağırlıkları maksimum değere ulaşırken beyaz LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerde en düşük değere ulaşmıştır. Elde edilen değerler Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı LED ışıkları ve farklı sürelerde hidropriming uygulanmış siyah nohut bitkisinin yaş ağırlığı değerleri

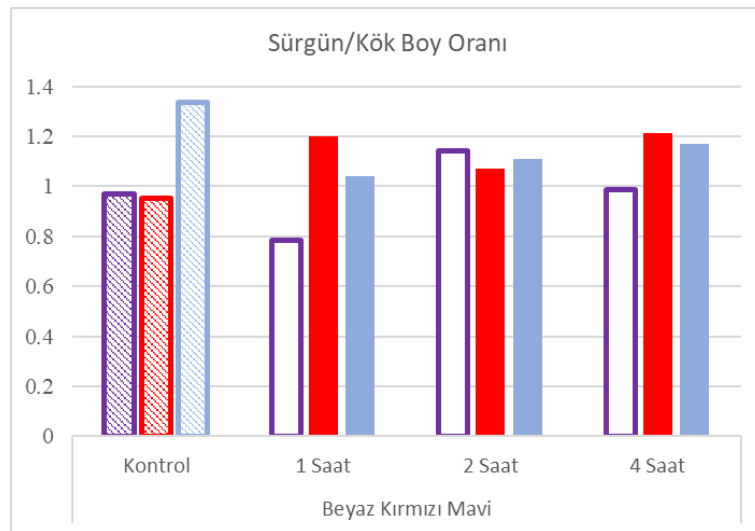
Kök sayısı açısından değerlendirildiğinde, LED ışık ve priming interaksyonu koşulları altında $p \leq 0.01$ düzeyinde anlamlı çıkmıştır. Kök sayısı değerleri ise 14,89 ile 27,72 arasında değişmiştir. En düşük kök sayısı, 2 saatlik priming uygulamasından sonra mavi LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerden alınmıştır. En yüksek değer ise 1 saatlik priming uygulaması sonrasında kırmızı LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerden alınmıştır.

Kök kuru ağırlığı açısından inceleme yapıldığında alınan değerler 0,022 ile 0,035 g arasında değişmiştir. Beyaz LED ışık altında yetişen bitkilerde hidropriming süresi arttıkça kök kuru ağırlığı miktarı düşmüştür, fakat mavi ve kırmızı LED ışık altında yetişen bitkilerde beyaz LED ışık altında yetişen bitkilerde olduğu gibi kök kuru ağırlığı miktarında doğrusal bir artış veya azalış gerçekleşmemiştir. Mavi ve kırmızı ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerde maksimum kök kuru ağırlığı değerine kontrol grubunda ulaşılırken, minimum kök kuru ağırlığı değerine sırası ile 2 saatlik ve 1 saatlik hidropriming uygulanmış bitkilerde ulaşılmıştır. Elde edilen değerler Şekil 4.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı sürelerde priming uygulanmış ve farklı LED ışıklar altında yetiştirilmiş siyah nohut bitkisinin 22. gününde kaydedilen kök kuru ağırlığı değerleri

Sürgün/kök uzunluğu oranları açısından incelendiğinde ise her üç farklı LED ışık altında yetişen bitkilerde hidropriming süresine paralel olarak bir doğrusal artış veya azalış gözlenmemiştir. Sürgün/kök uzunluk oranları 0,796 (1 saatlik hidropriming ve beyaz LED ışık) ile 1,366 (1 saatlik hidropriming ve mavi LED ışık) arasında değişmiştir. Beyaz LED ışık altında yetiştirilmiş bitkilerde maksimum değere 2 saat boyunca hidropriming, minimum değere ise 1 saat boyunca hidropriming olanlarda kaydedilmiştir. Mavi LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerde maksimum değere kontrol grubunda, minimum değere ise 1 saat süre ile hidropriming edilmiş olanlarda elde edilmiştir. Kırmızı LED ışık altında yetiştirilmiş olan bitkilerde ise maksimum değere 4 saat boyunca hidropriming edilmiş olanlarda, minimum değere ise kontrol grubunda ulaşılmıştır. Elde edilen değerler Şekil 4.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı LED ışıkları ve sürelerde hidropriming uygulanmış siyah nohut bitkisinde sürgün/kök boy oranı değerleri

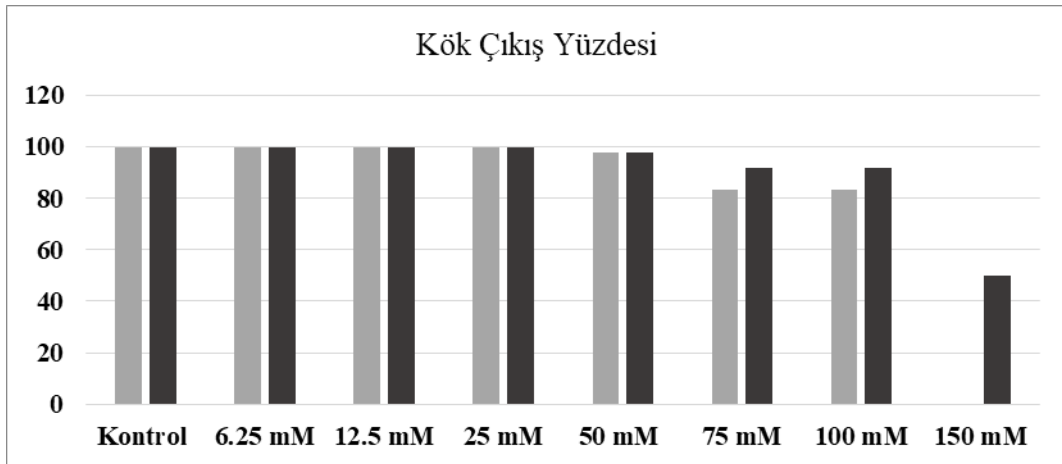
4.2. *In vitro* Koşullarda Tuz (NaCl) Uygulaması

Bu tez çalışmasında, farklı konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 50, 75, 100, 150 ve 200 mM) tuz (NaCl) içeren besi ortamlarında kültüre alınmış olan Desi tipi siyah nohut ve Kabuli tipi beyaz nohut çeşidinin tuz stresine olan tolerans cevapları karşılaştırılmıştır. Kabuli tipi beyaz nohut çeşidi olarak Er-99 çeşidi kullanılmıştır.

4.2.1. *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının siyah nohutta çimlenmeye etkisi

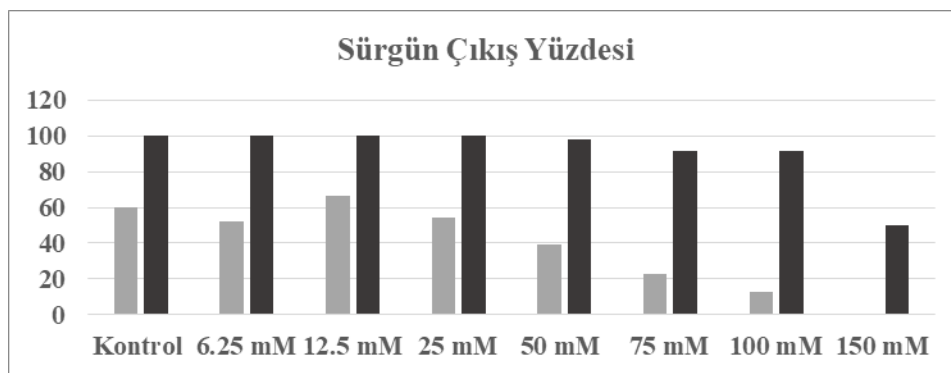
Bu tez çalışmasında, farklı oranlarda NaCl'nin Magenta GA vessel içinde besi ortamlarına eklenerek steril edilmiş olan nohut tohumları kültüre alınmıştır. Daha sonra bu magentalardaki tohumlar, beyaz LED ışık altında çimlenme ve büyümeye bırakılmıştır. Ekim gününden 12 ve 24 saat sonra tohumların çimlenme durumları kontrol edilmiştir. Daha sonra 24 saat ara ile çimlenmiş tohum sayıları sayılmıştır. 12 saat içinde herhangi bir çimlenme gözlenmemişken, sonraki saatlerde tohumlar çimlenmeye başlamışlardır. 50 mM'lık NaCl tuz uygulamasına kadar, siyah nohut tohumları 3 gün içinde çimlenmelerini tamamlamışlardır. 11 gün sonra 75 mM NaCl tuz uygulamasında, 4 gün içinde 100 mM'da ve 10 gün sonra ise 150 mM NaCl tuz uygulamasında tohumlarda çimlenme durmuştur. Ön denemelerde 200 mM NaCl tuz uygulamasında ise herhangi bir çimlenme görülmemiştir. Bu yüzden besi ortamında bulunan NaCl tuz oranı daha fazla artırılmamıştır.

İki farklı günde sayımı yapılan siyah nohut bitkisinin kök ve sürgün çıkış yüzdeleri hesaplanmıştır. İkinci sayım gününden sonra yeni kök veya sürgün çıkışı gözlenmemiştir. Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi kök çıkışının sayıldığı birinci günde kontrol, 6,25, 12,5 ve 25 mM NaCl içeren besi ortamında ekilen bitkilerin hepsinde %100 oranında çimlenme gerçekleştirilmiştir. Aynı günde tohumlarda sürgün çıkışı da gözlenmeye başlamıştır (Şekil 4.7.). 50 mM NaCl içeren besi yerinde ise %97 oranında çimlenme görülmüştür ve ikinci sayım gününde yeni kök çıkışı gözlenmemiştir. 50 mM'dan sonra tuz konsantrasyonunun artması ile çimlenme oranı düşmeye başlamıştır. İlk sayım gününde 75 mM ve 100 mM NaCl içeren besi yerine ekilen ortamda kök çıkış yüzdesi %83'e, ikinci sayım gününde bu oran %91'e çıkmıştır. 75 mM ve 100 mM NaCl'de ekimi yapılan tohumlar daha geç çimlendiği için ikinci sayım gününde kök çıkış sayısında artış görülmüştür. 150 mM NaCl'de ekilen tohumlar ilk sayım gününde çimlenmemiştir. İkinci sayım gününde ise 150 mM NaCl'de ekilen tohumların %50'sinde çimlenme görülmüştür.

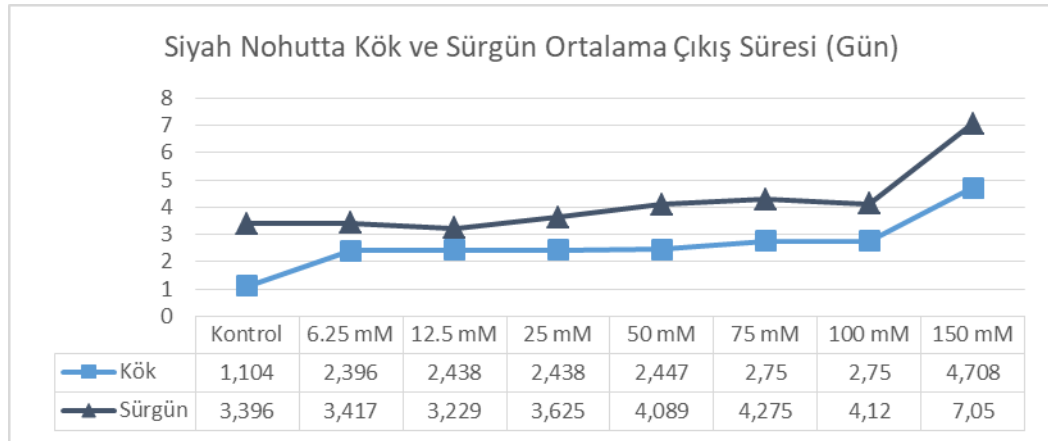


Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda NaCl uygulamaları altında yetiştirilmiş bitkilerin 4. ve 12. günlerde sayılan kök çıkış yüzdesi

Şekil 4.7.'de görüldüğü üzere kontrol, 6.25, 12.5 ve 25 mM NaCl uygulamalarında birinci gün sayımında çıkan sürgün çıkış yüzdeleri birbirine çok yakındır. İkinci gün sayımında ise sürgün sayıları eşitlenmiştir. 50 mM NaCl uygulamasında ise sürgün çıkış yüzdesi yaklaşık %40'tan %98'e çıkmıştır. Sürgün çıkış yüzdesi 75 mM'lık tuz uygulamasında ise %23'ten %92'e, 100 mM'da ise %12,5'tan %92'ye çıkmıştır. En çarpıcı sonuç ise tuz konsantrasyonunun en yüksek olduğu 150 mM'lık uygulama sonucunda elde edilmiştir. Ekimin 5. gününde tohumlar çimlenmeye başlamıştır ve sonrasında tohumların sadece %50'sinde sürgün çıkışı görülmüştür.



Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda NaCl uygulamaları altında yetiştirilmiş bitkilerin 4. ve 12. günlerde sayılan sürgün çıkış yüzdesi

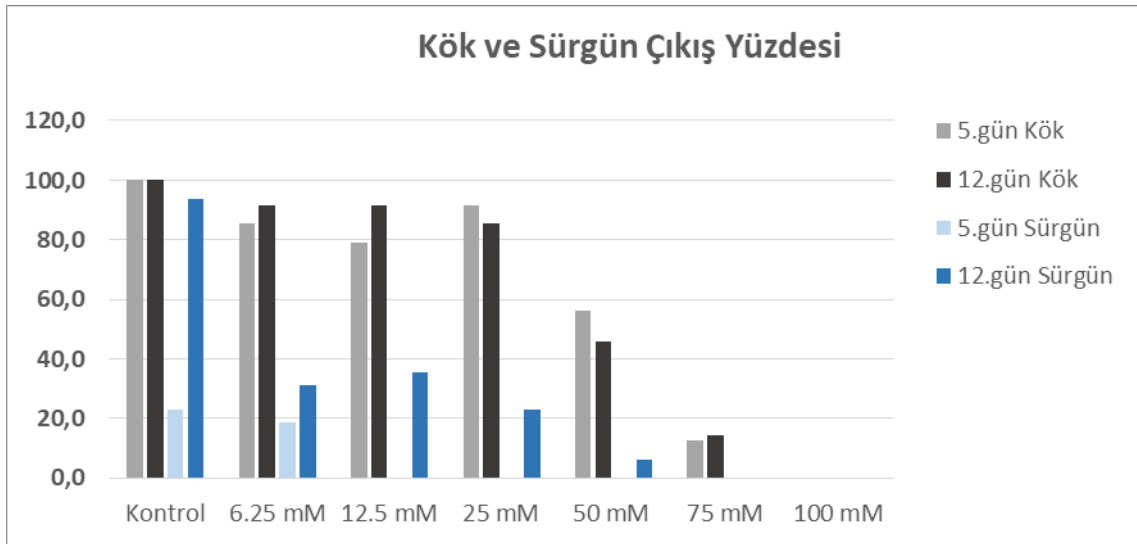


Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda NaCl uygulamalarında yetiştirilmiş siyah nohutta kök ve sürgün ortalama çıkış süreleri (gün)

Şekil 4.8.'de ortalama kök ve sürgün çıkışı ortalama süreleri verilmiştir. Ortalama çimlenme süresi (MGT= mean germination time) olarak da bilinen bu formül özellikle karşılaştırma yapmak amacıyla faydalanılmaktadır. Karşılaştırma dışındaki amaçlar için kullanımı durumunda yanıltıcı olabilmektedir (Soltani ve ark., 2015). Tuz konsantrasyonu ile ortalama çimlenme süresi doğrusal olarak bir artış göstermemiştir. Bu analize göre tuz stresi karşısında en çarpıcı değişiklik 150 mM NaCl uygulamasında görülmüştür. En uzun ortalama çimlenme süresi bu uygulamada kaydedilmiştir. Sadece kök çıkışlarına göre değerlendirme eksik olacağı için ayrıca sürgün çıkışlarını da değerlendirmeye almak gerektiği aşikârdır. 2.5 ve 100 mM uygulamaları arasında kök ortalama çıkış süreleri birbirine çok yakinken, sürgün ortalama çıkış sürelerinde ise tuz stres farklılığının etkisi daha net görülmüştür.

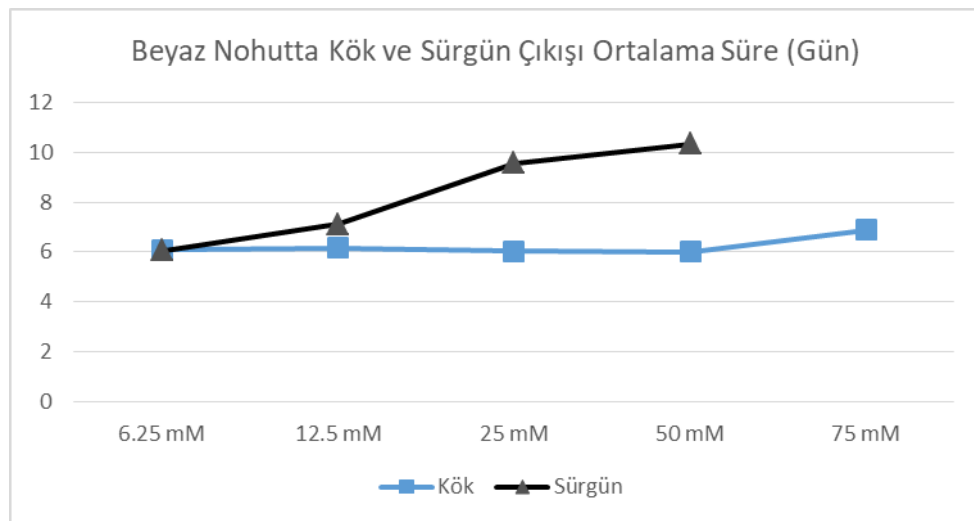
4.2.2. *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının beyaz nohutta çimlenmeye etkisi

Er-99 çeşidi tohumların, siyah nohuta göre tuz stresi altında daha hassas olduğu tespit edilmiştir. 100 mM NaCl içeren besi ortamında herhangi bir canlılık emaresi göstermemiştir. Tuz stresine tabi tutulan beyaz nohut çeşidinden elde edilen çimlenme verileri Duncan analizine göre test edilmiştir ve kök ve sürgün çıkışı için elde edilen sonuçlar Şekil 4.9.'da gösterilmiştir. Bu çalışmada Er-99 nohut çeşidi, tuz stresine karşı tolerans göstermemiştir. Singla ve Garg (2005)'nin tuz stresi altında karşılaştırma yaptığı nohut çeşitlerinde Kabuli tipindeki nohut çeşitlerinin Desi tipindeki nohut çeşitlerine göre tuz stresine karşı daha tolerant olduğunu göstermiştir. Nohutta tuz stresine karşı olan tolerans cevabının genotipe bağlı olduğunu söylemek daha doğru olacaktır (Atieno ve ark., 2017).



Şekil 4.9. Farklı tuz konsantrasyonlarında beyaz nohutta kök çıkış yüzdesi

Bu tez çalışması laboratuvarında *in vitro* şartlar altında gerçekleştiği için bu bitki çeşidinin tuz tolerans mekanizmasını daha iyi anlamak için daha geniş kapsamda gerçekleştirilecek çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Grafiklerden de görüldüğü üzere Desi tipi siyah nohut bitki çeşidi 150 mM NaCl'a (dahil) kadar çimlenebilmiş ve 200 mM NaCl'da ise çimlenme gösterememiştir. Karşılaştırma için kullanılan beyaz nohut çeşidi ise 75 mM NaCl'a kadar dayanıklılık gösterebilmiştir. İlk sayım gününde sadece kontrol ve 6,25 mM NaCl koşullarında yetişen bitkilerde sürgün çıkışı görülmüştür. 75 mM NaCl koşullarında kök çıkış gözlenmesine rağmen, sürgün çıkışı gerçekleşmemiştir. *In vitro* koşullar altında tuz stresine maruz bırakılan beyaz nohut çeşidinin ortalama kök ve sürgün çıkış süresi Şekil 4.10.'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Farklı tuz konsantrasyonlarında beyaz nohut çeşidinde kök ve sürgün çıkışı ortalama süresi

Beyaz nohut çeşidinin çimlenme süresi, siyah nohut çeşidine tuz uygulanmamış koşullarda da daha uzun olduğu görülmüştür. Tuz uygulamasının artması ile beyaz nohut çeşidinin çimlenme süresinde de artış görülmüştür. 50 mM uygulamadan sonra beyaz nohut bitkisinde herhangi bir sürgün gelişimi görülmemiştir. Atieno ve ark. (2017), görüntü temelli fenotiplendirme yöntemini kullanarak 245 nohut aksesyonunda tuz stresine olan tolerans cevabının genetik farklılığını araştırdıkları çalışmada tuz stresi için 40 mM NaCl kullanmışlardır. Tuza tolerans ıslah programı için çalışmada test edilen parametreler arasında tohum sayısının uygun bir parametre olduğunu belirtmişlerdir.

4.2.3. *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının siyah nohutun büyümesine etkisi

Farklı oranlarda NaCl'nin Magenta GA vessel içinde besi ortamlarına eklenerek steril edilmiş olan nohut tohumları çimlendikten sonra büyümeye bırakılmıştır. 20 gün sonra temel büyüme parametreleri analizi için dış koşullarda hasat gerçekleştirilmiştir. Temel büyüme parametreleri olarak ise sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün/kök oranı, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, sürgün sayısı, kök sayısı, sürgün kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı değerleri alınmıştır. Sürgün ve kök örneklerinin yaş ve kuru ağırlıkları hassas terazide tartılmıştır. Bitki örnekleri 65 °C'de gece boyunca bekledikten sonra kuru ağırlıkları tartılmıştır.

Çizelge 4.5. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilmiş olan siyah nohut bitkisinden kaydedilen veriler ile yapılan varyans analizi sonucu

| Varyans Kaynağı | S.D | Sürgün Uzunluğu | | Kök Uzunluğu | | Sürgün/Kök Uzunluğu Oranı | |
|-----------------|-----|---------------------|----------|----------------------|----------|---------------------------|----------|
| | | K.O. | F | K.O. | F | K.O. | F |
| Tuz Oranı | 7 | 13,742 | 11,653** | 62,065 | 15,382** | 2,317 | 15,275** |
| Hata | 24 | 1,179 | - | 4,035 | - | 0,152 | - |
| Genel Toplam | 31 | - | - | - | - | - | - |
| | | Sürgün Yaş Ağırlığı | | Kök Yaş Ağırlığı | | Sürgün Sayısı | |
| Ortam | 7 | 0,022 | 18,616** | 0,037 | 14,875** | 1,279 | 5,326** |
| Hata | 24 | 0,001 | - | 0,003 | - | 0,240 | - |
| Genel Toplam | 31 | - | - | - | - | - | - |
| | | Kök Sayısı | | Sürgün Kuru Ağırlığı | | Kök Kuru Ağırlığı | |
| Ortam | 7 | 118,368 | 13,762** | 0,000 | 25,193** | 0,00 | 22,131** |
| Hata | 24 | 8,601 | - | 000 | - | 000 | - |
| Genel Toplam | 31 | - | - | - | - | - | - |

**p≤0.01, *p≤0.05

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi Sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün/kök oranı, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, sürgün sayısı, kök sayısı, sürgün kuru ağırlığı ve kök kuru ağırlığı $p \leq 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu farklılığı göstermek için gerçekleştirilen Duncan analizi Çizelge 4.6'da verilmiştir. *In vitro* koşullarda, farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilmiş olan siyah nohut bitkisine ait olan fotoğraflar Ek-2 ve Ek-3'te verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı düzeylerde NaCl içeren besi ortamında yetiştirilmiş siyah nohut bitkisinden alınan temel büyüme parametreleri

| NaCl (konsantrasyonu) | Sürgün Uzunluğu | Kök Uzunluğu | Sürgün/Kök Uzunluğu Oranı | Sürgün Yaş Ağırlığı | Kök Yaş Ağırlığı |
|--------------------------|--------------------|-----------------|------------------------------|------------------------|---------------------|
| Kontrol | 9,24a | 11,21a | 0,89cd | 0,296a | 0,329a |
| 6,25 mM | 8,29a | 8,50ab | 1,08cd | 0,233b | 0,144bc |
| 12,5 mM | 8,23a | 10,87a | 0,82d | 0,237b | 0,179b |
| 25 mM | 8,48a | 7,06b | 1,43bc | 0,211bc | 0,157b |
| 50 mM | 6,27b | 3,39c | 2,01b | 0,179cd | 0,074de |
| 75 mM | 5,83b | 2,36c | 2,60a | 0,151de | 0,115cde |
| 100 mM | 6,23b | 2,25c | 2,82a | 0,113ef | 0,047de |
| 150 mM | 3,66c | 1,96c | 1,83b | 0,063f | 0,018e |
| NaCl (konsantrasyonu) | Sürgün Sayısı | Kök Sayısı | Sürgün Kuru Ağırlığı | Kök Kuru Ağırlığı | |
| Kontrol | 2,50a | 16,75a | 0,028a | 0,027a | |
| 6,25 mM | 2,21ab | 15,69a | 0,026ab | 0,017bc | |
| 12,5 mM | 2,31a | 16,00a | 0,026ab | 0,021b | |
| 25 mM | 2,00ab | 10,63bc | 0,024ab | 0,013cd | |
| 50 mM | 1,88ab | 12,40ab | 0,023b | 0,010de | |
| 75 mM | 1,50bc | 7,75c | 0,018c | 0,008ef | |
| 100 mM | 1,06c | 7,21c | 0,015c | 0,005ef | |
| 150 mM | 1,00c | 1,00d | 0,008d | 0,003f | |

Besi ortamında bulunan tuz oranı arttıkça sürgün/kök boy oranı dışındaki parametrelerde 25 mM NaCl uygulamasına kadar ciddi bir düşüş görülmezken, 50 mM NaCl uygulamasından sonra sürgün/kök boy oranı dışındaki tüm parametrelerde daha fazla bir düşüş eğilimi görülmektedir. En yüksek tuz uygulamasının olduğu 150 mM tuz uygulamasında sürgün/kök boy oranı dışında tüm parametrelerde en düşük değerler ölçülmüştür. Kontrol grubunda ise sürgün/kök boy oranı dışındaki tüm parametreler açısından en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Yani 50 mM tuz uygulamasından sonra tuz stresi bitkide etkisini göstermeye başlamıştır.

Kök uzunluğu, sürgün uzunluğuna göre artan tuz miktarından çarpıcı olarak daha fazla etkilenmiştir. 50 mM tuz uygulamasında kök uzunluğu, kontrol grubuna göre %70 oranında düşerken, sürgün uzunluğu ise %30 oranında düşmüştür. En yüksek tuz uygulaması 150 mM NaCl'da sürgün uzunluğu, kontrol grubuna göre %60 oranında düşerken, kök uzunluğu yaklaşık %83 oranında düşmüştür.

Sürgün/kök uzunluğu oranında 100 mM'a doğru artan bir eğilim görülürken, 150 mM'da ise ani bir düşüş görülmüştür. Bu düşüğe neden olan şey ise yüksek konsantrasyonda tuzun kök gelişimi şiddetli oranda etkilemiş olmasıdır. 150 mM NaCl, bitkinin tuz stresinden en şiddetli etkilendiği konsantrasyon olmuştur.

Sürgün ve kök sayısı ise tuz oranının artması ile düşmüştür. En yüksek tuz uygulamasında ise sürgün gelişimi ve kök gelişimi çok şiddetli etkilenmiştir. Yan kök gelişimi 150 mM tuz uygulamasında tamamen durmuştur. Bu uygulamada tüm bitkilerde sadece tek bir kök gelişimi gözlenmiştir. 150 mM tuz uygulamasında, tüm tekraralarda sadece tek bir sürgün gelişimi görülmüştür.

Sürgün yaş ağırlığı ve kök yaş ağırlığı açısından incelendiğinde tuz uygulaması başlar başlamaz en düşük tuz uygulamasında (6,25 mM NaCl), sürgün yaş ağırlığı yaklaşık %21 oranında, kök yaş ağırlığı ise yaklaşık %56 oranında düşmüştür. Lakin tuz konsantrasyonu 12,5 mM'a yükseldiğinde sürgün yaş ağırlığında %20, kök yaş ağırlığında ise %46 oranında düşüş görülmüştür. 12,5 mM'dan sonra sürgün yaş ağırlığı açısından doğrusal olarak bir düşüş gerçekleşirken, 75 mM tuz uygulamasından sonra kök yaş ağırlığında doğrusal olarak bir düşüş gerçekleşmiştir. Sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu ilişkisine benzer olarak, kök yaş ağırlığı da sürgün yaş ağırlığına göre artan tuz uygulamasından daha fazla etkilenmiştir. 150 mM tuz uygulamasında bitki sürgün yaş ağırlığında %79, kök yaş ağırlığında ise %95 oranda düşüş gerçekleşmiştir.

12,5 mM tuz uygulamasından sonra sürgün ve kök kuru ağırlığında doğrusal bir düşüş gözlenmiştir. 6,25 ve 12,5 mM tuz uygulamalarında sürgün kuru ağırlığı %7 oranında, kök kuru ağırlığında ise sırası ile %37 ve %22 oranında düşüş gerçekleşmiştir.

50 mM tuz uygulamasında sürgün kuru ağırlığında %18, kök kuru ağırlığında ise kontrol grubuna göre %63 oranında düşüş gerçekleştiği görülmüştür. 100 mM tuz uygulamasında ise, sırası ile %47 ve %82 oranında düşüş gerçekleşmiştir. En yüksek tuz uygulaması olan 150 mM NaCl tuz uygulamasında ise yaklaşık %82 (sürgün kuru ağırlığı) ile %90 (kök kuru ağırlığı) oranında düşüş gerçekleşmiştir. Temel büyüme parametre analiz sonuçlarına bakıldığında bu tez çalışmasında kullanılan siyah nohut bitkisinin kökü sürgüne göre daha fazla etkilenmiştir. Literatürde benzer şekilde

sonuçlar elde ve bu bulguyu destekleyen çalışmalar bulunmaktadır (Singla ve Garg, 2005; Turner ve ark., 2013; Atieno ve ark., 2017). Fakat bu her zaman geçerli değildir. Sürgünün tuz stresinden daha fazla etkilendiği durumlar da görülmüştür (Munns ve Tester, 2008). Ayrıca *Cicer arietinum* L. cv. Gökçe çeşidinde yapılan tuz denemesi buna örnek verilebilir. Gökçe nohut çeşidi su kültür ortamında 3 farklı konsantrasyonda (0,1 M, 0,2 ve 0,5 M NaCl) tuz stresine maruz bırakılmıştır. Hoagland solüsyonuna aktarıldıktan 12 ve 14 gün sonra hasat edilen Gökçe nohut çeşidinin temel büyüme parametreleri kaydedilmiştir. Eyidogan ve Öz (2007)'un gerçekleştirdiği bu çalışmada Gökçe nohut çeşidinin yaprakları, köküne göre tuz stresinden daha çok etkilenmiştir. Elde edilen bu bulgu, tez çalışmasında elde edilen sonucun tam tersi durumundadır. Temel büyüme parametrelerinde kaydedilen verilerin analiz sonucundan siyah nohut bitkisinde kök, sürgüne göre daha şiddetli oranda tuz stresinden etkilenmiştir.

İki desi tipi (CSG 8962 ve DCP 92-3) ve iki kabuli tipindeki (CSG 9651 ve BG 267) nohut çeşidinin tuz stresine olan tolerans düzeylerinin araştırıldığı çalışmada kabuli tipte olan nohut çeşitleri desi tipinde olan nohut çeşitlerine göre daha tolerant oldukları bulunmuştur (Singla ve Garg, 2005). 8 dS/m'ye tuz uygulaması yapılmış olan çalışmada kök kuru ağırlığındaki düşüş, sürgün kuru ağırlığına göre daha fazla olmuştur. Tuz stresi varlığında kök gelişimi, sürgün gelişimine göre daha fazla etkilenmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan desi tipinde olan siyah nohut çeşidi ise kabuli çeşidine göre tuz stresine daha dayanıklı olduğu gösterilmiştir.

Beyaz nohut çeşitlerinden farklı olarak siyah nohut çeşitlerinde kök gelişimi daha yoğun olarak görülmektedir. Tüm bu parametreler değerlendirildiğinde bitki, kendini tuz stresinin toksik etkisinden koruyabilmek için kök gelişiminde ve sayısında azaltmaya gittiği bariz görülmektedir. Özellikle uzunluk ve kuru ağırlık parametreleri açısından inceleme gerçekleştirildiğinde kök örneklerinden alınan değerlerin sürgünden alınan değerlere göre çok daha düşüktür.

Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen bu çalışma, arazide de %100 benzer sonuçlar gösterecek anlamına gelmemektedir. Tuz stresinin özellikle çimlenme üzerinde ölümcül etkisi görülebilmektedir. Assadian ve Miyamoto (1987), yaptıkları saksı denemesinde sulama suyunun EC değeri 7.6 dS/m olmasına rağmen, toprak yüzeyindeki EC değerinin 32 dS/m olduğunu belirtmiştir (Esechie ve ark., 2002). Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen bu çalışmalar bu sebeplerden dolayı sera veya tarla şartlarında yetiştirilip görülmesi gerekmektedir. 245 nohut aksesyonu ile tuz stresi

denemesi yapan Atieno ve ark. (2017) tuzlu koşullar altında sera ve tarla denemelerinin birbirine benzer sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Tuz stresi ayrıca üremeye ilişkili organların gelişimini de olumsuz etkilemektedir, örneğin tuz stresine hassas olan nohut çeşitlerinde polen canlılığı olumsuz etkilenmektedir. Bu durum tohum gelişimine ket vurmaktadır, bu yüzden tohum kabuklarının içi boş kalmaktadır. Tuz stresine tolerans gösterebilen nohut çeşitlerinde tuz stresi varlığında tohumlarında daha düşük oranda tuz biriktirebilme ve tuz stresine rağmen yüksek sayıda tohum üretebilme aranan özelliklerdendir. Bu tez çalışmasında sürgün, köke göre tuz stresinden daha düşük oranda etkilenmiştir. Turner ve ark. (2013)'nın belirtmiş olduğu bu parametreler ile değerlendirebilmek için siyah nohut çeşidini en azından sera ortamında farklı tuz konsantrasyonlarında olan topraklara ekimi yapıp bitki tane verinceye kadar yetiştirilmesi faydalı olacağı düşünülmektedir.

In vitro koşullarda yapılan bu tuz stresi denemesinde birtakım sorunlar da yaşanmıştır. Tuz eklenmiş besi yerleri tam anlamıyla donmamıştır. Magenta içinde besi yerleri kaydığından dolayı steril nohutların ekimi biraz zor olmuştur. Besi yerinin tam donmamış olmaması ise bitkilerin büyümesini olumsuz etkilememiştir.

Siyah nohutla karşılaştırma yapmak için tescil edilmiş olan beyaz nohut çeşidi kullanılmıştır. Çalışmanın başında mutasyon ıslahı yolu ile geliştirilmiş olan TAEK tohumları ile deneme gerçekleştirilmiştir. Fakat *in vitro* koşullarda tohumların çimlenmesinde sıkıntı yaşandığı için başka bir beyaz nohut çeşidi olan Er-99 adlı çeşide geçilmiştir.

4.2.4. *In vitro* koşullarda NaCl uygulanmış siyah nohutta element analizi (Na, K ve Cl)

Desi tipi siyah nohut çeşidinde, farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilmiş bitkinin kök ve gövdesindeki Na^+ , K^+ ve Cl^- içeriklerini öğrenmek için element analizi yapılmıştır. Tez çalışmasında biyolojik materyal açısından sıkıntı yaşandığı için tekrerrülde bulunan bitkiler birleştirilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Böylece element analizi için gerekli olan miktara erişilebilmiştir. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde iyon düzenlemesi önemli bir yer kaplamaktadır. Bitki kökleri aracılığı ile fazla tuzun topraktan bitkiye geçişini kısıtlıyor veya kökten gövdeye aktararak gövdede bulunan dokularda Na^+ iyonlarını dağıtmakta veya vakuoller içinde biriktirmektedir (Munns ve ark., 2003).

Kurutulmuş ve öğütülmüş bitki kök ve gövdesinden elde edilen element analizi sonuçları Çizelge 4.6.'da verilmiştir. Tuz konsantrasyonu arttıkça bitkide sürgünün, köke göre daha fazla Na^+ ve Cl^- birikimi olduğu tespit edilmiştir. Kökte K^+ içeriğinde büyük bir değişiklik görülmezken, sürgünde ise azalma olduğu görülmüştür. 60 mM NaCl'de yetiştirilmiş olan nohut çeşitlerinin potasyum içeriklerindeki farklılıklar genotipe bağlı olarak ortaya çıkmıştır (Karakullukçu ve Adak, 2008). Aynı çalışmada kontrol ve 60 mM NaCl koşullarında toprak üstü aksamında ölçülen potasyum içeriğinde çok büyük bir değişiklik görülmemiştir, fakat kökte artan tuz konsantrasyonu ile K^+ içeriğinde de artış görülmüştür. Tuz konsantrasyonu artıkça, yaprakta K^+ birikimi artmaktadır (Turner ve ark., 2013; Atieno ve ark., 2017). Fakat bu tez çalışmasında K^+ birikiminde önemli bir değişiklik görülmemiştir. Tuz stresi olarak 40 mM NaCl kullanılan çalışmada Atieno ve ark. (2017) nohut bitkisinin genç yapraklarında biriken Na^+ konsantrasyonu, tuzsuz ortamda yetişmiş olan bitkiye kıyasla %67 oranında daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.6. Bitki kök ve gövdesinden elde edilen element analizi sonuçları

| NaCl (konsantrasyonu) | K (%) | | Na (ppm) | | Cl (%) | |
|--------------------------|-------|--------|----------|--------|--------|--------|
| | Kök | Sürgün | Kök | Sürgün | Kök | Sürgün |
| Kontrol | 2.53 | 2.22 | 0.027 | 0.019 | 2.8 | 1.2 |
| 6,25 mM | 2.7 | 1.98 | 0.050 | 0.137 | 5.4 | 4.5 |
| 12,5 mM | 2.4 | 1.97 | 0.073 | 0.291 | 7.7 | 6.8 |
| 25 mM | 2.48 | 2.12 | 0.0581 | 0.734 | 9.8 | 7.9 |
| 50 mM | 2.29 | 1.71 | 0.442 | 1.161 | 9.2 | 13.6 |
| 75 mM | 2.77 | 1.72 | 0.522 | 1.627 | 16.8 | 25.9 |
| 100 mM | 2.55 | 1.91 | 0.618 | 1.980 | 21.1 | 28.5 |

Tuz stresi varlığında sadece Na^+ değil Cl^- iyonları da bitkide toksik etki yaratabilmektedir. Bitkinin hem kökünde hem de sürgününde Na^+ iyonlarında doğrusal bir artış görülmüştür. Fakat en düşük tuz uygulamalarında klor iyonları kökte sürgüne göre daha fazla iken, bu eğilim 50 mM tuz uygulaması ile birlikte sürgünde köke göre daha fazla klor iyonu içermesi yönünde değişmiştir. Bitkide mobil bir element olan klor iyonu, kökün tuz stresinden ciddi bir şekilde etkilendiğinin görüldüğü 100 ve 150 mM NaCl uygulamalarında sürgünde bulunan klor iyonu, köke göre çok daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Tuz tolerans çalışmalarında genellikle klor iyonlarından ziyade sodyum toksisitesine bakılmaktadır. Bitki eğer gövdesinde sodyum iyonlarını dağıtımını

kontrol edip kendini sodyum iyonlarının toksik etkisinden koruyabilirse, bu aşamada klor iyonları gövdede daha fazla birikip toksik etki oluşturabilmektedirler. Bitki eğer tolerant ise anyon ve katyon taşıyıcı proteinlerinin de yardımı ile toksisiteye neden olan iyonların alımı kısıtlanmakta veya bitki bünyesinde dağıtılabilmektedir (Munns ve ark., 2003; Munns ve Tester, 2008).

4.2.5. *In vitro* koşullarda NaCl uygulanmış siyah nohutun tuz tolerans yüzdesi

Karakullukçu ve Adak (2008)'nin belirtmiş olduğu formüle göre tuz uygulaması yapılmış olan bitkinin kuru ağırlığının, tuz uygulanmamış kontrol grubundaki bitkinin kuru ağırlığına bölünmesi ile tuz tolerans yüzdesi hesaplanmıştır. Çizelge 4.7.'de hem köke göre hem de sürgüne göre tuz tolerans yüzdeleri tüm uygulamalar bazında hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. Siyah nohut bitkisinde kök ve sürgünde tuz tolerans yüzdeleri (%)

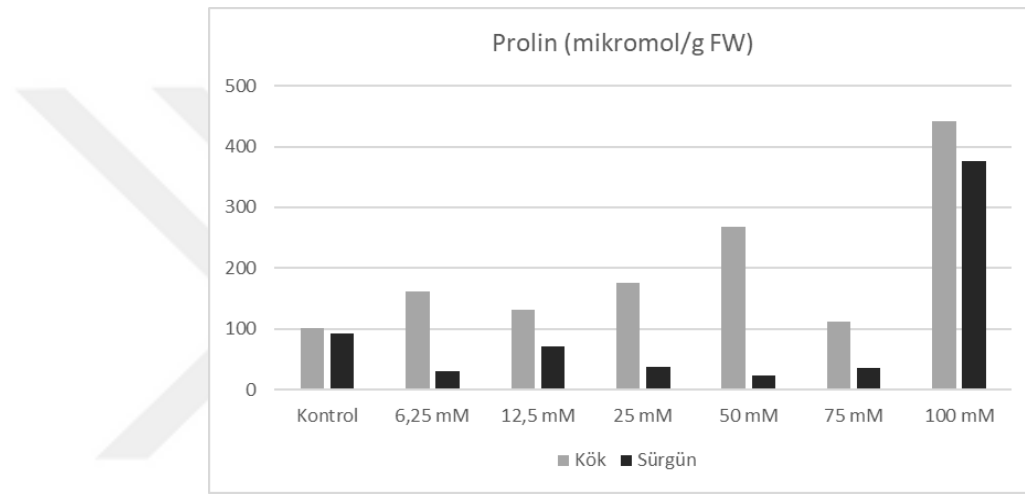
| | 6,25 mM | 12,5 mM | 25 mM | 50 mM | 75 mM | 100 mM | 150 mM |
|--------|---------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Sürgün | 92.86 | 92.86 | 85.71 | 82.14 | 64.29 | 53.57 | 28.57 |
| Kök | 62.96 | 77.78 | 48.15 | 37.04 | 29.63 | 18.52 | 11.11 |

Formülün alınmış olduğu çalışmada tuz stresi olarak sadece 60 mM NaCl kullanılıp farklı genotipler arasında tolerans çeşitliliğine bakılmıştır. Fakat bu çalışmada ise birden fazla tuz uygulaması ve tek bir genotip olarak siyah nohut bitkisi kullanılmıştır. 60 mM NaCl koşulları altında en yüksek tuz tolerans yüzdesi Canitez 87 nohut çeşidinde %88.19, en düşük tuz tolerans yüzdesi ise %59.63 olarak Menemen 97'de verilmiştir. Bu çalışmada 50 mM tuz uygulaması sonucunda sürgünde tuza tolerans yüzdesi %82.14 çıkmıştır. Referans olarak verilen çalışma sera koşullarında gerçekleştirilmiştir. Siyah nohut bitkisi sera koşullarında ekimi yapıp tuz denemesi gerçekleştirilebilirse tuza tolerans durumu hakkında daha net konuşulabilir. Elde edilen bu veriler ışığında kökün, sürgüne göre tuz stresinden daha fazla etkilenmiş olduğu yeniden görülmüştür.

4.2.6. *In vitro* koşullarda NaCl uygulanmış siyah nohutta prolin konsantrasyonun ölçülmesi

Amino asit olan prolin, bir ozmoprotektan olarak özellikle tuz ve kuraklık streslerine maruz kalan bitkilerde artmaktadır. Prolinin arttığı bitkilerde bu streslere karşı daha iyi tolerans cevabı oluşmaktadır (Kishor ve ark., 2005).

Bu tez çalışmasında biyolojik materyal miktarı yeterli olmadığı için prolin miktarı tuz uygulamalarından tek tekerrürlü olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Farklı tuz konsantrasyonlarında siyah nohut çeşidinde kök ve sürgünde prolin konsantrasyonları

Siyah nohut bitkisinin kökleri, sürgüne göre tuz stresinden daha şiddetli şekilde etkilenmiştir. Prolin, genellikle bitkilerde stres dozunun artması ile arttığı için bitkinin kök ve sürgünlerinde buna benzer bir şekilde bir artış beklenmiştir. Fakat köklerde sürgüne göre daha fazla prolin artışı gerçekleşmiştir. Buna sebep olarak ise bu tez çalışmasının *in vitro* koşullarda gerçekleşmesinden dolayı böyle bir sonuçla karşılandığı düşünülmektedir. Çünkü prolin metabolizması ayrıca karbonhidratlardan da etkilenmektedir. Yani besi ortamında bulunan sukroz prolin konsantrasyonunun artmasına yardımcı olmaktadır (Balibrea ve ark., 1997). Kökte, sürgüne göre daha fazla protein birikiyor olmasının bir sebebi de prolin taşıyıcı proteinlerinin yardımı ile floemden köke prolinin prolin taşıyıcılarının yardımı ile taşınması olabilir (Kavi Kishor ve Sreenivasulu, 2014). Bu yüzden bu bitkinin ayrıca geniş ölçekte (sera, tarla) tuz stresine olan cevabı araştırılmalıdır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, topraklarda yaygın olarak görüldüğü için tuz kaynağı olarak NaCl kullanılmıştır. 50 mM tuza kadar dayanıklılık gösteren siyah nohut bitkisi, özellikle son dönemde Türkiye’de artan tuzlu topraklarda ekim nöbeti bitkisi olarak değerlendirilmesi mümkündür. Bu çalışma *in vitro* ortamda gerçekleştirildiği için siyah nohut bitkisinin ayrıca sera ve tarla koşullarında veya su kültürü ortamında farklı oranlarda tuza tabii tutularak çalışılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Yüksek tuz konsantrasyonu bitkinin çimlenmesine önemli düzeyde ket vurduğu için 150 mM uygulamasından element analizi için yeterli miktarda örnek çıkmamıştır. Bu noktada çalışmanın tekrarlanması durumunda kullanılacak tohum ve tekrar sayısına dikkat etmek gerekmektedir. Siyah nohut bitkisinin KCl, MgCl gibi tuz kaynakları ile çalışmanın tekrar edilmesi de bu siyah nohut genotipi hakkında daha fazla bilgiye erişmemize yardımcı olacaktır.

In vitro ortam tuz tolerans düzeyleri karşılaştırılan siyah ve beyaz nohut bitkilerinden siyah nohut bitkisi en çok 150 mM’a kadar tuz stresine tolerans gösterirken, 200 mM NaCl içeren ortamda ise herhangi bir bitki canlılığı görülmemiştir. Beyaz nohut bitkilerinde ise 75 mM’a kadar çimlenme belirtisi gösterirken, 50 mM’dan sonra sürgün çıkışı tespit edilmemiştir.

Element analizi sonuçlarına göre tuz konsantrasyonu arttıkça bitkide sodyum ve klor iyonlarında da artış görülmüştür. Potasyum açısından bakıldığında ise genel bir artış veya azalış görülmemiştir. Sodyum ve klor iyonlarının artışı literatürde verilen sonuçlar ile uyumludur. Fakat potasyum için elde edilen sonuçlar uyumlu değildir. Çalışmanın tekrar edilip, yeniden analiz yapılması elde edilen sonuçların güvenilirliğini artıracaktır.

Bitki kök ve sürgünlerinde prolin analiz sonuçlarına bakıldığında ise kökte, sürgüne göre daha yüksek oranda prolin ölçülmüştür. Temel büyüme parametrelerden elde edilen sonuçlara dayanarak sürgünde prolin miktarının daha fazla olması beklenmiştir. Fakat tam tersi bir sonuç elde edilmiştir. Çalışmanın *in vitro* ortamda gerçekleşmesinden dolayı bu şekilde bir sonuç elde edilmiş olabileceği düşünülmektedir. Analizin tek tekerrürlü olarak gerçekleşmesinden dolayı hem *in vitro* koşullarda hem de sera/tarla koşullarından çalışmanın yeniden gerçekleştirilip, prolin konsantrasyonunun ölçülmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında ayrıca siyah nohut bitkisinde farklı LED ışıkları ve farklı sürelerde hidropriming uygulamalarının interaksyonu incelenmiştir. LED ışıkları ve priming uygulamalarının interaksyonu, bu uygulamaların tek başlarına olan etkisine kıyasla daha fazla parametrede önemli farklılıklar göstermiştir. Kırmızı ışığın tek başına uygulandığı durumlarda sürgün ve kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök sayısı ve sürgün/kök boy oranı gibi parametrelerde en yüksek düzeye ulaşmıştır. Hidropriming uygulamalarında en göze çarpan bulgu ise özellikle sürgün uzunluğunun artışına pozitif etki göstermesi olmuştur. İnteraksiyon halinde ise genel olarak parametreler açısından doğrusal bir artış veya azalış tespit edilmemiştir.

Siyah nohut bitkisinin, beyaz nohuta kıyasla göstermiş olduğu hızlı çimlenme kabiliyeti göz önüne alındığında bu bitkinin farklı priming yöntemleri uygulanarak bitkinin büyüme ve gelişmesinin incelenmesine, fotosentez verimi açısından incelenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Siyah nohutla çalışmanın, beyaz nohutla çalışmaya olan önemli avantajlarından biri de kök gelişiminin daha net görülmesidir. Farklı priming uygulamalarına siyah nohut maruz bırakılarak su kültürü ortamında, sera veya arazi ortamında bitki yetiştirilerek hidroprimingin etkilerinin incelenmesine yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Gelecekte gerçekleşecek olan çalışmalarda siyah nohut bitkisinin tuz tolerans mekanizmasını anlamak için bitkinin tane vermeye başladığı safhaya kadar ilerlemek tuz stresine olan toleransını daha iyi anlamak adına katkıda bulunabilir. Ayrıca bitkide kök, gövde, yaprak ve danelerdeki tuz birikiminin öğrenilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma *in vitro* koşullar altında gerçekleştirildiği için bitki doğal büyüme sınırlarına erişmemiştir. Bitkilerde stres mekanizmasını anlamının pek çok yolu bulunmaktadır. Bunlardan enzim aktiviteleri, fotosentez aktivitesi, osmoprotektanların birikimi parametreleri açısından bitkinin incelenmesi faydalı olabileceği değerlendirilmiştir. Bitkilerde tuz toleransını artırmak için çok sayıda taşıyıcı proteinler çalışmaktadır. Mevcut bilinen taşıyıcı proteinlerden yola çıkarak, siyah nohut bitkisinde de bu proteinleri kodlayan genlerin tespiti moleküler düzeyde olan bilgimizi artırmaya yardımcı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aasim, M., Day, S., Rezaei, F. ve Hajyzadeh, M., 2013, Multiple shoot regeneration of plumular apices of chickpea, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37 (1), 33-39.
- Abdallah, N. A., Moses, V. ve Prakash, C. S., 2014, The impact of possible climate changes on developing countries, *GM Crops & Food*, 5 (2), 77-80.
- Adolf, V. I., Jacobsen, S.-E. ve Shabala, S., 2013, Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), *Environmental and Experimental Botany*, 92, 43-54.
- Aldemir, Ö., 2014, Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Genotiplerinin Çimlenme ve Fide Döneminde Tuza Toleransı, *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Alexandratos, N. ve Bruinsma, J., 2012, World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision, *ESA Working paper Rome, FAO*.
- Anonim, 2018, TÜİK, <http://www.tuik.gov.tr/> Ziyaret Tarihi: [11 Temmuz 2018].
- Anonymous, 2015, FAO Report: State of Food Insecurity in the World, <http://www.fao.org/3/a-i4671e.pdf> Ziyaret Tarihi: [22 Temmuz 2017].
- Anonymous, 2018, FAOSTAT <http://www.fao.org/faostat/en/#data> Ziyaret Tarihi: [11 Temmuz 2018].
- Ashraf, M. ve Iram, A., 2002, Optimization and influence of seed priming with salts of potassium or calcium in two Spring wheat cultivars differing in salt tolerance - at the initial growth stages [*Triticum aestivum* L.], *Agrochimica*, v. 46 (1-2), 47-55.
- Assadian, N. W. ve Miyamoto, S., 1987, Salt Effects on Alfalfa Seedling Emergence 1, *Agronomy journal*, 79 (4), 710-714.
- Astolfi, S., Marianello, C., Grego, S. ve Bellarosa, R., 2012, Preliminary Investigation of LED Lighting as Growth Light for Seedlings from Different Tree Species in Growth Chambers, 2012, 40 (2), 8.
- Atici, Ö., Açar, G. ve Battal, P., 2005, Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress, *Biologia Plantarum*, 49 (2), 215-222.
- Atieno, J., Li, Y., Langridge, P., Dowling, K., Brien, C., Berger, B., Varshney, R. K. ve Sutton, T., 2017, Exploring genetic variation for salinity tolerance in chickpea using image-based phenotyping, *Scientific Reports*, 7 (1), 1300.
- Babaoğlu, M., 2004, Nohut ve Tarımı, <https://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=61> Ziyaret Tarihi: [11 Temmuz 2018].
- Balibrea, M., Rus-Alvarez, A., Bolarin, M. ve Perez-Alfocea, F., 1997, Fast changes in soluble carbohydrates and proline contents in tomato seedlings in response to ionic and non-ionic iso-osmotic stresses, *Journal of Plant Physiology*, 151 (2), 221-226.
- Bendix, A., 2018, Las Vegas has a new \$30 million vertical farm that aims to produce over 1 million pounds of produce every year — take a look, Business Insider, <https://www.businessinsider.com/las-vegas-vertical-farm-bringing-opportunity-to-the-strip-2018-8> Ziyaret Tarihi: [24 Ağustos 2018].
- Day, S., Aasim, M. ve Bakhsh, A., 2016, Effects of preconditioning, plant growth regulators and KCl on shoot regeneration of peanut (*Arachis hypogea*), *Journal of Plant and Animal Sciences*, 26, 294-300.

- Day, S. ve Aasim, M., 2017, *In Vitro* Screening of Preconditioned Plumular Apices Explants of Peanut (*Arachis Hypogaea*) to Different Salts Concentration, *FEB-FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN*, 4671.
- Elsheikh, E. A. E. ve Wood, M., 1990, Salt effects on survival and multiplication of chickpea and soybean rhizobia, *Soil Biology and Biochemistry*, 22 (3), 343-347.
- Eruz, E., 1979, Toprak tuzluluğu ve bitkiler üzerindeki genel etkileri, *Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University| İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 112-120.
- Esechie, H., Al-Saidi, A. ve Al-Khanjari, S., 2002, Effect of sodium chloride salinity on seedling emergence in chickpea, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188 (3), 155-160.
- Eyidogan, F. ve Öz, M. T., 2007, Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings, *Acta Physiologiae Plantarum*, 29 (5), 485.
- Flowers, T. J. ve Colmer, T. D., 2015, Plant salt tolerance: adaptations in halophytes, *Annals of Botany*, 115 (3), 327-331.
- Gairola, K., Nautiyal, A. ve Dwivedi, A., 2011, Effect of temperatures and germination media on seed germination of *Jatropha curcas* Linn, *Advances in bio research*, 2 (2), 66-71.
- Ghassemi, F., Jakeman, A. J. ve Nix, H. A., 1995, Salinisation of land and water resources. Human causes, extent, management and case studies.
- Gülümser, A., 2016, Dünyada ve Türkiye’de Yemelik Dane Baklagillerin Durumu, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (ÖZEL SAYI-1), 292-298.
- Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P. ve Sodhi, P. S., 1999, On-Farm Seed Priming in Semi-Arid Agriculture: Development and Evaluation in Maize, Rice and Chickpea in India Using Participatory Methods, *Experimental Agriculture*, 35 (1), 15-29.
- Harris, D., Rashid, A., Miraj, G., Arif, M. ve Shah, H., 2007, ‘On-farm’ seed priming with zinc sulphate solution—A cost-effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers, *Field Crops Research*, 102 (2), 119-127.
- HarvestPlus, 2017, Nutrition, <http://www.harvestplus.org/what-we-do/nutrition> Ziyaret Tarihi: [2 Eylül 2017].
- ICARDA, 2018, Genebank, <https://www.icarda.org/research-sub/biodiversity-and-its-utilization> Ziyaret Tarihi: [26 Ağustos 2018].
- Johnson, C. ve Ulrich, A., 1959, Analytical methods, *Calif. Expt. Sta. Bull*, 766, 33-35.
- Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L. ve Chibbar, R. N., 2012, Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review, *British Journal of Nutrition*, 108 (S1), S11-S26.
- Kacar, B. ve İnal, A., 2008, Bitki analizleri, Nobel Yayın Dağıtım, p.
- Kantar, F., Elkoca, E., Ögütçü, H. ve Algur, Ö. F., 2003, Chickpea Yields in Relation to Rhizobium Inoculation from Wild Chickpea at High Altitudes, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 189 (5), 291-297.
- Karakullukçu, E. ve Adak, M. S., 2008, Bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinin tuza toleranslarının belirlenmesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (4), 313-319.
- Kavi Kishor, P. B. ve Sreenivasulu, N., 2014, Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?, *Plant, Cell & Environment*, 37 (2), 300-311.
- Khalid, M., Iqbal, H., Tahir, A. ve Ahmad, A., 2001, Germination potential of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under saline conditions, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4 (4), 395-396.

- Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R., Laxmi, P. S., Naidu, K., Rao, K., Rao, S., Reddy, K., Theriappan, P. ve Sreenivasulu, N., 2005, Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance, *Current science*, 424-438.
- Knights, E. J., Açıkgöz, N., Warkentin, T., Bejiga, G., Yadav, S. S. ve Sandhu, J. S., 2007, Area, Production, and Distribution, In: Chickpea breeding and management, Eds: Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W. ve Sharma, B., *Wallingford: CABI*, p. 169.
- Koç, N., 2017, Farklı tuz konsantrasyonlarının bazı ayırık türlerinde (*Agropyron cristatum*, *A. desertorum* ve *A. elongatum*) bitkisel ve verim unsurları üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Larher, F., Quemener, B. ve Hervochon, P., 1991, L'ajustement osmotique pendant la vie végétative de *Cicer arietinum* L. cultivé en présence de chlorure de sodium, *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie*, 312 (1), 55-61.
- Meyveci, K., Avcı, M., Karaçam, M., Sürek, D., Karakurt, E., Yürürer, A. Ş. ve Özdemir, B., 2005, Orta Anadolu Bölgesinde Ekim Nöbeti Araştırmaları Dörtlü Ekim Nöbeti, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 14 (1-2).
- Munns, R., Rebetzke, G. J., Husain, S., James, R. A. ve Hare, R. A., 2003, Genetic control of sodium exclusion in durum wheat, *Australian Journal of Agricultural Research*, 54 (7), 627-635.
- Munns, R. ve Tester, M., 2008, Mechanisms of Salinity Tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59 (1), 651-681.
- Murashige, T. ve Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum*, 15 (3), 473-497.
- Nawaz, J., Hussain, M., Jabbar, A., Nadeem, G. A., Sajid, M., Subtain, M. U. ve Shabbir, I., 2013, Seed priming a technique, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6 (20), 1373.
- Özcan, H., Turan, M. A., Koç, Ö., Çikili, Y. ve Taban, S., 2000, Growth and Variations in Proline, Sodium, Chloride, Phosphorus and Potassium Concentrations of Chickpea (*Cicer arietinum* L. cvs.) Varieties Under Salinity Stress, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24 (6), 649-654.
- Öztürk, M., 2011, Türkiye *Cicer* L.(nohut) cinsinin morfolojik, palinolojik, sitotaksonomik, moleküler filogenetik kapsamda revizyonu ile tohum proteini ve element analizleri yönünden incelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Pitman, M. G. ve Läuchli, A., 2002, Global Impact of Salinity and Agricultural Ecosystems, In: Salinity: Environment - Plants - Molecules, Eds: Läuchli, A. ve Lüttge, U., *Dordrecht: Springer Netherlands*, p. 3-20.
- Rajakumar, R., 2013, A study on effect of salt stress in the seed germination and biochemical parameters of rice (*Oryza sativa* L.) under *in vitro* condition, *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3 (6), 20-25.
- Ranal, M. A., Santana, D. G. d., Ferreira, W. R. ve Mendes-Rodrigues, C., 2009, Calculating germination measurements and organizing spreadsheets, *Brazilian Journal of Botany*, 32 (4), 849-855.
- Rao, A. Q., ud Din, S., Akhtar, S., Sarwar, M. B., Ahmed, M., Rashid, B., Khan, M. A. U., Qaisar, U., Shahid, A. A. ve Nasir, I. A., 2016, Genomics of Salinity Tolerance in Plants, In: Plant Genomics, Eds: InTech, p.

- Redden, R. J. ve Berger, J. D., 2007, History and Origin of Chickpea, In: Chickpea breeding and management, Eds: Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W. ve Sharma, B., *Wallingford: CABI*, p. 1-13.
- Rengasamy, P., 2006, World salinization with emphasis on Australia, *Journal of Experimental Botany*, 57 (5), 1017-1023.
- Roorkiwal, M., von Wettberg, E. J., Upadhyaya, H. D., Warschefsky, E., Rathore, A. ve Varshney, R. K., 2014, Exploring Germplasm Diversity to Understand the Domestication Process in *Cicer* spp. Using SNP and DArT Markers, *Plos One*, 9 (7), e102016.
- Ruiz, K. B., Biondi, S., Martínez, E. A., Orsini, F., Antognoni, F. ve Jacobsen, S. E., 2016, Quinoa – a Model Crop for Understanding Salt-tolerance Mechanisms in Halophytes, *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 150 (2), 357-371.
- Saraçoğlu, D., 2007, Yabani ve Kültür Nohutlarının Moleküler Genetik Yöntemlerle Karakterizasyonu *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Saxena, M. C. ve Singh, K., 1987, The chickpea, Commonwealth Agricultural Bureaux International, p.
- Sethy, N. K., Shokeen, B., Edwards, K. J. ve Bhatia, S., 2006, Development of microsatellite markers and analysis of intraspecific genetic variability in chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 112 (8), 1416-1428.
- Singla, R. ve Garg, N., 2005, Influence of salinity on growth and yield attributes in chickpea cultivars, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29 (4), 231-235.
- Sokht-Abandani, R. R. ve Ramezani, M. R., 2012, The physiological effects on some traits of osmopriming germination of maize (*Zea mays* L.), rice (*Oryza sativa* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.), *International Journal of Biology*, 4 (2), 132.
- Soltani, E., Ghaderi-Far, F., Baskin, C. C. ve Baskin, J. M., 2015, Problems with using mean germination time to calculate rate of seed germination, *Australian Journal of Botany*, 63 (8), 631-635.
- Tanno, K.-i. ve Willcox, G., 2006, The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium b.p, *Vegetation History and Archaeobotany*, 15 (3), 197-204.
- Taş, İ., Yıldırım, Y. E., Özkay, F. ve Aras, İ., 2013, Konya Ovasında Su Kalitesi Ve Toprak Tuzluluğu.
- Tian, Y., Guan, B., Zhou, D., Yu, J., Li, G. ve Lou, Y., 2014, Responses of Seed Germination, Seedling Growth, and Seed Yield Traits to Seed Pretreatment in Maize (*Zea mays* L.), *The Scientific World Journal*, 2014, 834630.
- Turner, N. C., Colmer, T. D., Quealy, J., Pushpavalli, R., Krishnamurthy, L., Kaur, J., Singh, G., Siddique, K. H. M. ve Vadez, V., 2013, Salinity tolerance and ion accumulation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) subjected to salt stress, *Plant and Soil*, 365 (1), 347-361.
- van der Maesen, L. J. G., 1972, *Cicer* L., a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum* L.), its ecology and cultivation, *Veenman*.
- van der Maesen, L. J. G., Maxted, N., Javadi, F., Coles, S. ve Davies, A. M. R., 2007, Taxonomy of the genus *Cicer* Revisited, In: Chickpea breeding and management, Eds: Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W. ve Sharma, B., *Wallingford: CABI*, p. 41-72.

- Watson, A., Ghosh, S., Williams, M. J., Cuddy, W. S., Simmonds, J., Rey, M.-D., Asyraf Md Hatta, M., Hinchliffe, A., Steed, A., Reynolds, D., Adamski, N. M., Breakspear, A., Korolev, A., Rayner, T., Dixon, L. E., Riaz, A., Martin, W., Ryan, M., Edwards, D., Batley, J., Raman, H., Carter, J., Rogers, C., Domoney, C., Moore, G., Harwood, W., Nicholson, P., Dieters, M. J., DeLacy, I. H., Zhou, J., Uauy, C., Boden, S. A., Park, R. F., Wulff, B. B. H. ve Hickey, L. T., 2018, Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding, *Nature Plants*, 4 (1), 23-29.
- Yorgancılar, M. ve Babaoğlu, M., 2005, Buğday Çeşitlerinde Borun Çimlenme Üzerine Etkisinin *In Vitro* Ve Saksı Şartlarında Araştırılması, *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 19 (35), 109-114.
- Zawude, S. ve Shanko, D., 2017, Effects of salinity stress on chickpea (*Cicer arietinum* L.) landraces during early growth stage, *2017*, 3 (7), 6.

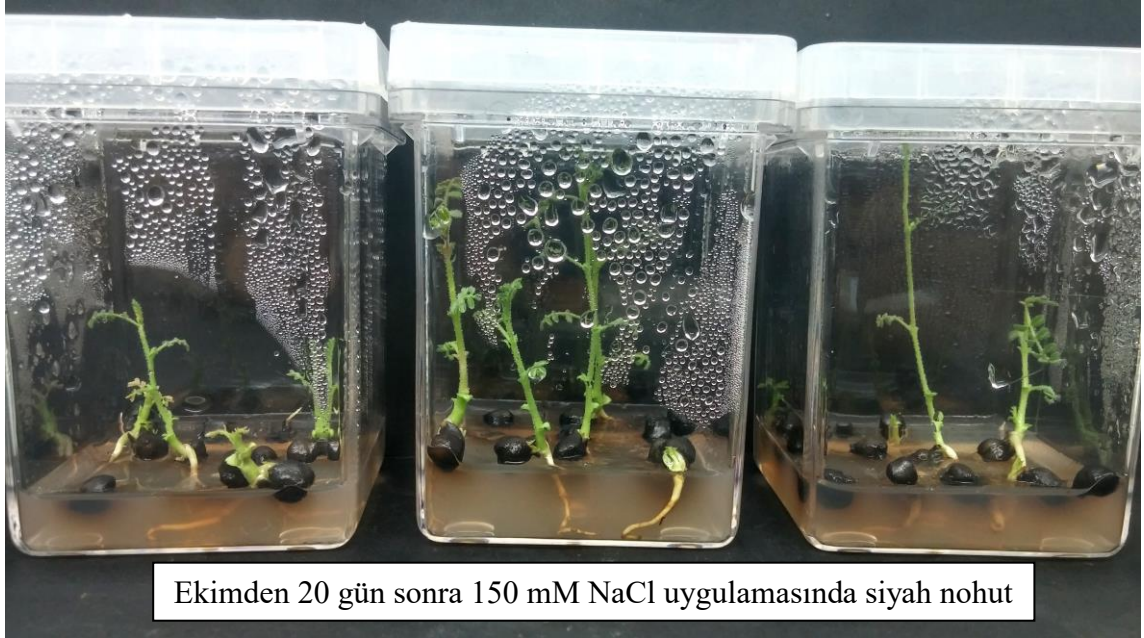
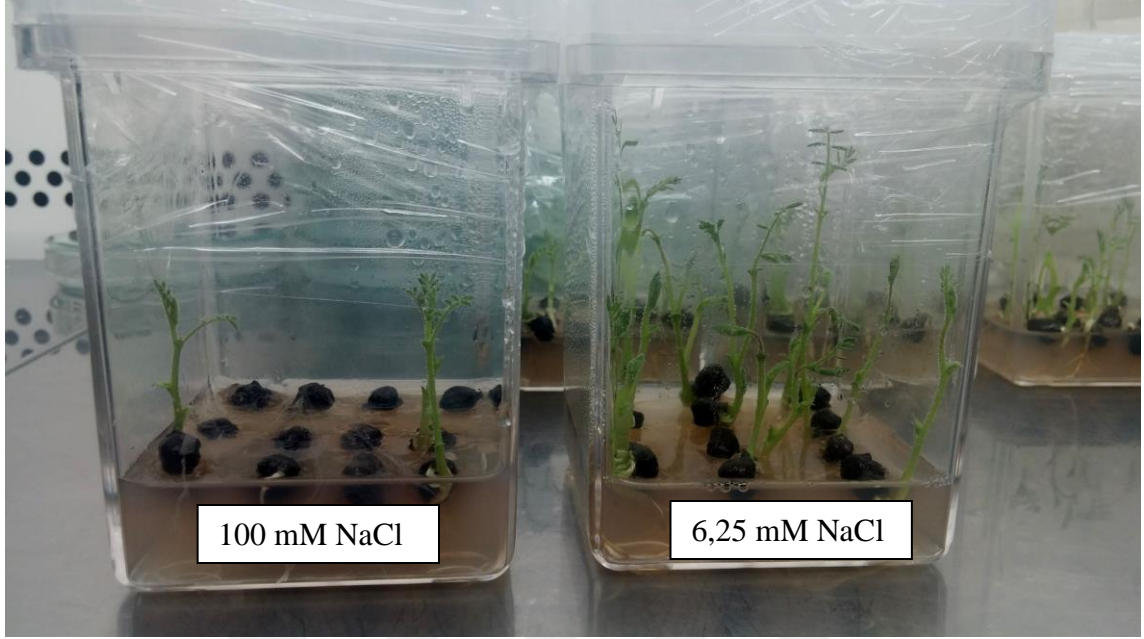


EKLER

EK-1 Siyah nohut bitkisinde farklı ışık ve priming uygulaması sonrasında nohut bitkisinden elde edilen verilerle gerçekleştirilen Duncan Analizi sonucu.

| Işık | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------------|------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | Sürgün Uzunluğu (cm) | Kök Uzunluğu (cm) | Sürgün Yaş Ağırlığı (gram) | Kök Yaş Ağırlığı (gram) | Kök Sayısı | Sürgün Kuru Ağırlığı (gram) | Kök Kuru Ağırlığı (gram) | Sürgün/Kök Uzunluğu Oranı |
| Beyaz | 11,07c** | 11,67b** | 0,448b** | 0,297ös | 18,90b** | 0,040ös | 0,027ös | 0,983b* |
| Mavi | 14,16b | 12,21b | 0,527a | 0,307 | 19,06b | 0,041 | 0,029 | 1,185a |
| Kırmızı | 16,57a | 14,97a | 0,514a | 0,338 | 23,28a | 0,042 | 0,029 | 1,142a |
| Priming | | | | | | | | |
| | Sürgün Uzunluğu (cm) | Kök Uzunluğu (cm) | Sürgün Yaş Ağırlığı (gram) | Kök Yaş Ağırlığı (gram) | Kök Sayısı | Sürgün Kuru Ağırlığı (gram) | Kök Kuru Ağırlığı (gram) | Sürgün/Kök Uzunluğu Oranı |
| Kontrol | 13,78ab** | 12,45ös | 0,486ös | 0,293ös | 18,33ös | 0,040ös | 0,032a* | 1,106ös |
| 1 saat | 13,38b | 13,01 | 0,497 | 0,295 | 20,41 | 0,041 | 0,029ab | 1,047 |
| 2 saat | 13,74ab | 13,15 | 0,499 | 0,320 | 21,06 | 0,041 | 0,027ab | 1,118 |
| 4 saat | 14,88a | 13,16 | 0,503 | 0,348 | 21,85 | 0,042 | 0,026b | 1,142 |
| LED Işık X Priming | | | | | | | | |
| | Sürgün Uzunluğu (cm) | Kök Uzunluğu (cm) | Sürgün Yaş Ağırlığı (gram) | Kök Yaş Ağırlığı (gram) | Kök Sayısı | Sürgün Kuru Ağırlığı (gram) | Kök Kuru Ağırlığı (gram) | Sürgün/Kök Uzunluğu Oranı |
| Beyaz Işık X Kontrol | 11,30ef* | 12,26abc* | 0,451ab* | 0,359ös | 19,50bcd** | 0,047ös | 0,030ab* | 0,989bc** |
| Beyaz Işık X 1 saat | 9,71f | 12,38 abc | 0,447ab | 0,296 | 18,28bcd | 0,040 | 0,028ab | 0,796c |
| Beyaz Işık X 2 saat | 11,91e | 10,40c | 0,525a | 0,296 | 21,22abcd | 0,042 | 0,028ab | 1,142abc |
| Beyaz Işık X 4 saat | 11,38ef | 11,58bc | 0,367b | 0,238 | 16,61cd | 0,036 | 0,022b | 1,006abc |
| Mavi Işık X Kontrol | 14,42bcd | 10,56c | 0,534a | 0,325 | 22,61abc | 0,044 | 0,035a | 1,366a |
| Mavi Işık X 1 saat | 13,95cd | 13,41 abc | 0,508a | 0,330 | 19,56bcd | 0,042 | 0,031ab | 1,053abc |
| Mavi Işık X 2 saat | 13,13de | 11,82bc | 0,485ab | 0,249 | 14,89d | 0,037 | 0,024b | 1,131abc |
| Mavi Işık X 4 saat | 15,24bc | 13,04 abc | 0,582a | 0,324 | 19,17bcd | 0,046 | 0,027ab | 1,187ab |
| Kırmızı Işık X Kontrol | 15,62bc | 16,23a | 0,506a | 0,361 | 21,06abcd | 0,036 | 0,030ab | 0,963bc |
| Kırmızı Işık X 1 saat | 16,47ab | 13,71 abc | 0,502ab | 0,334 | 27,72a | 0,041 | 0,027ab | 1,291ab |
| Kırmızı Işık X 2 saat | 16,20ab | 15,10ab | 0,499ab | 0,339 | 25,11ab | 0,042 | 0,028ab | 1,080 |
| Kırmızı Işık X 4 saat | 18,02a | 14,86ab | 0,547a | 0,319 | 19,22bcd | 0,042 | 0,029ab | 1,233ab |

EK-2 *In vitro* koşullar altında farklı tuz konsantrasyonlarında ekim yapılmış olan siyah nohut bitkisi. Ekimden 11 gün sonra 100 ve 6.25 mM NaCl, 20 gün sonra 150 mM NaCl'de yetiştirilmiş olan siyah nohut bitkisi.



EK-3 *In vitro* koşullarda farklı tuz konsantrasyonlarında ekim yapılmış olan siyah nohut bitkisi (ekimden 15 gün sonra)



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fatma AKIN
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : Meram 20.01.1990
Telefon : 0506 320 52 27
e-mail : akn.fatma@gmail.com

EĞİTİM

| Derece | Adı, İl | Bitirme Yılı |
|------------------|--|--------------|
| Lise | : Selçuklu Anadolu Lisesi, Konya | 2007 |
| Üniversite | : İstanbul Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul | 2012 |
| Yüksek Lisans(1) | Selçuk Üniversitesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Konya | 2018 |
| Yüksek Lisans(2) | Necmettin Erbakan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik, Konya | 2018 |

UZMANLIK ALANI: Moleküler İslah, Bitki Biyoteknolojisi

YABANCI DİLLER: İngilizce

YAYINLAR

Sözlü Bildiriler

1. Bitkilerde Tuz Toleransına Genomik Yaklaşım. Fatma Akın. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD Yüksek Lisans Seminer Sunumu. Konya. 14.09.2017
2. Changes of gene expression profiles of boron stressed *Puccinella distans*. Erdogan Esref HAKKI, Bilgin Candan CAKIR, Mehmet HAMURCU, Fatma AKIN, Sait GEZGIN, Ozge CELIK. 6th International Symposium Federation of European Societies on Trace Elements and Minerals. Catania, Italy. 26-28 May 2016.
3. Bor Stresine Karşı Bitkilerin Cevabında Çalışan Taşıyıcı Proteinler. Fatma AKIN. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yüksek Lisans Seminer Sunumu. Konya. 23.02.2016
4. ISSR Analysis of Hybrid Maize Genetic Resources in a Variety Development Program Suitable for Central Anatolian Conditions. Ahmet Tamkoc, Fatma Akın, Noyan Eken, Saliha Mutfak, Hasan Can, Ahmet Konuk, Erdogan Esref Hakki. II. International Plant Breeding Congress. Antalya, 2-5 November 2015.
5. Konya Yöresine Ait Bazı Yıldızçiçeği (*Dahlia cav.*) Genotiplerinin ISSR Yöntemiyle Akrabalık Derecelerinin Belirlenmesi. Bahar Banu Batı, Mustafa Paksoy, Fatma Akın, Erdoğan Eşref Hakkı. II. International Plant Breeding Congress. Antalya, 2-5 November 2015.

6. Molecular characterization of purple carrot originated from Central Anatolia. Hilmiye Erişdi, Önder Türkmen, Erdoğan Eşref Hakkı, Fatma Akın. 2nd ICSAE 2015 International Conference on Sustainable Agriculture and Environment. Konya, 30 September-3 October 2015.
7. Günümüzde GDO'lu Bitkisel Ürünler. Eşref Erdoğan Hakkı, Fatma Akın, Seyit Ali Kayış. Uluslararası 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi. Konya, 7-10 Kasım 2013.

Poster Bildirileri

1. Expression of Genes Related with Proline Pathway in Boron Toxicity-Tolerant Plant *Puccinellia distans*. Fatma AKIN, Mehmet HAMURCU, Ozge CELIK, Erdogan Esref HAKKI. International Agricultural, Biological & Life Science Conference. Edirne, Turkey. 2-5 Eylül, 2018.
2. Interactive effects of Hydropriming and Light Emitting Diodes (LEDs) on germination and growth of Black Chickpea (*Cicer arietinum*) under *in vitro* conditions. Fatma Akin, Muhammad Aasim. 7. International Molecular Biology and Biotechnology Congress. Konya, Türkiye. 25-27 Nisan 2018 **(Yüksek Lisans Tez Çalışması tezinden yapılmıştır)**.
3. Screening Boron Transporters Genes in Wild Grass *Puccinellia distans* (Jacq). Parl: Preliminary Study. Fatma Akın, Hasan Can, Mehmet Hamurcu, Sait Gezgin, Erdoğan E. Hakkı. International Symposium on Boron in Agriculture. Ankara, Türkiye. 16-18 Kasım 2016 .
4. Agricultural biodiversity: a challenge for the future of human well-being. Ahmet Direk, Esra Kavci, Fatma Akin, Hasan Can, Sündüz Onbasi, Saliha Mutaf, Erdoğan Eşref Hakkı. 2nd ICSAE 2015 International Conference on Sustainable Agriculture and Environment. Konya, 30 Eylül-3 Ekim 2015.
5. ISSR Yöntemi ile Türkiye'de Bazı Yerel Domates Genotiplerinin Akrabalık İlişkilerinin Tespiti. Fatma Akın, Levent Keskin, Erdoğan Eşref Hakkı, Mustafa Paksoy, Önder Türkmen. 10. Sebze Tarım Sempozyumu. Tekirdağ, 2-4 Eylül 2015.