



T.C.

**BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YEREL KARACADAĞ ÇELTİĞİNİN (*Oryza sativa* L.) *in vitro* KOŞULLARDA FARKLI TUZ ÇEŞİDİ VE KONSANTRASYONLARINA VERDİĞİ YANITLAR

Mehmet Yusuf ORCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

**Mart-2017
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Mehmet Yusuf ORCAN tarafından hazırlanan “Yerel Karacadağ Çeltiğinin (*Oryza sativa* L.) *in vitro* Koşullarda Farklı Tuz Çeşidi ve Konsantrasyonlarına Verdiği Yanıtlar” adlı tez çalışması 07/03/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç.Dr. Filiz AKBAŞ

Üye

Prof.Dr. Hasan Çetin ÖZEN

Üye

Prof.Dr. Engin TILKAT

İmza

.....
.....
.....

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Doç. Dr. Bahattin İSÇAN
FBE Müdürü V

Bu tez çalışması BTÜBAP tarafından BTÜBAP-2016-Yüksek Lisans-9 nolu proje ile desteklenmiştir.

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.



Mehmet Yusuf ORCAN

07.03.2017

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEREL KARACADAĞ ÇELTİĞİNİN (*Oryza sativa* L.) *in vitro* KOŞULLARDA FARKLI TUZ ÇEŞİDİ VE KONSANTRASYONLARINA VERDİĞİ YANITLAR

Mehmet Yusuf ORCAN

Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Filiz AKBAŞ

2017, 68 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Filiz AKBAŞ

Prof.Dr. Engin TILKAT

Prof.Dr. Hasan Çetin ÖZEN

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yetiştirilen ve yöre halkı tarafından yaygın olarak tercih edilen Karacadağ yerel çeltik çeşidinde (Siverek populasyonu) farklı tuz çeşidi (NaCl, CaCl₂, MgCl₂) ve konsantrasyonları (25, 50, 75, 150, 300 mM) uygulanarak oluşturulan stres koşullarında meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimler, *in vitro* kültür ortamında incelendi.

Çalışmada tuz denemelerine başlamadan önce optimum *in vitro* yetiştirme koşullarını belirlemek amacıyla, çeltik tohumları %5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) farklı sürelerinde (10-15-20-25-30-35-40-45-50 dk) ayrı ayrı bekletilerek optimum yüzey sterilizasyon metodu ve sonrasında ise Murashige&Skoog (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamının farklı kuvvetlerinin (MS- 1/1, 1/2, 1/4) etkisi araştırıldı. Tohumların kültüre alınmasından 3 hafta sonra, uygulanan parametreler arasından %5'lik NaOCl'de 60 dk bekletme işleminin sterilizasyon için optimum süre olduğu belirlendi. MS besi ortamının çimlenmeye etkisi incelendiğinde, genel olarak tohumlarda çimlenme yüzdesi bakımından çok büyük farklılıklar görülmezken en yüksek çimlenme yüzdesi (%95) 1/4 MS besi ortamında kültüre alınan tohumlardan elde edildi.

Karacadağ çeltik çeşidinde tuz stresinin etkisi çimlenme ve fide gelişimi evresinde ayrı ayrı araştırıldı. Bu amaçla tohumlar, NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂'ün 5 farklı konsantrasyonunu (25, 50, 75, 150, 300 mM) içeren 1/4 MS besi ortamında kültüre alındı. Test edilen her 3 tuz çeşidinde de (NaCl, CaCl₂, MgCl₂) düşük konsantrasyonlarda çimlenme yüzdesinin etkilenmediği ancak, konsantrasyon arttıkça çimlenme yüzdesinin önemli oranda düştüğü belirlendi. Bununla birlikte 300 mM MgCl₂ ve CaCl₂ de tohumların çimlenmediği ve çimlenmeyi en çok etkileyen tuz çeşidinin MgCl₂ olduğu tespit edildi.

Fide gelişimi evresinde tuz stresinin etkilerini incelemek amacıyla, bir haftalık *in vitro* ortamda elde edilen fideler, NaCl, CaCl₂, MgCl₂'ün farklı konsantrasyonlarında (25, 50, 75, 150, 300 mM) MS besi ortamında kültüre alındı. Kültürün 3. haftasından sonra, Karacadağ çeltik çeşidinin tuz stresine verdiği yanıtlar, sürgün boyu, kök uzunluğu, yeşil aksam / kök yaş-kuru ağırlığı, yeşil aksam / kök nispi su içeriği (RWC), fotosentetik pigment içeriği ve lipid peroksidasyonu derecesi gibi bazı fizyolojik ve biyokimyasal analizler yapılarak incelendi. Farklı çeşit ve düzeylerde tuz stres faktörüne maruz bırakılan *in vitro* fideler için yapılan analiz değerlerinde, tüm tuz çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça sürgün boyu, kök uzunluğu, yeşil aksam/kök yaş- kuru ağırlıklarında ve yeşil aksam/kök nispi su içeriğinde azalmalar meydana geldiği tespit edildi. Bitkilerin genel morfolojik gelişimleri değerlendirildiğinde ise yüksek konsantrasyonlarda (150 mM) bitki gelişiminin oldukça zayıf kaldığı, 300 mM konsantrasyonda ise bitkilerin gelişmediği belirlendi.

Stres sonrasında, tuzluluğun bitkilerin fotosentetik pigment içeriklerini (klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid) çoğunlukla olumsuz etkilediği ve tuz çeşidinden ziyade tuz konsantrasyonuna göre değerler arasında farklılık olduğu tespit edildi. Tuz çeşitleri arasından sadece NaCl'nin, fotosentetik pigment içeriği üzerinde daha az olumsuz etkisi olduğu belirlendi.

Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA içeriği, bitkide hücre zarının yıkımı sonucu oluşan önemli bir stres parametresidir. Yaptığımız çalışmada genel olarak tüm tuz çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça MDA içeriğinin de doğru orantılı olarak arttığı belirlendi. Uygulanan tuz çeşitleri karşılaştırıldığında, MDA içeriğinin, CaCl₂'de diğer iki tuz çeşidine (NaCl, MgCl₂) oranla daha yüksek değerlere çıktığı ve en büyük hücre zarı hasarının en yüksek MDA içeriği (4.1820 µmol/g) ile CaCl₂'nin 75 mM uygulamasında meydana geldiği belirlendi.

Sonuç olarak, *in vitro* ortamda test edilen tuz çeşitlerinin (NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂), özellikle yüksek konsantrasyonlarda, Karacadağ yerel çeltik çeşidinin hem çimlenme hem de fide gelişimi evresinde büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilediği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Çeltik, *in vitro*, Karacadağ, lipid peroksidasyonu, stres, tuz

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF STRESS RESPONSE CAUSED BY THE DIFFERENT TYPE AND CONCENTRATION OF SALT OF KARACADAG RICE IN *IN VITRO*

Mehmet Yusuf ORCAN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE OF BIOLOGY**

Assoc.Prof.Dr. Filiz AKBAŞ

2017, 68 pages

Jury

Assoc.Prof.Dr. Filiz AKBAŞ

Prof.Dr. Engin TILKAT

Prof.Dr. Hasan Çetin ÖZEN

In this study, the physiology and biochemical changes were investigated in *in vitro* culture medium which arose in the stress conditions by applying different salt type and salt concentration in Karacadag's traditional type of rice (Siverek population) which is produced in the Southeastern Anatolia region and commonly preferred by local community.

The optimum surface sterilization medium and the power of Murashige&Skoog culture medium were investigated in order to determine optimum *in vitro* growing condition after rice seeds were waited in the sodium hypochlorite (%5) at different times (10-15-20-25-30-35-40-45-50-55-60 minutes) before conducting the salinity tests

Following 3 weeks after the culture period optimum sterilization time was determined to be 60 minutes in the sodium hypochlorite (%5) among the tested parameters. When the germination affects of MS culture medium were investigated, there was only slight differences in terms of germination percentage, on the other hand, the highest germination percentage was obtained from seeds which were cultured in 1/4 MS culture medium (%95).

The affect of the salinity stress to Karacadag rice was examined differently separately in the phases of germination and seedling. Hence, the rice seeds were taken to the 1/4 MS medium including 5 different concentrations (25, 50, 75, 150, 300 mM) of NaCl, CaCl₂, MgCl₂. In the 3 types of salt that were tested, it was found out that germination percentage is not affected from low concentrations however, germination percentage dramatically decrease in the high concentrations. Besides, there was no germination in the 300 mM MgCl₂ and CaCl₂ salt concentration and the MgCl₂ is salt type affects germination most.

At the seedling growing phase, the seedlings that were obtained from 1 week culture period was at the different concentrations of NaCl, CaCl₂, MgCl₂ to investigate the salt stress effects. After three-week culture period, responses to the salt stress of Karacadag rice were analyzed in terms of some

physiological and biochemical analysis such as plant and root length, shoot and root wet/dry weight, %RWC of shoot and root, content of photosynthetic pigments and lipid peroxidation degree.

When the analysis values of *in vitro* seedlings which are exposed to different type and concentration of salt stress, plant and root length, green components and root wet/dry weight, %RWC of shoot and root were observed to decreased at all of salt types as long as salt concentration increases. When the general morphological growing of plants were evaluated, the plant growth was very poor at high concentrations (150 mM), and the plants did not grow at 300 mM concentration.

After stres exposure, the salt mostly adversely affected the photosynthetic pigment (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid) contents of plants, besides there were differences among values according to salt concentrations rather than in salt type. Among the salt varieties only NaCl was found to have a less adverse effect on photosynthetic pigment contents.

MDA is an important stress parameter which is the last product of lipid peroxidation and is formed as a result of the cell membrane destruction in plants. In our study, the content of MDA generally increased as long as salt concentration in all salt type increased proportionally. When applied salt types were compared, MDA content was determined to have a higher ratio in CaCl₂ than another salt type (NaCl, MgCl₂) and the most membrane injury was determined in 75 mM CaCl₂ with the highest MDA content (4.1820 µmol/g).

In conclusion, traditional rice Karacadag's growth and development were affected adversely both in the germination and seedling phases which were tested in *in vitro* medium especially in high concentration salt types (NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂).

Keywords: *in vitro*, Karacadag, lipid peroxidation, rice, salt, stress.

ÖNSÖZ

Kızım Cemre'ye ithafen...

Beni bu günlere kadar yalnız bırakmayan, her zaman yanımda olan aileme, annem Betül, babam Aydın ve can kardeşim Onur ORCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez aşamasının başından sonuna kadar bilgi tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen ve bu tezi başarıyla bitirmemi sağlayan danışman hocam sayın Doç. Dr. Filiz Akbaş'a teşekkürlerimi saygıyla sunarım.

Tezin pratiğinin hazırlanmasında analize edilmesinde ve laboratuvar aşamalarında büyük yardımı olan Batman Üniversitesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi Selçuk Kuru'ya ve yüksek lisans öğrencisi Şerife Aydınarığ'a teşekkürlerimi sunarım.

Hem teorik hem pratik anlamda tezin yükünü benimle paylaşan, tezden ziyade hayatın yükünü, zorluklarını ve tüm olumsuzlukları üzerimden alan hem hayat arkadaşım hem hocam olan Batman Üniversitesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi Pınar ORCAN'a teşekkürlerin en büyüğünü sunarım.

Ailemden bir parça olan, bana her konuda yol gösteren dayım, Kocaeli Üniversitesi Enformatik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Melih İNAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayata bakış açısı sunan, vizyonu geniş, öğretici ve paylaşımcı bir lider olan, hem yabancı dilimin gelişmesine katkıda bulunan hem de yüksek lisans yapmamı madden ve mânen destekleyen eski işverenim, her daim ağabeyim olan Bios Biyomedikal Sistemleri kurucu Genel Müdürü Ali DEMİREZER'e çok büyük teşekkürlerimi saygıyla sunarım.

Mehmet Yusuf ORCAN
BATMAN-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. Materyal.....	12
3.1.1. Bitki materyali.....	12
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1. <i>İn vitro</i> kültür koşulları.....	13
3.2.1.1. MS besi ortamında kullanılan stok çözeltilerin hazırlanması.....	13
3.2.1.2. 1 Litre 1/1Murashige ve Skoog (MS) besi ortamının hazırlanması.....	14
3.2.1.3. Cam malzeme ve filtre kağıtlarının sterilizasyonu.....	14
3.2.1.4. Pens ve bistorilerin hazırlanması ve sterilizasyonu.....	14
3.2.1.5. Röpikaj ve kültür odalarının hazırlanması ve sterilizasyonu.....	14
3.2.1.6. Büyüme odasının koşulları.....	15
3.2.1.7. Çeltik tohumlarının NaOCl'de bekletme süresi ve besi ortamının belirlenmesi.....	15
3.2.2. <i>İn vitro</i> koşullarda tuz stresi uygulamaları.....	16
3.2.2.1. Tuz stresinin çimlenme üzerine etkisi.....	16
3.2.2.2. Tuz stresinin fide gelişimi üzerine etkisi.....	16
3.2.3. Ölçüm ve analizler.....	17
3.2.3.1. Çimlenme yüzdesi.....	17
3.2.3.2. Sürgün boyu-kök uzunluğu.....	17
3.2.3.3. Yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı.....	17
3.2.3.4. Kök yaş-kuru ağırlığı.....	18

3.2.3.5. Nispi su içeriklerinin belirlenmesi (%RWC).....	18
3.2.3.6. Fotosentetik pigment içeriklerinin belirlenmesi.....	18
3.2.3.7. Lipid peroksidasyonu derecesinin belirlenmesi.....	18
3.2.4. İstatistiksel analizler.....	18
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	20
4.1. Çeltik Tohumlarının NaOCl'de Bekletme Süresi ve Besi Ortamının Belirlenmesi.....	20
4.2. Tuz Stresinin Karacadağ Çeltik Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	21
4.3. Tuz stresinin Fide Gelişimine Etkisi.....	24
4.3.1.Sürgün boyu-kök uzunluğu üzerine etkisi.....	24
4.3.2. Yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisi.....	30
4.3.3. Kök yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisi.....	32
4.3.4. Yeşil aksam ve kök nispi su (%RWC) içeriği üzerine etkisi.....	35
4.3.5. Fotosentetik pigment içerikleri üzerine etkisi.....	38
4.3.6. Lipid peroksidasyonu (MDA içeriği) üzerine etkisi.....	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

AOT	:	Aktif oksijen türleri
atm	:	Atmosfer
CaCl ₂	:	Kalsiyum klorür
CaCl ₂ .2H ₂ O	:	Kalsiyum klorür dihidrat
cm	:	Santimetre
CoCl ₂ .6 H ₂ O	:	Kobalt klorür hegzahidrat
CuSO ₄ .5H ₂ O	:	Bakır sülfat pentahidrat
da	:	Dekar
dk	:	Dakika
dS	:	Desi Siemens
FeSO ₄ .7H ₂ O	:	Demir sülfat heptahidrat
g	:	Gram
HCl	:	Hidroklorik asit
H ₃ BO ₃	:	Borik asit
KA	:	Kuru ağırlık
kg	:	Kilogram
KH ₂ PO ₄	:	Potasyum dihidrojen fosfat
KI	:	Potasyum iyodür
KNO ₃	:	Potasyum nitrat
L	:	Litre
M	:	Molar
MDA	:	Malondialdehit
MgSO ₄ .7H ₂ O	:	Magnezyum sülfat heptahidrat
MgCl ₂	:	Magnezyum klorür
mg	:	Miligram
mL	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
mmol	:	Milimol
MnSO ₄ .4H ₂ O	:	Magnezium sülfat tetrahidrat
MS	:	Murashige & Skoog
m ²	:	Metrekare
m ³	:	Metreküp
NaCl	:	Sodyum klorür
NaOCl	:	Sodyum hipoklorit
Na ₂ EDTA	:	Sodyum etilen daimin tetra asetik asit
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	:	Sodyum molibdat dihidrat
NaOH	:	Sodyum hidroksit
NH ₄ NO ₃	:	Amonyum nitrat
nm	:	Nanometre
pH	:	Asitlik derecesi
rpm	:	Dakikada dönüş sayısı
RWC	:	Nispi su içeriği
s	:	Saniye
TA	:	Taze ağırlık
TBA	:	Tiyo barbütirik asit

TCA	:	Triklor asetik asit
YA	:	Yaş ağırlık
ZnSO ₄ .7H ₂ O	:	Çinko sülfat hepptahidrat
W	:	Watt
%	:	Yüzde
°	:	Derece
°C	:	Derece santigrat
µg	:	Mikrogram
µL	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre
µmol	:	Mikromol



1. GİRİŞ

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen ya da bitki metabolizmasını engelleyen durumlara stres adı verilmektedir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001). Stres faktörleri biyotik (bitkiler, mikroorganizmalar, hayvanlar ve antropojenik etkiler) ve abiyotik (radyasyon, sıcaklık, su, gazlar, mineraller vb.) olmak üzere ikiye ayrılır (Larcher, 1995).

Abiyotik stres faktörlerinden olan tuzluluk toprak verimliliğini olumsuz yönde etkileyen ve bitkisel verimi sınırlandıran en önemli problem olarak düşünülmektedir (Gouia ve ark., 1994). Tuzluluk; özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde, yıkanarak yer altı suyuna karışan çözünabilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun uçmasıyla toprak yüzeyinde birikmesi olayıdır (Kwiatowsky, 1998).

Kurak ve yarı kurak iklim bölgelerindeki düşük yağış miktarı; taban suyu akışını engelleyen geçirimsiz tabakalar ve yüksek taban suyu; yanlış sulama ve kontrolsüz drenaj, toprakta tuzluluğun artmasına neden olan faktörler olarak sıralanabilir (Tatar, 2006). Dünyada her yıl 10 milyon hektar arazi bu nedenle kullanılamaz hale gelmektedir (Baltacı ve ark., 2004).

Tuzluluk, toprağın yapısını olumsuz etkilediği gibi, toprağa bağımlı olan ve üzerinde yaşayan bitkiler tarafından alınan tuz bileşikleri de, çeşidine göre değişmekle birlikte belli bir düzeyi aşınca zararlı olabilmektedir. Bu bileşikler, bitkilerde beslenme ve metabolizmaya hasar vermenin yanısıra toksik etkiye de sebep olur. Toprakta tuz konsantrasyonunun artmasıyla, bitkinin topraktan su alımının güçleştiği ve yapısı bozulan toprakta bitki gelişiminin yavaşladığı veya durduğu bildirilmiştir (Kanber ve ark., 1992; Güngör ve Erözel, 1994).

Olumsuz faktörlerden biri olan tuzluluğa karşı bitkilerin verdikleri tepkiler, gelişimlerinin farklı aşamalarında değişebilmektedir. Bitkilerin tuzluluğa karşı çimlenme veya fide gelişimi dönemlerinde, diğer evrelerden daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Ashraf, 1994). Tuz stresinin etkisi; bitki türüne, uygulanan tuz çeşidi ile miktarına ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişmektedir. Tuzlu ortamlarda bitkilerin genotipik farklılıklara bağlı olarak da çok farklı cevaplar verdiği rapor edilmiştir (Dajic, 2006). Tuzluluğa karşı verilen bu farklı büyüme cevapları sadece farklı iki bitki türü için değil aynı türün farklı çeşitleri için de geçerlidir (Munns, 2002). Tuzluluğa duyarlı olarak bilinen glükofit bitkiler, çimlenme döneminde %0.5 tuzluluk

seviyesinden etkilenirken, tuzluluğa dayanıklı olarak kabul edilen halofit bitkilerde, bu sınır 10 kat daha yüksektir (Özdemir, 1995).

Tuzlu topraklarda, kullanılabilir su miktarının azalması olarak tanımlanan fizyolojik kuraklık bitki ölümlerinin ana nedeni olarak görülmektedir. Artan tuz yoğunluğu nedeniyle toprak su potansiyeli daha negatif bir değer aldığından bitkilerin gerekli su ve besin maddelerini topraktan almalarını engellemektedir. Bitki tarafından alınan aşırı miktardaki tuzun, hücre fonksiyonlarını bozması, hücre veya organel zarlarına verdiği hasar fotosentez, solunum gibi metabolik olaylarda meydana getirdiği aksamalar, tuz zararının diğer bir sonucu olarak görülmüştür (Ayyıldız, 1990).

Tuz stresinin bitkilerde yarattığı zararlı etkiler üç temel esas üzerinde değerlendirilmiştir; 1.Su eksikliği ile ortaya çıkan ozmotik stres, 2.aşırı Cl^- ve Na^+ alımı ile ilgili özel iyon toksisitesi, 3.fazla miktarda Cl^- ve Na^+ 'nın alınması ile potasyum, nitrat, fosfat, alımının azalması ve bu iyon dengesinin bozulması ile görülen dengesiz iyon alımı ve besin maddesinin alınımı olarak belirtilmiştir (Gorham ve ark., 1985).

Tuzluluk, bitkiler üzerindeki doğrudan etkisini ozmotik ve iyon stresi oluşturarak gösterirken, dolaylı etkisini (sekonder etki) bu stres faktörleri sonucu bitkide meydana gelen yapısal bozulmalar ve toksik bileşiklerin sentezlenmesi ile gösterir (Botella ve ark., 2005; Hong ve ark., 2009). Tuzluluğa genelde Na^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} kanyonları ile Cl^- ve SO_4^{-2} anyonları neden olmaktadır. En zararlı etki ise $NaCl$, $CaCl_2$ ve Na_2SO_4 tuzlarından oluşmaktadır (Koyuncu, 2008). DNA, protein, klorofil ve zar fonksiyonuna zarar veren aktif oksijen türlerinin (AOT) sentezi, fotosentez inhibisyonu, metabolik toksisite, K^+ alımının engellenmesi ve hücre ölümü $NaCl$ 'ün neden olduğu başlıca sekonder etkiler olarak sayılabilir (Botella ve ark., 2005; Hong ve ark., 2009).

Tuz stresinde bitkilerde aşırı miktarda biriken Na^+ , K^+ 'nın alınımını engellemekte, Cl^- ise özellikle NO_3^- alımı üzerine olumsuz etki yaparak bitkilerde iyon dengesinde bozulmalara neden olabilmektedir. Bitki sitoplazmasında aşırı miktarda Na^+ birikimi, protein sentezini ve enzim aktivitesini engelleyerek toksik etki göstermektedir. Buna karşın, bitki dokularında Na^+ 'ya göre daha fazla biriken Cl^- ise yapraklarda zararlanmalara yol açarak fotosentezi, dolayısıyla verimi olumsuz yönde etkilemektedir (Taban ve ark., 1999). Yapraklardaki klorofil ve karotenoid miktarı tuzluluk stresinde genellikle düşüş göstermektedir (Parida ve Das, 2005; Ashraf ve Bhatti, 2000).

Tuzlu topraklarda yetiştirilen bitkilerin gövde gelişimi kök gelişimine göre daha fazla gerilemektedir. Gövde gelişiminin tuzluluğa bağlı olarak gerilemesinin sebebi yaprakların su durumunun değişmesine bağlıdır. Kök bölgesinden tuzun

uzaklaştırılması halinde yaprak büyümesi tekrar eski haline dönmektedir (Güneş ve ark., 2010).

Tuz stresi faktörünün neden olduğu reaktif oksijen türlerinin artışının lipid peroksidasyonu, protein denatürasyonu, nükleik asit hasarı, enzim inhibisyonu ve hücre ölümü ile sonuçlandığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Dat ve ark., 2000; Implay, 2003; Büyük ve ark., 2012).

In vitro hücre ve doku temelli sistemler, klonal çoğaltım, genetik mühendisliği ve değerli metabolitlerin üretimi gibi ticari uygulamalar ve deneysel araştırmalarda birçok potansiyele sahiptirler (Neelakandan ve Wang, 2012). Doku kültürü çalışmaları bitkilerde tuzluluk mekanizmalarının, tuza toleransın fizyolojik ve biyokimyasal temellerinin ortaya konulması için yapılan temel araştırmalarda da kullanılmaktadır. *In vitro* koşullarda yapılan denemeler, fizyolojik çalışmalarda tamamen kontrollü ve homojen materyal kullanıldığında pek çok avantaj sağlanmaktadır. Ortaya çıkan farklılığın sadece uygulamalar nedeniyle oluştuğundan emin olunmakta, ayrıca kısa sürede sonuç alınması mümkün olmaktadır (Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz, 1998; Akıncı ve Şimşek, 2004; Yokaş ve ark., 2008).

Ayrıca, hücre ve doku kültürü teknikleri, iki farklı *in vitro* kültür yaklaşımını (ilk yaklaşım, kültüre alınmış hücrelerden mutant hücre hatlarının seçimi ve bu hücrelerden bitki rejenerasyonu, ikinci yaklaşım ise, tuz toleransı için bitki germplazmalarının *in vitro* taraması) kullanarak tuza toleranslı bitkilerin elde edilmesinde kullanılmaktadır (Hassan ve ark., 2008).

Son yıllarda, tuz stresinin etkilerini belirlemeye yönelik olarak farklı bitki türlerinde farklı *in vitro* kültür tekniklerinin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. Bu bitkiler arasında; *Lycopersicon esculentum* Mill. (Mercado ve ark., 2000; Talano ve ark., 2003; Hassanein, 2004; Amini ve Ehsanpour, 2005; Amini ve Ehsanpour, 2006; Shibli ve ark., 2007; Hassan ve ark., 2008; Aazami ve ark., 2010; Mohamed ve Ismail, 2011), *Medicago sativum* L. (Noaman ve Ahmad, 2004), *Brassica napus* L. (Chamandoosti, 2007), *Vigna radiata* L. (Hassan ve ark., 2008), *Citrus* spp. (Montoliu ve ark., 2009), *Triticum durum* Desf. (Koyuncu, 2012) ve *Triticum aestivum* L. (Benderradji ve ark., 2012) bulunmaktadır.

Anavatanının Hindistan olduğu kabul edilen çeltik, kültür bitkileri içerisinde insan beslenmesinde yer alan önemli bir tahıl cinsidir. Dünyada çeltik ziraatının M.Ö. 3000'lerde, Türkiye'de ise yaklaşık 500 yıl kadar önce yapılmaya başlandığı belirtilmiştir (Kün, 1997). Çeltiğin günümüzde bilinen 25 türü bulunmasına karşın

ekimi yapılan çeşitlerin hemen hemen tamamı *Oryza sativa* içinde yer almaktadır (Anonymous, 1999). Dünyada 140.000'den fazla çeşidinin olduğu tahmin edilen (Sürek, 2002) çeltikte, bu kadar çok çeşidin olması ülkelere, bölgelere hatta farklı yörelere göre değişen kalite anlayışı ve damak tadı ile açıklanabilir (Akay, 2010).

Pirinç, bünyesinde sodyum ve yağ içermeyen bitkisel protein kaynağıdır. Pirinç protein, karbonhidrat, fosfor, demir, kalsiyum, B1 ve B2 vitaminleri ve az da olsa A ve C vitaminlerini ihtiva eder (Anonim, 2003). Bileşiminde az protein bulunmasına karşın beslenme için gerekli aminoasitlerce zengin olması nedeniyle insan beslenmesinde buğdaydan daha fazla kullanılmaktadır (Elçi ve ark., 1994).

Çeltik üretiminde basta gelen ülkeler olan Çin, Hindistan ve Endonezya'da dünya çeltik üretiminin %65'i karşılanmaktadır (Anonim, 2009). Ülkemizde çeltik ekim alanı yıldan yıla dalgalanmalar göstermesine rağmen 2011 yılı istatistiklerine göre çeltik ekiliş alanı 994.000 da, üretimi 900.000 ton ve verimi ise 905 kg/da olarak gerçekleşmiştir (Anonymous, 2011). Bölgeler itibariyle üretimin yaklaşık %68'ini Marmara, %27'sini Karadeniz Bölgesi ve %4'ünü Güneydoğu Anadolu Bölgesi karşılamaktadır. Kişi başına pirinç tüketimi 6-7 kg civarında olan ülkemizde çeltik üretimi ise ihtiyacı karşılayamamaktadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi çeltik ekim alanı 2010 yılı devlet istatistik verilerine göre yaklaşık 59.150 da (%5.44), pirinç üretimi 30.675 ton (%3.44) verim ise 518.6 kg/da civarındadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi çeltik ekim alanlarının ve üretiminin % 95'i Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinde gerçekleşmektedir (Anonim, 2010).

Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinde çoğunlukla, toprak işlenmesi yapılmaksızın, sulama tavaları oluşturulmadan, tohum çimlendirilmeden tarla tarımına elverişli olmayan taşlık alanlarda 2-7 yılda bir aynı tarlaya çeltik ekimi yapılmakta ve böylece bu tür alanların değerlendirilmesiyle de bölge ekonomisine katkı sağlanmaktadır.

Yerel Karacadağ çeltik çeşidi, çevresel koşullar bakımından kritik yılları başarıyla atlatabilmeleri, ayrıca yerel tüketici isteklerini karşılayan kalite özelliklerine sahip olması vazgeçilmezliğinin temel nedenidir. Karacadağ çeltiğinin en önemli özelliği rengi, aroması, lezzeti ile bölge halkının en çok aradığı çeşit olması, bu bölgede yaşayan insanların damağına hitap etmesidir. Karacadağ Çeltiğinin kalite özelliğinin yetiştirildiği bölgenin iklim ve toprak özelliklerinden ileri geldiği bilinmektedir (Kaya, 2013).

Geniş adaptasyonu ve insan beslenmesindeki yeri nedeniyle, dünyanın en önemli temel besin kaynaklarından biri olan çeltikte tuzluluğa bağlı olarak veriminin azalması

önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (Siahpoosh ve ark., 2012). Çeltik bitkisi üzerine birçok çalışma yapılmış, ancak ülkemizde yetiştirilen çeltik çeşitleri için yapılmış çalışmalar yetersiz bulunmuştur. Dolayısıyla bu tez çalışmasının amacı, farklı tuz çeşitleri ile oluşturulan stres koşullarında Karacadağ yerel çeltik bitkisinde meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin *in vitro* kültür ortamında araştırılmasıdır.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Abiyotik stres faktörlerinden biri olan tuzluluk bitkilerin gelişimini yapısal, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarında değişimlere neden olarak olumsuz yönde etkilemektedir. Toprak tuzluluğu, bitkinin transpirasyonu ve solunumu yanında, su alımını ve kök gelişimini azaltmaktadır. Bunun sonucunda hormonal dengede yıkım meydana gelmekte, fotosentez azalmakta, nitrat alımı düşmesi sonucunda protein sentezinde azalma görülmekte ve sürgün boyu kısalmaktadır (Güneş ve ark., 2010).

Singh ve Dubey (1995), toleransları farklı 4 çeltik çeşidinde (CSR1 ve CSR3: tuza toleranslı, Ranta ve Jaya: tuza hassas) tuzluluk stresinin klorofil içeriği ve fotosistem 1 ve 2 üzerine etkisini incelemişler. Tuzluluk ile birlikte klorofil a ve b içeriğinin tüm çeşitlerde düştüğünü ancak düşüşün tuzluluğa hassas çeşitlerde daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanında klorofil a içeriğinin klorofil b içeriğine göre tuzluluktan daha çok etkilendiğini belirtmişlerdir.

Lutts ve ark. (1996), farklı tuz konsantrasyonlarının (0, 30, 50 mM NaCl) kullanıldığı stres koşullarında yetiştirilen çeltik bitkilerinin (Nona Bokra, IR4630: tuza dayanıklı, I Kong Pao, IR31785: tuza hassas) genç ve yaşlı yapraklarında protein, klorofil içeriği ile hücre zararlanması ve malondialdehit üretimini incelemişler. Klorofil miktarının tüm çeşitlerde azaldığını, ancak genç ve yaşlı yapraklar arasında bir fark bulunamadığını tespit etmişlerdir. Nona Bokra ve IR4630'da MDA miktarı en düşük değerlerde olurken, I Kong Pao ve IR31785'in özellikle yaşlı yapraklarında en yüksek MDA ölçümleri yapılmıştır.

Bayraklı (1998), arpa, buğday (*Triticum aestivum*) ve çeltiğin (*Oryza sativa L.*) özellikle fide aşamasında tuza karşı duyarlı olduğunu, bu devredeki tuzluluk düzeyinin 4–5 dS/m'yi geçmemesi gerektiğini belirtmiştir.

Alamgir ve Ali (1999) dokuz farklı çeltik çeşidinde tuzluluğun fotosentetik pigment miktarı üzerine etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada, genel olarak pigment miktarının tuzluluk ile birlikte düştüğünü, ancak altı çeşitte pigment içeriğinin yükseldiğini saptamışlardır.

Chuan ve Ching (1999), NaCl (50 ile 150 mM) etkisindeki çeltik fidelerinin köklerindeki hücre duvarı peroksidaz aktivitesi ve H₂O₂ seviyesindeki değişiklikleri ve bitkilere dışarıdan uygulanan prolinin meydana getirdiği değişiklikleri incelemişlerdir. Yüksek NaCl uygulamasında kök gelişiminin yavaşladığı, peroksidaz aktivitesinin ve H₂O₂ seviyesinin arttığını belirlemişlerdir. Dışarıdan uygulanan prolinin, düşük NaCl

uygulamasında kök gelişimini yavaşlattığı, peroksidaz aktivitesi ve H₂O₂ seviyesini arttırdığını saptamışlardır.

Anuradha ve Rao (2001), tuzlulukla indüklenen çeltikte (*Oryza sativa* L.) çimlenme ve fide gelişiminin inhibisyonu üzerine 24-epiBL'nin etkisini araştırmışlardır. Yüze sterilizasyonundan sonra tohumları, 24 saat boyunca distile su (kontrol), 150 mM NaCl, 150 mM NaCl+0.5 µM epiBL, 150 mM NaCl+1 µM epiBL, 150 mM NaCl+3 µM epiBL çözeltilerinde beklettikten sonra kültüre almışlardır. Sonuç olarak, tuz stresinin neden olduğu çimlenme ve fide gelişiminin engelleyici etkisinin BR'ler tarafından ortadan kaldırıldığını saptamışlardır. Araştırmacılar BR'in bu etkisinin, çözülebilir protein ve nükleik asit düzeylerindeki artış ile ilgili olduğunu bulmuşlardır.

Bhattacharjee ve Mukherjee (2002), tuza dayanıklı 'Hamilton', 'SR26B' ve tuza hassas 'Ratna' çeltik çeşitleri ile yapmış oldukları çalışmada, 100 mM NaCl uygulamasına karşı bitkilerin reaksiyonunu farklı antioksidan ve prolin akümüasyonu açısından incelemişlerdir. Genel olarak tüm çeşitlerde tuzluluk koşullarında prolin akümüasyonun arttığını, tuza toleransı yüksek olan 'Hamilton' ve 'SR26B' çeşitlerinde ise daha yüksek seviyelere ulaştığını belirtmişlerdir.

Nakamura ve ark. (2002), iki farklı yabancı çeltik çeşidi (*Oryza latifolia* Desv., *Oryza rufipogon* Griff.) ile tuza dayanıklı 'SR26B' ve tuza hassas 'IR28' kültür çeşitlerinde tuz stresine karşı bitkilerin fizyolojik reaksiyonlarını incelemişlerdir. Araştırmacılar, 113 mM NaCl seviyesinde prolin birikimi ile osmotik potansiyel arasında negatif bir korelasyon olduğunu bulmuşlardır.

Öncel ve Keleş (2002), 200 mM NaCl uygulamasının, iki buğday (*Triticum aestivum* L. ve *Triticum durum* Desf.) çeşidinde klorofil a ve b içeriğini önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir.

Mitsuya ve ark. (2003), tuzluluğun, *Nipponbare* çeltik çeşidinin yapraklarındaki klorofil içeriğine etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, klorofil içeriğinin artan tuzluluk ile beraber düşüş gösterdiğini ve düşüşün yaşlı yapraklarda genç yapraklara göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Nunez ve ark. (2003), NaCl ilave edilmiş *in vitro* kültür ortamında yetiştirilen çeltikte antioksidan enzimler üzerine BR analogu olan BB-16 (0, 0.001, 0.01mg/dm³)'nin etkisini çalışmışlardır. Araştırma sonucunda doğal BR'lerin yan zincirindeki modifikasyonla oluşan BB-16 analogunun, tuz stresine toleransta rol oynayan anahtar antioksidan enzimlerin aktivitesinde değişikliklere neden olduğunu saptamışlardır.

Vaidyanathan ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada, tuza duyarlı Pusa Basmati 1 ve toleranslı Pokkali pirinç çeşitlerini 42 saat tuz stresine (0, 100, 150, 200, 250, 300 mM NaCl) maruz bırakmış, hücre zarı hasarının bir ölçüsü olarak kullanılan lipid peroksidasyonu ve büyümeye ilişkin yanıtları incelemişlerdir. Düşük tuz (0-150 mM NaCl) konsantrasyonunda çeşitler benzer yanıtlar verirken, Pusa Basmati 1'de taze ağırlıkta çok düşük oranda bir azalış görülmüştür. 300 mM NaCl'de iki çeşit de yüksek tuz stresine karşı yaş ağırlıkta benzer düzeyde duyarlılık gösterirken, kuru ağırlıkta ise Pokkali'de nerdeyse hiç düşüş gözlenmemiştir. Ayrıca her iki çeşitte de NaCl konsantrasyonlarının artmasıyla lipid peroksidasyonunda artış gözlenmiş ve bu artış tüm NaCl konsantrasyonlarında tuza duyarlı Pusa Basmati 1'de daha yüksek bulunmuştur.

Santos (2004), 0–100 mM NaCl'ye maruz bırakılan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. var. SH222) fideleri ile ilgili yaptığı çalışmasında, 25 mM NaCl uygulamasının yalnızca *klorofil b* içeriğinde önemli düzeyde bir artışa, 50 ve 100 mM NaCl uygulamalarının ise hem *klorofil a* hem de *klorofil b* içeriğinde önemli azalmalara neden olduğunu bildirmiştir.

Demiral ve Türkan (2005), tuza tolerans bakımından farklılık gösteren iki pirinç (tuza toleranslı Pokkali, tuza duyarlı IR-28) çeşidinin kökleri üzerine tuzluluğun (60 ve 120 mol/m³) etkisini karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Yüksek tuz stresi koşulunda (120 mol/m³ NaCl) Pokkali'de yaş ağırlıkta 43%'lük önemli bir düşüş gözlenmesine karşın IR-28 köklerinde yaş ağırlıkta önemli değişiklik olmamıştır. IR-28 için 60 ve 120 mol/m³ NaCl konsantrasyonlarında kuru ağırlıkta dikkate değer bir düşüş gözlenirken Pokkali köklerinde kuru ağırlıkta önemli değişiklik olmamıştır. Tuzluluğun arttığı koşullarda IR-28'in kök uzunluğunda bir azalış gözlenmesine rağmen, her iki çeşitte de kök uzunluğu üzerine genel olarak tuzluluğun önemli bir etkisinin olmadığını vurgulamışlardır. Ayrıca iki çeltik çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonu düzeyi MDA içeriği ölçülerek belirlenmiştir. IR-28'de lipid peroksidasyon düzeyi kademeli olarak artarken Pokkali'de tuzluluğun artışı ile lipid peroksidasyonunda önemli değişiklik olmamıştır.

Tatar (2006) bazı çeltik çeşitlerinin çimlenme ve fide gelişimi üzerine tuzluğun etkilerini incelediği çalışmasında, tuzluluk ile beraber sürgün boyu ve kök uzunluklarında bir azalma olduğunu fakat bu azalmanın istatistiki olarak önemli olmadığını vurgulamıştır.

Mandhania ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada tuza dayanıklı KRL-19 ve tuza hassas WH-542 buğday çeşitlerinin tuz stresine karşı gösterdikleri tepkileri

incelemişlerdir. 4 günlük buğday fidelerine 0, 50, 100 mM NaCl uygulanmıştır. Genel olarak tuz stresi altındaki fidelerde RWC oranının azaldığını, tuza hassas olan WH-542 çeşidinde bu azalmanın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Turan ve ark. (2007), tuz stresi uyguladıkları mercimek (*Lens calinaria* L.) fidelerinin toplam klorofil içeriğinde kontrol ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Yazıcı ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, 2 aylık semizotu fidelerine 18-30 gün boyunca 0, 70, 140 mM konsantrasyonunda NaCl uygulayıp bitkilerin gelişimi, yapraklardaki su içerikleri, prolin miktarı, lipid peroksidasyon seviyeleri ve bazı antioksidan enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Her iki tuz konsantrasyonunda da 18. günde yaprakların RWC oranı artarken 30. günde bu oran azalmıştır. MDA miktarının 18. günde her iki konsantrasyonda da kontrole göre değişim göstermediğini, 30. günde 140 mM NaCl uygulamasında arttığını rapor etmişlerdir.

Khosravinejad ve ark. (2008), tolerant Afzal ve hassas EMB 82-12 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşitlerinde farklı tuz konsantrasyonlarının pigment içeriği üzerine etkisini araştırmışlardır. Tuz stresi uygulaması toplam klorofil içeriğinde önemli azalmalara yol açarken, karotenoid içeriği artmıştır. Araştırmacılar, klorofil içeriğindeki azalmanın Afzal çeşidine göre EMB 82-12 çeşidinde ve karotenoid içeriğindeki artışın ise EMB 82-12 çeşidine göre Afzal çeşidinde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Dolatabadian ve ark.'nın (2008) kanola (*Brassica napus* L.) bitkisinde tuz stresinin yarattığı etkileri inceledikleri çalışmada, ROT'un oluşturduğu hasara göre, MDA miktarının kök ve yapraklarda artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Klorofil içeriğinin tuzluluktan etkilendiğini ve tuz uygulanmamış bitkilere göre önemli azalmalar olduğunu kaydetmişlerdir.

Khan ve Panda (2008) tuzluluk stresi koşullarında iki çeltik çeşidinin (*Oryza sativa* L. cv. Lunishree ve cv. Begunbitchi) kökleri üzerine yaptıkları çalışmalarında, Lunishree ve Begunbitchi çeşitlerinin köklerini 24 saat süreyle NaCl'nin farklı konsantrasyonlarına (50, 100, 150 mmol/L) maruz bırakmışlardır. Araştırmacıların sonuçları Lunishree köklerinde daha güçlü bir düşüş olmakla birlikte her iki çeşitte de RWC değerinde azalış olduğunu göstermiştir.

Cha-Um ve Kirdmanee (2009), 0, 100, 200, 300 ve 400 mM NaCl uygulanmış mısır (*Z. Mays* L. cv. *Saccharata* ve *Z. Mays* L. cv. *ceratina*) fidelerinde pigment içeriği ve prolin akümülyasyonundaki değişimleri incelemişlerdir. Araştırmacılar klorofil yıkımının tuza maruz bırakılmış fidelerde osmotik potansiyel ile ilişkili olduğunu

bildirmişlerdir. *Klorofil a*, *klorofil b* ve *toplam klorofil* konsantrasyonunun önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

Oueslati ve ark. (2010) *Mentha pulegium* üzerinde yaptıkları çalışmada, fidelere 2 hafta boyunca 0, 25, 50, 75 ve 100 mM NaCl uygulayarak tuz stresinin büyüme parametreleri, iyon konsantrasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Tuz stresi altında bitki büyüme ve gelişmesi ile yapraklarda nispi su oranının azaldığını belirlemişlerdir. Ayrıca gövde büyümesinin kök büyümesine göre daha olumsuz etkilendiğini rapor etmişlerdir.

Saleem ve ark. (2011) Nirali ve Posa Sawni bamya çeşitlerinde yaptıkları çalışmalarında, tuz stresinin yeşil aksam ve kök yaş ağırlığı, transpirasyon oranı, klorofil b içeriğinde, önemli ölçüde azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca hassas Posa Sawni çeşidinde yapraklarda Na^+ ve Cl^- iyonlarının daha yüksek oranlarda birikim gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Turan ve Tripathy (2012), tuzun (200 mM NaCl) iki çeltik çeşidinde (tuza duyarlı, PB1; tolerant CSR 10) lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Stres uygulamasından 24 ve 72 saat sonrasında MDA içeriklerini ölçmüşler ve tuz stresinin erken safhalarında PB1’de lipid peroksidasyonu derecesinin yüksek olduğunu bulmuşlardır. Buna karşın, tuza tolerant CSR10 MDA birikimini azalttığı için strese direnç göstermiştir. 72 saat sonra her iki çeşitte de MDA düzeyinde önemli ölçüde artış olurken PB1’deki artış daha yüksek bulunmuştur. CSR10’da lipid peroksidasyon düzeyinin daha düşük olması, tuz stresi altında tuza toleranslı bitkilerin oksidatif hasardan daha iyi korunduğunu göstermiştir.

Aktaş ve Kılıç (2013), soya filizi (*Glycine max* L.) bitkisinde tuz stresinin etkisini araştırmışlardır. Çimlenme sonrası fidelere 25 ve 50 mM NaCl uygulanmış ve sürgün-kök boy uzunluğu, sürgün-kök yaş ağırlıkları üzerine etkileri araştırılmıştır. Tuz konsantrasyonu arttıkça sürgün ve kök uzunluğu azaldığını bildirmişlerdir.

Kaddour ve ark. (2013) su teresi (*Nasturtium officinale*) üzerinde yaptıkları çalışmada fidelere 3 hafta boyunca 50, 100 ve 150 mM NaCl uygulamışlardır. Yapılan analizlerde 150 mm NaCl uygulamasının bitki kuru ağırlığını azalttığını tespit etmişlerdir.

Lee ve ark. (2013), tuza duyarlı (IR-29) ve tuza toleranslı (Pokkali) iki pirinç çeşidinde fotosentetik aktivite ve fotosentetik pigment içeriği üzerine tuz stresinin (100 mM) etkilerini araştırmışlardır. IR-29’da klorofil içeriği düşerken karotenoid içeriği

artmıştır. Tuza toleranslı Pokkali ise total karotenoid ve total klorofil içeriği bakımından tuz stresinden etkilenmemiştir.

Rajakumar (2013), tuz stresinin (NaCl) pirinç (*Oryza sativa* L.) tohum çimlenmesine ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisini *in vitro* koşullarda araştırmıştır. Artan NaCl miktarının tohumların çimlenmesini önemli ölçüde etkileyerek çimlenme oranını düşürdüğünü belirlemiştir. Ayrıca NaCl miktarı arttıkça prolin birikimi artarken total protein miktarında düşüş gözlemlenmiştir. Araştırmacı NaCl nin tohum çimlenmesi ve biomas üretimi üzerine antagonist etki ettiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, *in vitro* kültür koşullarında farklı konsantrasyonlarda tuz (NaCl, CaCl₂, MgCl₂) stresine maruz bırakılmış Karacadağ yerel çeltik (Siverek populasyonu) çeşidinde meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Bu çalışma Batman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada, materyal olarak yerel Karacadağ çeltik çeşidinin Siverek popülasyonu kullanılmıştır (**Şekil 3.1.**).

Karacadağ çeltiğinin sürgün boyu ortalama 104 cm'dir. Yaprak durumu horizontal olup salkımları yere yatıktır. Çeltik taneleri sarı renkli ve uzun olup 1000 tane ağırlığı 28 g'dır. 135 günde olgunlaşan Karacadağ çeltiği, 500-600 kg/da verim potansiyeline sahip pirinç randımanı %60 olan bir çeşittir (Anonim, 2015).



Şekil 3.1. Karacadağ çeltik çeşidi (Siverek popülasyonu) tohumlarının genel görünümü

Çeltik Bitkisinin Takson Hiyerarşisi:

Alem:Plantae

Bölüm:Angiosperms

Sınıf:Monocots

Takım:Poales

Aile:Poaceae

Cins:Oryza

Tür: *Oryza sativa* L.

3.2. Yöntem

Diyarbakır Karacadağ yerel çeltik çeşidinin (Siverek popülasyonu) *in vitro* kültür ortamında oluşturulan strese verdiği yanıtlar incelendi. Bu amaçla çalışma iki aşamada yürütüldü. Birinci aşamada çeltiğin *in vitro* ortamda yetiştirilmesi ile ilgili ideal kültür koşulları oluşturuldu. İkinci aşamada ise *in vitro* koşullarda farklı tuz çeşidi

ve konsantrasyonlarının çeltiğin çimlenme ve erken gelişim evresinde meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal değişimler araştırıldı.

3.2.1. *In vitro* kültür koşulları

3.2.1.1. MS besi ortamında kullanılan stok çözeltilerin hazırlanması

MS (makro elementler) Ana Çözeltisi

NH_4NO_3	16.5 g
KNO_3	19.0 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.4 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.7 g
KH_2PO_4	1.7 g
Distile Su	1000 ml'ye tamamlanır

MS Mikro 1 Elementler Ana Çözeltisi

H_3BO_3	620 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1695 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	860 mg
KI	83 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25 mg
Distile su	100 ml'ye tamamlanır.

MS Mikro 2 Elementler Ana Çözeltisi

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	25 mg
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	25 mg
Distile su	100 ml'ye tamamlanır

Kompleks Kelatör Ana Çözeltisi

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.725 g
Na_2EDTA	2.785 g
Distile su	1000 ml'ye tamamlanır.

Vitamin Karışımı Ana Çözeltisi

Nikotinik asit	50 mg
Glisin	200 mg
Pridoksin HCl	50 mg
Distile su	100 ml'ye tamamlanır.

B1 Vitamini Ana Çözeltisi

Tiamin HCl	100 mg
------------	--------

Distile su

100 ml'ye tamamlanır.

3.2.1.2. 1 Litre 1/1Murashige ve Skoog (MS) besi ortamının hazırlanması

Araştırmamızda kullanılan 1 litre 1/1MS besi ortamı aşağıda verildiği şekilde hazırlanmıştır.

1 litrelik bir erlen mayer içerisine 750 mL steril edilmiş distile saf su bırakılmıştır. Daha sonra sırasıyla; 30 g sakkaroz, 100 mL MS ana solüsyonu, 10 mL MS-1, 1 mL MS-2, 10 mL kompleks kelatör, 1 mL vitamin karışımı, 1 mL B1 vitamini eklenerek çözelti steril distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. MS kültür besi ortamı hazırlanırken sırasıyla eklenen her stok çözülden sonra solüsyon 2-4 dakika çalkalanmıştır. Besi ortamının pH'sı 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl ile 5.7 olacak şekilde ayarlanmıştır. Katılaştırma ajanı olarak kültür besi ortamına 5.458 g agar eklenmiştir. Hazırlanan besi ortamı, 25 dakika süre ile 121 °C'de 1 atm basınç altında otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyonu sağlanan besi ortamı röpikaj odasında bulunan steril kabin içerisinde Magenta GA-7 kaplarına 50-60 ml olacak şekilde bölüştürülmüştür.

3.2.1.3. Cam malzeme ve filtre kağıtlarının sterilizasyonu

Deneylerde kullanılan erlen mayer ve beher fırça yardımıyla temizlenip, sıcak sudan geçirildikten sonra üç defa saf sudan geçirilerek etüvde 180°C'de 3 saat bekletilmek suretiyle steril edilmiştir. Mezür, balon joje ve pipetler ise yıkanıp, sıcak sudan geçirildikten sonra üç defa saf sudan geçirilerek 80°C'de etüvde 3 saat bekletilmek suretiyle sterilizasyonları sağlanmıştır.

Bitkisel materyallerin kültüre alındığı Magenda GA-7 kültür kapları sıcak su ile yıkanıp, üç defa saf sudan geçirilip kurutma işlemi sağlandıktan sonra alüminyum folyo ile sarılarak 121 °C'de ve 1 atm basınç altında 25 dakika süre ile otoklavda steril edilmiştir. Filtre kağıtları, 180 °C'de 2 saat süre ile, besi ortamları ve stokların hazırlanmasında kullanılan saf sular ise yine etüvde 180 °C'de 3 saat süre ile sterilize edilmiştir.

3.2.1.4. Pens ve bisturilerin hazırlanması ve sterilizasyonu

Materyallerin uygun boyutlarda hazırlanması ve kültür kaplarına yerleştirilmesi için kullanılan pens ve bisturiler % 96'lık alkol ile silinip 6-9'lu gruplar halinde alüminyum folyo ile sarılarak kuru hava sterilizatöründe 300 °C'de 30 dakika süre ile steril edilmiştir.

3.2.1.5. Röpikaj ve kültür odalarının hazırlanması ve sterilizasyonu

Deneyler başlatılmadan 24 saat önce röpikaj odasındaki kapı, masa, dolaplar, zemin ve duvarlar seyreltilmiş sodyum hipoklorit (NaOCI; % 5 klorür içeren) ile silinmiştir. Çalışmanın yapılacağı steril kabinin iç kısımları %70'lik alkol ile temizlenmiştir. Rröpikaj odasının sterilizasyonu yapıldıktan sonra ultraviyole lambası 2-4 saat açık bırakılarak sterilizasyon işlemleri tamamlanmıştır.

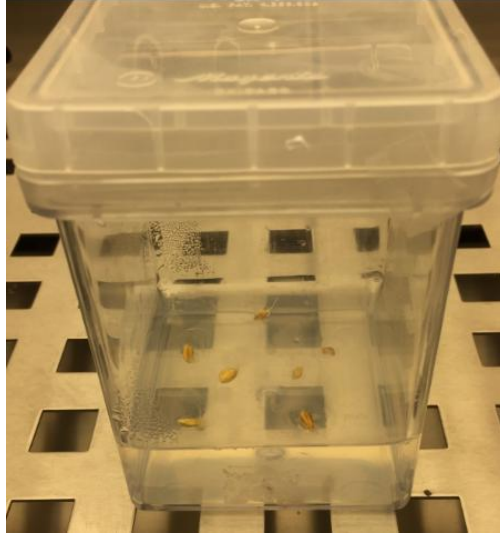
3.2.1.6. Büyüme odasının koşulları

Çeltik tohumlarının çimlendirilmesi, gelişimi ve tuz stresi uygulamalarının tümü optimum koşulların sağlandığı büyüme odasında yapılmıştır. Büyüme odası; 30-60 $\mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}^1$ ışık şiddetine sahip cıvalı Flüoresan lambalar (400 W, MBFR/U, Thorn) ve ortam sıcaklığını $25\pm 2^\circ\text{C}$ de sabit tutan bir sıcaklık kontrol sistemi bulunmaktadır. Ayrıca büyüme odasının ışık periyodu 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde ayarlanmıştır (3000-5000 lüx).

3.2.1.7. Çeltik tohumlarının NaOCI'de bekletme süresi ve besi ortamının belirlenmesi

Çeltik tohumları %70'lik etil alkolde 30 sn bekletildikten sonra %5'lik sodyum hipokloritte (NaOCI) farklı sürelerde (0-10-15-20-25-30-35-40-45-50-60 dakika) ayrı ayrı bekletilerek optimum yüzey sterilizasyonu araştırıldı. Yüzey sterilizasyonu sağlanan tohumlar, steril distile su ile 5 kez 5'er dakika çalkalanmak üzere NaOCI'den arındırılarak sterilizasyon işlemi tamamlandı. Steril tohumlar 30 g/L sakkaroz, 5.465 g agar ile desteklenmiş 50 mL besi ortamının bulunduğu Magenda GA-7 kültür kaplarında kültüre alınarak, büyüme odasında çimlenmeye bırakıldı.

Çeltik tohumlarının *in vitro* ortamda yetiştirilmesi için ideal besi ortamını belirlemek amacıyla, 30 g/L sakkaroz ve 5.458 g/L agar ile desteklenmiş hormonsuz Murashige&Skoog (Murashige ve Skoog,1962) besi ortamının gücü (MS 1/1, 1/2, 1/4) test dildi. Bu amaçla %5'lik NaOCI ideal bekletme süresi uygulanan çeltik tohumları kültüre alınarak büyüme odasında çimlenmeye bırakıldı (**Şekil 3.2.**).



Şekil 3.2. Kültüre alınan çeltik tohumlarının genel görünümü

3.2.2. *In vitro* Koşullarda Tuz stresi Uygulamaları

Farklı tuz çeşidi ve konsantrasyonlarının çeltiğin çimlenme ve erken gelişim evresindeki etkisini incelemek için **Çizelge 3.1.** de belirtilen miktarda alınan tuz 1 lt 1/4 MS besin solusyonunda ayrı ayrı çözdürülmüştür.

Çizelge 3.1. Tuz Çözeltilerinin Hazırlanması

Tuz Çeşidi	Tuz Konsantrasyonu (mM)				
	25	50	75	150	300
Sodyum Klorür (NaCl)	1.46 g	2.92 g	4.37 g	8.75 g	17.5 g
Kalsiyum Klorür (CaCl ₂)	2.38 g	4.76 g	7.14 g	14.28 g	28.56 g
Magnezyum Klorür (MgCl ₂)	2.77 g	5.54 g	8.31 g	16.63 g	33.26 g

3.2.2.1. Tuz stresinin çimlenme üzerine etkisi

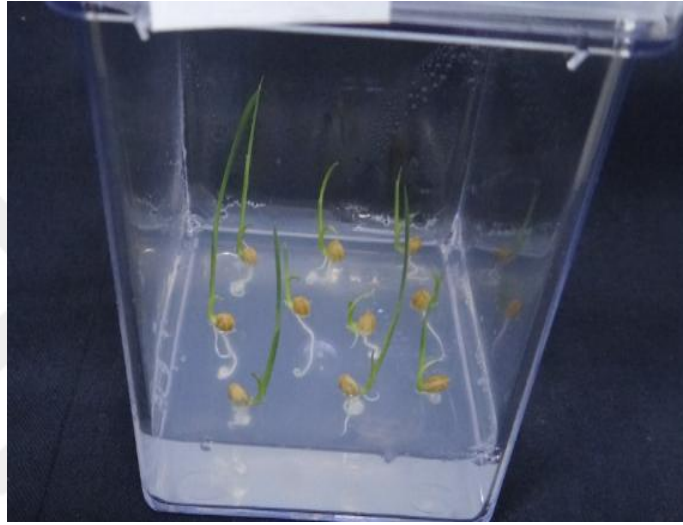
NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂ için 5 farklı konsantrasyonda (25, 50, 75, 150, 300 mM) hazırlanarak oluşturulan tuz stresinin, çeltik tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi kontrol grubu ile birlikte araştırıldı. Bu amaçla, yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar tuz konsantrasyonlarını içerecek şekilde hazırlanan ve bir önceki deneme sonucuna göre belirlenen MS besin ortamında kültüre alındı. 3 haftalık kültür periyodu sonunda çimlenme verileri alındı.

3.2.2.2. Tuz stresinin fide gelişimi üzerine etkisi

Karacadağ çeltiğinin gelişimi üzerine tuz stresinin etkisini belirlemek amacıyla tohumlar hormonsuz MS besin ortamında kültüre alındı. 1 haftalık kültür periyodu sonunda çimlenmiş yaklaşık 1 cm boyundaki (**Şekil 3.3.**) çeltik fideleri 0 (kontrol), 25,

50, 75, 150, 300 mM'lik NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂ içeren MS besi ortamının bulunduğu kültür kaplarına aktarılarak büyüme odasında gelişmeye bırakıldı. Tüm besi ortamı 30 g sakkaroz ve 5.458 g agar ile desteklendi.

3 haftalık kültür periyodu sonunda çeltik fidelerinin yeşil aksam ve kök kısımları ayrı ayrı hasat edilerek taze ve kuru ağırlıkları alındı ve aşağıda belirtilen analizler yapılmaya kadar derin dondurucuda (-42°C) saklandı. Farklı çeşitlerde ve konsantrasyonlarda uygulanan tuz stresi sonrası, Karacadağ çeltik çeşidinin verdiği yanıtlar, aşağıdaki analizler ile belirlendi:



Şekil 3.3. 1 haftalık çimlenme periyodu sonunda çeltik fidelerinin genel görünüşü

3.2.3. Ölçüm ve analizler

3.2.3.1. Çimlenme yüzdesi

Kültür ortamına ekimi yapılan tohumlardan, 3 hafta sonunda çimlenen tohum sayısı belirlenerek yüzde (%) çimlenme oranları hesaplanmıştır.

3.2.3.2. Sürgün boyu-kök uzunluğu

Rastgele seçilen (10 adet) bitkilerin kök başlangıcından yaprak uç bölgesine kadar olan kısmın uzunlukları ayrı ayrı ölçülerek (cm) sürgün boyu olarak belirlenmiştir. Kök başlangıcından kök ucuna kadar olan kısımların uzunlukları ayrı ayrı ölçülerek (cm) ise kök uzunluğu belirlenmiştir.

3.2.3.3. Yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı

Her bir gruptan rastgele seçilen bitkilerin yeşil aksamı ayrılarak, yaş ağırlıkları hassas terazi ile gram cinsinden tartılmıştır. Daha sonra 55°C'de ağırlık

değişimi olmayıncaya kadar etüvde bekletilmiş ve son ağırlıklar alınarak kuru ağırlıkları yine aynı şekilde belirlenmiştir.

3.2.3.4. Kök yaş-kuru ağırlığı

Bitkilerin kökleri yeşil aksamdan ayrılarak, hassas terazi ile gram cinsinden yaş ağırlıkları belirlendikten sonra, etüvde 55°C'de ağırlık değişimi olmayıncaya kadar bekletilmiş ve son ağırlıklar alınarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

3.2.3.5. Nispi su içeriklerinin belirlenmesi (%RWC)

Uygulamanın 3. haftasında her bir gruptan rastgele seçilen 5 adet materyalin yaş ağırlıkları ölçülerek 6 saat süre ile steril saf su içinde bekletilmiş ve bitkilerin turgorlu ağırlıkları alınmıştır. Eksplantlar, 55°C'de etüvde ağırlık değişimi olmayıncaya kadar bekletilmiş daha sonra kuru ağırlıklar saptanmıştır. Her bir gruba ait örneklerin nispi su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır (Barr ve Weatherley, 1962).

$$\text{Nispi Su İçeriği (\% RWC)} = [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100$$

YA=Yaş ağırlık, KA=Kuru ağırlık, TA=Turgorlu ağırlık

3.2.3.6. Fotosentetik pigment içeriklerinin belirlenmesi

Total klorofil, klorofil a, klorofil b ve karotenoid içeriği ölçümleri Arnon (1949)'a göre yapılmıştır. Rastgele alınan 0.25 g taze yaprak örnekleri 2 mL %80'lik asetonla havanda homojenize edilmiştir. Homojenat filtre kağıdından süzdürülerek daha sonra %80'lik aseton ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. Ekstraktlar 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek, absorbans değerleri spektrofotometrik olarak klorofil a 663, klorofil-b 645 ve karotenoid 480 nm'de alınmıştır. Fotosentetik pigment miktar ölçüm çalışmaları 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Fotosentetik pigmentlerin miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

$$\text{mg klorofil-a / g doku} = [\Delta A_{663} \times 12.70 - \Delta A_{645} \times 2.69] (V/1000 \times W)$$

$$\text{mg klorofil-b / g doku} = [\Delta A_{645} \times 22.90 - \Delta A_{663} \times 4.68] (V/1000 \times W)$$

$$\text{mg total klorofil / g doku} = [\Delta A_{645} \times 20.2 + \Delta A_{663} \times 8.02] V/1000 \times W$$

$$\text{mg karotenoid / g doku} = [\Delta A_{480} + \Delta A_{663} \times 0.114 - \Delta A_{645} \times 0.638/112.50] (V/1000 \times W)$$

Eşitliklerde; Δ , ekstraktın belirtilen dalga boyundaki absorbans değerini; V, %80'lik asetonun ml olarak son hacmini; W, ekstre edilen dokunun g olarak yaş ağırlığını göstermektedir.

3.2.3.7. Lipid peroksidasyonu derecesinin belirlenmesi

Yaprak dokularında meydana gelen hücre zarı hasarını ölçmek için lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarı tiyobarbütirik asit (TBA) testi ile belirlenmiştir (Ohkawa ve ark., 1979). Bu analiz için kontrol ve stres grubuna ait yaprak dokularından alınan 0.1 g'lık örnekler sıvı azotta öğütüldükten sonra üzerlerine 2 mL %5'lik triklor asetik asit (TCA) eklenerek homojenizasyon sağlanmıştır. Bu karışım 25 °C'de 12.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir.

0.4 µL süpernatant ve içinde %0.5 oranında TBA bulunan 0.4 µL %20'lik TCA çözeltisi içeren reaksiyon karışımı, 95 °C'lik sıcak su banyosunda tutulduktan sonra buz banyosuna konulmuştur. Sonraki aşamada 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edilen karışımların absorbans değerleri spektrofotometre yardımıyla 532 ve 600 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Kör olarak içerisinde %0.5 oranında TBA bulunan %20'lik TCA çözeltisi kullanılmıştır. Aynı işlemler 1,1,3,3-Tetrametoksiopropan için günlük tekrarlanarak MDA standart eğrisi grafiği çizilerek dokulardaki MDA miktarı hesaplanmış sonuçlar µmol/g TA (taze ağırlık) olarak ifade edilmiştir (Ecem, 2010).

3.2.4. İstatistiksel analizler

Rastgele seçilen örneklerden elde edilen verilerin analizi SPSS Paket programı (20.0) kullanılarak yapılmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıkların önem derecesini belirlemek için tek yönlü varyans analizinin Duncan yöntemi seçilmiştir. Örnek sayıları genellikle her parametre için ayrı ayrı seçilmiş (sürgün boyu; n=15, çimlenme yüzdesi; n=20) her bir testin güvenilirlik oranı %95 ($p < 0.05$) olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Çeltik Tohumlarının NaOCl'de Bekletme Süresi ve Besi Ortamının Belirlenmesi

Karacadağ çeltik (Siverek popülasyonu) çeşidinin *in vitro* ortamda yetiştirilmesi ile ilgili optimum kültür koşullarını oluşturmak amacıyla; %5'lik NaOCl'in farklı sürelerinde ayrı ayrı bekletilen olgun tohumlar besi ortamlarında kültüre alınarak sterilizasyon süreleri değerlendirildi.

Kültüre alındıktan 3 hafta sonra, bekleme süresi ile besi ortamlarında oluşan enfeksiyon yüzdesinin ters orantılı, çimlenme yüzdesi ile doğru orantılı olduğu görüldü (**Çizelge 4.1.**). Bekletme süresi uzadıkça enfeksiyon oranının azaldığı, çimlenen tohum sayısında ise artış olduğu belirlendi. Sterilizasyon yapılmadan kültüre alınan tohumların tamamının enfekte olması, kültüre alınmadan önce tohumlar için sterilizasyon gerekliliğini destekledi.

Deneylerden elde edilen sonuçlara göre; çimlenen tohum sayısının artması ve aynı zamanda enfeksiyon riskinin azaltılması için çeltik tohumlarının kültüre alınmadan önce %5'lik NaOCl'de minimum 60 dk bekletilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Çizelge 4.1. %5'lik NaOCl'in farklı sürelerinde bekletilen çeltik tohumlarında enfeksiyon ve çimlenme yüzdesi

	NaOCl'de Bekletme Süresi (dakika)									
	0	10	15	20	25	30	35	45	50	60
Enfeksiyon Oranı (%)	100	10	9	5	4	4	3	3	3	2
Çimlenme Oranı (%)	10	85	85	90	90	90	90	90	95	95

Rakamlar 20 materyalin ortalamasını göstermektedir.

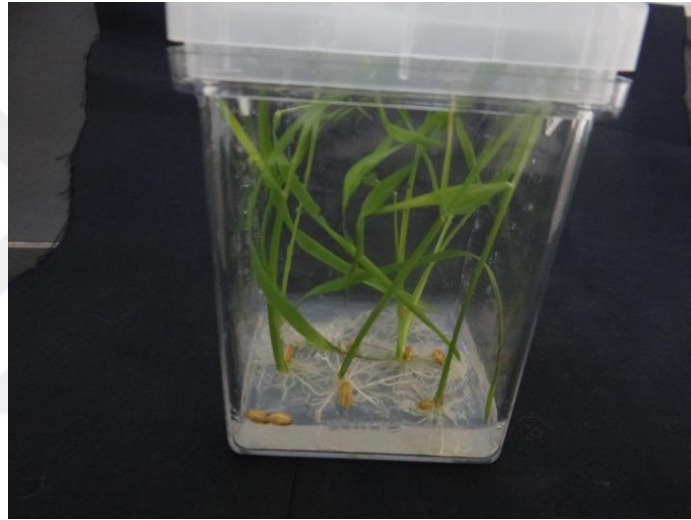
Çeltik tohumlarının çimlenmesinde optimum koşulları sağlamak amacıyla, MS tuzlarının farklı konsantrasyonlarını (MS 1/1, 1/2, 1/4) içeren besi ortamları test edildi. **Çizelge 4.2.**'de görüldüğü gibi, genel olarak test edilen ortamların tümünde, çimlenme yüzdesi bakımından çok büyük farklılıklar görülmezken en yüksek çimlenme yüzdesi (%95) 1/4 MS besi ortamından elde edildi (**Şekil 4.1.**). Bitkilerin morfolojik gelişimleri karşılaştırıldığında ise 1/4 MS besi ortamında ortalama boy uzunluğunun (22.33 cm), diğer gruptaki bitkilerin boy uzunluğundan (1/2 MS için 10.73 cm, 1/1 MS için 8.97 cm) daha iyi olduğu belirlendi.

Çizelge 4.2. Çeltik tohumlarının çimlenmesine MS gücünün etkisi

MS Besi Ortamının Gücü	Çimlenme Oranı (%)	Sürgün Boyu (cm) ± Standart Sapma
1/1 MS	85	8.97±1.80
1/2 MS	90	10.73±2.23
1/4 MS	95	22.33±1.49

Rakamlar 3 haftalık kültür periyodu sonunda 20 materyalin ortalamasını göstermektedir

Çeltik tohumlarının *in vitro* kültür çalışmaları sonucunda, test edilen besi ortamları arasında çok önemli farklılık olmadığı da göz önünde bulundurularak, hem ekonomik olması hem de yüksek çimlenme oranı ve sürgün boyuna sahip olmasından dolayı optimum besi ortamı olarak 1/4 MS seçildi.



Şekil 4.1. 1/4 MS besi ortamında çimlenen çeltik tohumları

4.2. Tuz Stresinin Karacadağ Çeltik Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi

In vitro koşullarda kültüre alınan tohumların çimlenmesi üzerine NaCl, CaCl₂, MgCl₂ konsantrasyonlarının [0 (kontrol), 25, 50, 75, 150, 300 mM] etkisi araştırıldı.

Şekil 4.2.'de sunulan verilere göre, genel olarak test edilen her üç tuz çeşidinde de konsantrasyon arttıkça çimlenme yüzdesinde bir düşüş olduğu gözlemlendi. Tuz çeşitlerinin konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bitkilere MgCl₂ ile uygulanan stresin diğer iki tuz çeşidinden daha etkili olduğu ve çimlenmeyi olumsuz yönde etkilediği belirlendi (**Şekil 4.3.** ve **Şekil 4.4.**). En düşük olarak uygulanan 25 mM MgCl₂ düzeyinde tohumların ancak %80'inde çimlenme görüldü ve bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (**Çizelge 4.3.**). NaCl ve CaCl₂'nin düşük konsantrasyonları olan 25 mM ve 50 mM karşılaştırıldığında ise çimlenme yüzdesi bakımından yakın sonuçlar verdiği ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı

belirlendi (Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.).

150 mM uygulama düzeyinde tuz çeşitleri karşılaştırılarak incelendiğinde, CaCl_2 ve MgCl_2 'nin NaCl 'den daha olumsuz etki yaparak, tohumların çimlenme yüzdelerinde anlamlı bir düşüşe sebep olduğu belirlendi. 150 mM NaCl tuz uygulamasında, kontrol grubuna göre yaklaşık %15'lik bir düşüş ölçülürken, bu oran aynı konsantrasyon için CaCl_2 tuzunda %27, MgCl_2 tuzunda %28'lik bir düşüşe tekabül etmektedir.

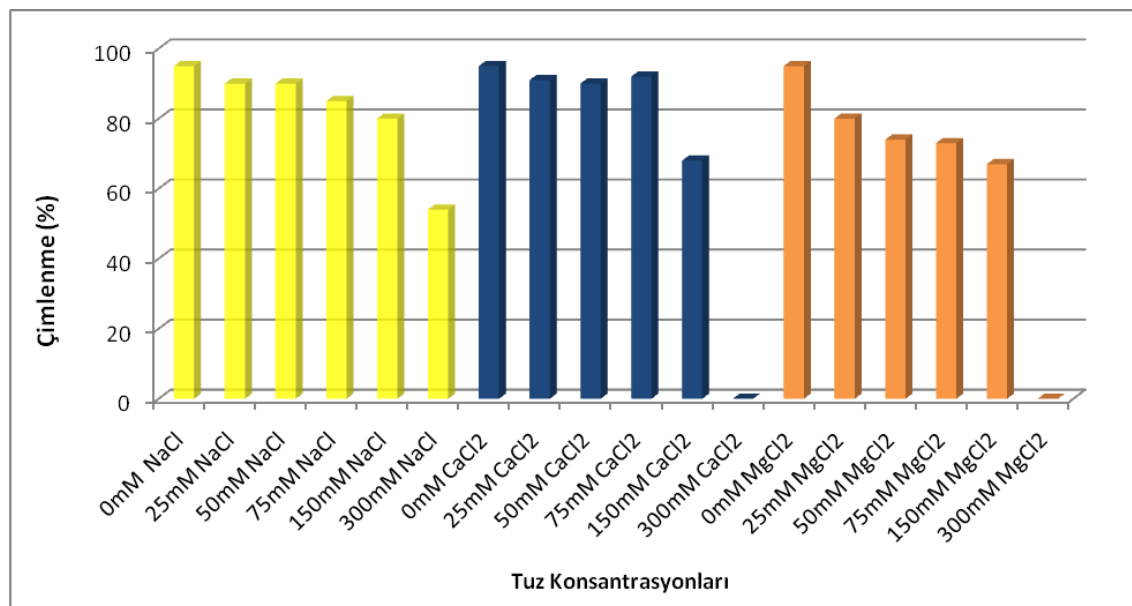
Bunun yanında 300 mM konsantrasyonda NaCl 'de kültüre alınan tohumların yarısı çimlenirken CaCl_2 ve MgCl_2 'de kültüre alınan tohumların hiç birinin çimlenmediği gözlemlendi. 300 mM NaCl uygulamasında çimlenme yüzdesinde kontrol grubuna göre %41'lik düşüş tespit edildi.

Çizelge 4.3. Farklı tuz çeşitlerinin Karacadağ çeltik tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

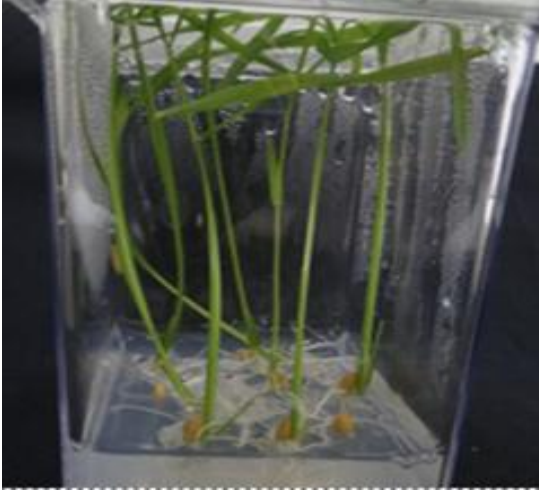
Tuz Çeşidi	Tuz Konsantrasyonu (mM)					
	Kontrol	25	50	75	150	300
NaCl	95,50 ^a	90,50 ^c	90,50 ^c	85,50 ^d	80,50 ^e	53,50 ^h
CaCl_2	95,50 ^a	91,50 ^{bc}	90,50 ^c	92,50 ^b	68,50 ^g	0.00
MgCl_2	95,50 ^a	80,50 ^e	73,50 ^f	72,50 ^f	67,50 ^g	0.00

Rakamlar 20 materyalin ortalamasını göstermektedir. Farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

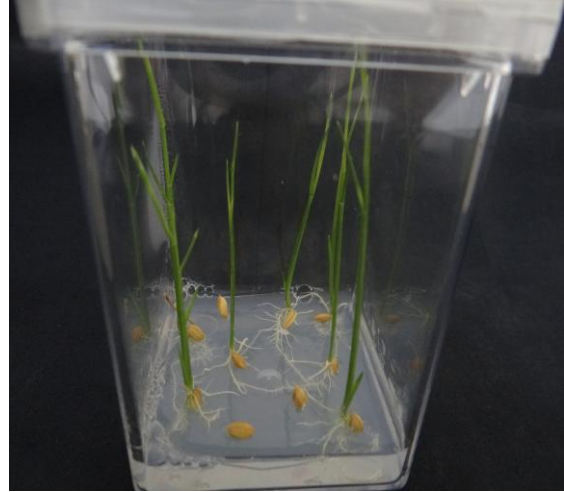
Tuz çeşidi ve konsantrasyonlarının Diyarbakır Karacadağ yerel çeltik çeşidinde çimlenme üzerine etkisini araştırdığımız bu çalışmamızda test edilen tuz çeşitleri arasında MgCl_2 'nin diğer iki tuz çeşidinden daha etkili olduğu ve çimlenmeyi olumsuz etkilediği belirlendi. 300 mM MgCl_2 ve CaCl_2 'de hiçbir tohum çimlenmezken, 300 mM NaCl 'de tohumların yaklaşık %54'ünün çimlendiği belirlendi.



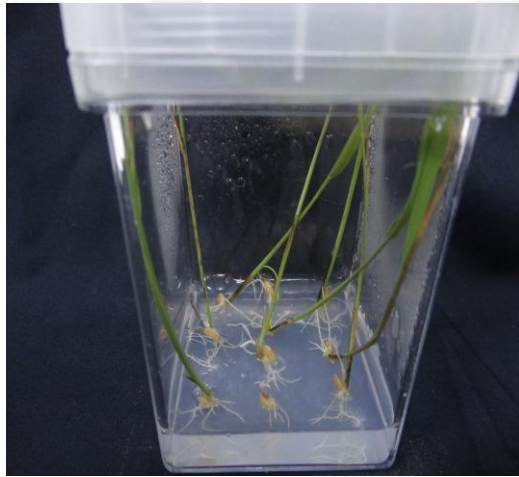
Şekil 4.2. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının çeltik tohumlarının çimlenme oranına etkisi



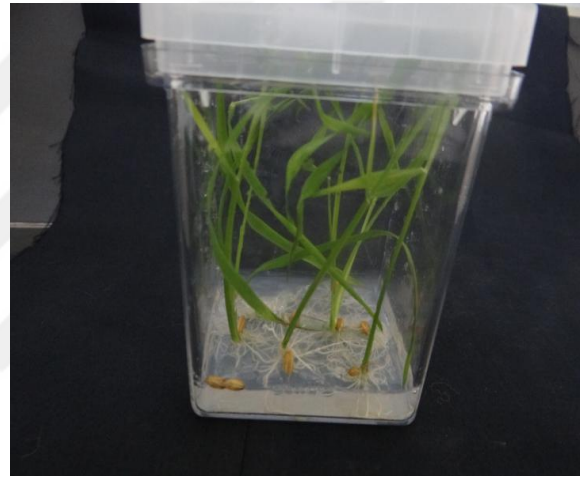
Şekil 4.3. Tuz içermeyen ortamda (kontrol) kültüre alındıktan 3 hafta sonra çeltik tohumlarının genel görünümü



Şekil 4.4. 50 mM MgCl₂ içeren besi ortamında kültüre alındıktan 3 hafta sonra çeltik tohumlarının genel görünümü



Şekil 4.5. 50 mM CaCl₂ içeren besi ortamında kültüre alındıktan 3 hafta sonra çeltik tohumlarının genel görünümü



Şekil 4.6. 25 mM NaCl içeren besi ortamında kültüre alındıktan 3 hafta sonra çeltik tohumlarının genel görünümü

Sonuç olarak, *in vitro* çimlenme ortamında tuz stresine maruz bırakılan Karacadağ çeltiğinin tuz çeşidi ve konsantrasyonuna bağlı olarak farklı düzeylerde etkilendiği tespit edildi. Çalışmamızdaki, uygulanan tuz konsantrasyonları arttıkça çimlenme yüzdesinde düşüş olduğu sonucuna paralel olarak Tun ve ark., (2003) ile Asch ve Wopereis (2001) tarafından yapılan çalışmalarda, çeltik çeşitlerinin çimlenme oranlarının artan tuzluluk ile beraber düşüş gösterdiği bildirilmiştir. Aynı şekilde Tatar (2006), IR31785 (Hasas), Kral, Demir, IR4630 (dayanıklı) ve Yavuz çeltik çeşitlerinde yaptığı çalışmada tuzluluk seviyeleri ile çimlenme oranı arasında ters bir orantı olduğunu, artan tuzlulukla beraber çimlenme yüzdesinin azaldığını rapor etmiştir.

Farklı bitki türlerinde artan tuz konsantrasyonlarının çimlenme oranını azalttığını bildiren birçok çalışma mevcuttur. Steppuhn ve ark., (2001) kanola, kuru fasulye, bezelye ve buğday bitkilerinde; Belaqziz ve ark., (2009) fas kekiğinde; Doğan

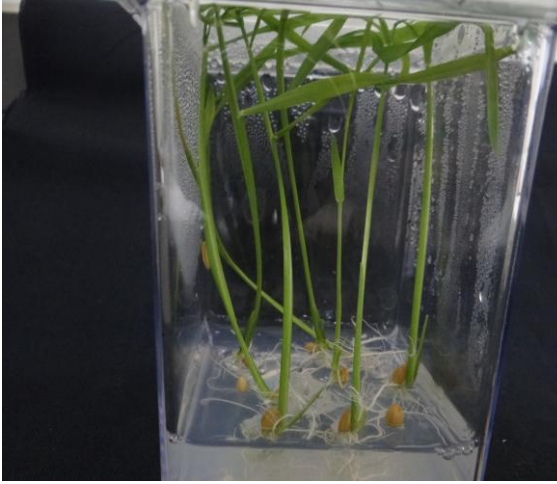
ve ark., (2008) domateste; Naseer ve ark., (2001) bazı arpa çeşitlerinde yaptıkları çalışmada tuz stresinin tohum çimlenmesini olumsuz etkilediğini ve artan tuz stresinin tohum çimlenmesini azalttığını bildiren bulguları çalışmamızla uyum göstermektedir. Tüm bu veriler, tohum çimlenmesinin, kullanılan tuzun doz ve çeşidine, bitki türü, çeşidi ve genotipine göre değiştiğini göstermektedir.

4.3. Tuz stresinin Fide Gelişimine Etkisi

Karacadağ çeltik çeşidinin çimlenme aşamasından sonra, tuz stres faktörünün gelişim aşamasındaki etkilerini belirlemek amacıyla, 0 (kontrol), 25, 50, 75, 150, 300 mM'lık NaCl, CaCl₂ ve MgCl₂ içeren 1/4 MS besi ortamında mikro sürgünler kültüre alınarak aşağıda belirtilen analizler yapıldı.

4.3.1.Sürgün boyu-kök uzunluğu üzerine etkisi

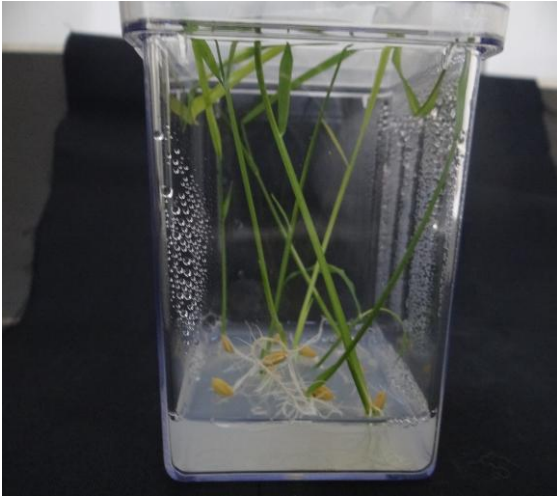
0 (kontrol), 25, 50, 75, 150, 300 mM NaCl içeren 1/4 MS besi ortamında kültüre alınan çeltik fidelerinin 3 haftalık kültür periyodu sonunda (**Şekil 4.7.**, **Şekil 4.8.**, **Şekil 4.9.**, **Şekil 4.10.**, **Şekil 4.11.**, **Şekil 4.12.**) yeşil aksam ve kök kısımları ayrı ayrı hasat edilerek sürgün boyu ve kök uzunlukları ölçüldü.



Şekil 4.7. Tuz içermeyen (kontrol) besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



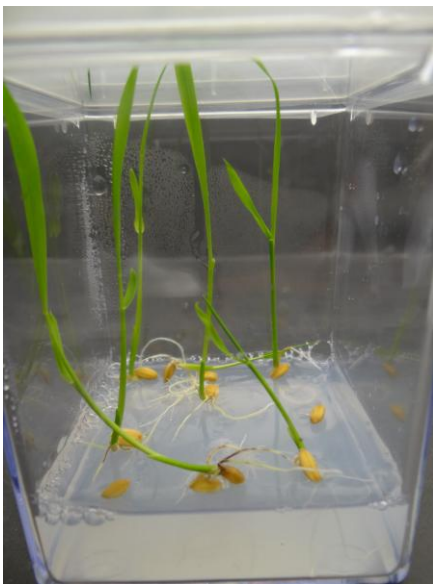
Şekil 4.8. 25 mM NaCl içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



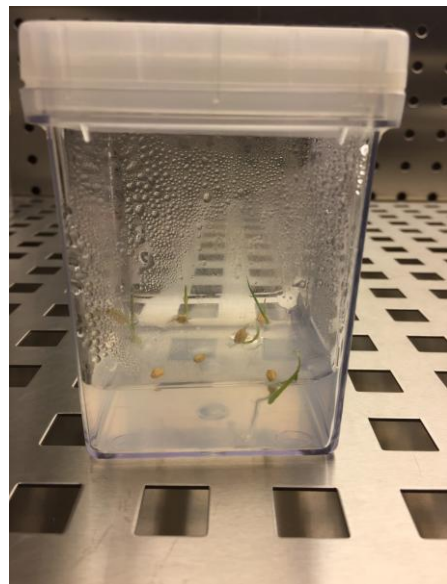
Şekil 4.9. 50 mM NaCl içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



Şekil 4.10. 75 mM NaCl içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



Şekil 4.11. 150 mM NaCl içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



Şekil 4.12. 300 mM NaCl içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü

Genel olarak NaCl konsantrasyonu arttıkça bitkilerin gelişiminin yavaşladığı ve boylarında azalma olduğu görüldü (**Çizelge 4.4.**). Kontrol grubu ile kıyaslama yapıldığında düşük konsantrasyonlarda (25 mM ve 75 mM) NaCl uygulamalarında fidelerin bitki boylarında azalmanın yaklaşık %5 gibi küçük bir oran olduğu ve bu oranın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. NaCl'nin yüksek konsantrasyonlarında ise bitki boylarında belirgin bir azalmanın olduğu ve bu azalmanın 150 mM NaCl seviyesinde kontrole göre %50 oranında olduğu belirlendi. 300 mM konsantrasyonundaki NaCl uygulamasında ise materyaller çok az gelişim gösterdiği ve sürgün boyundaki azalmanın %95'lere ulaştığı belirlendi.

NaCl uygulamalarının kök boyu üzerine etkileri incelendiğinde ise konsantrasyonlar arasında genel olarak önemli bir fark olmadığı belirlendi. Kontrol grubu ile 25 ve 75 mM konsantrasyonlar arasındaki fark düşük ve istatistiksel olarak da önemsiz bulundu (**Çizelge 4.4.**). Buna karşın, 300 mM'lık NaCl uygulamasında kök boyunun önemli derecede azaldığı (%98), bu azalmanın da istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.4. Tuz stresinin sürgün boyu ve kök uzunluğu üzerine etkisi (santimetre \pm standart sapma).

		Tuz Konsantrasyonu (mM)						
		Tuz	Kontrol	25	50	75	150	300
		Çeşidi						
Sürgün Boyu	NaCl	21,38 \pm 2,74 ^a	20,33 \pm 3,44 ^a	14,17 \pm 5,07 ^b	19,45 \pm 1,96 ^a	10,24 \pm 2,31 ^c	1,12 \pm 0,26 ^d	
	CaCl ₂	21,38 \pm 2,74 ^{ab}	22,24 \pm 2,64 ^a	19,99 \pm 2,75 ^b	15,34 \pm 3,12 ^c	3,24 \pm 0,40 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e	
	MgCl ₂	21,38 \pm 2,74 ^a	17,91 \pm 3,83 ^b	7,46 \pm 1,43 ^c	22,39 \pm 3,11 ^a	1,71 \pm 0,68 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e	
Kök Uzunluğu	NaCl	3,13 \pm 0,35 ^{ab}	3,00 \pm 0,50 ^{ab}	2,54 \pm 0,63 ^c	3,07 \pm 1,02 ^{ab}	4,40 \pm 1,20 ^a	0,07 \pm 0,00 ^d	
	CaCl ₂	3,13 \pm 0,35 ^a	2,64 \pm 0,53 ^a	1,95 \pm 0,50 ^b	1,08 \pm 0,17 ^c	0,21 \pm 0,01 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e	
	MgCl ₂	3,13 \pm 0,35 ^a	4,07 \pm 1,05 ^a	2,02 \pm 0,95 ^b	4,53 \pm 1,07 ^a	0,01 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^e	

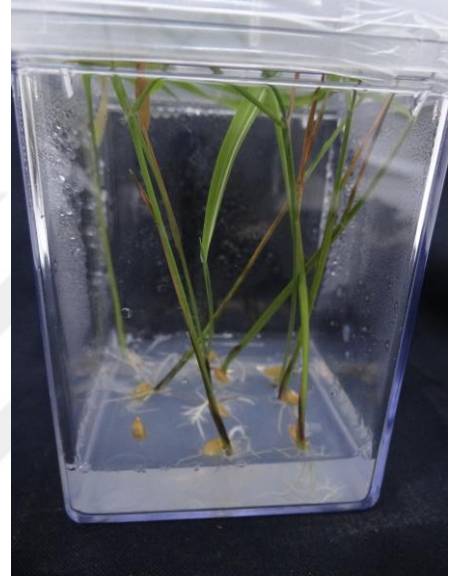
Rakamlar 15 materyalin ortalamasını göstermektedir. Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

CaCl₂ tuz uygulamasında kültüre alınan çeltik fidelerinde, sürgün boyu açısından test edilen konsantrasyonlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (**Şekil 4.13., Şekil 4.14., Şekil 4.15., Şekil 4.16.**), düşük konsantrasyonlarda (25 ve 50 mM) anlamlı bir fark görülmedi (**Çizelge 4.4.**). 75 ve 150 mM konsantrasyonlarında ise istatistiki olarak, kontrol grubuna göre bitkilerin boyunda önemli bir azalma olduğu gözlemlendi. 75 mM'lık tuz uygulamasındaki azalma yaklaşık %25 iken, 150 mM'lık uygulamada ise %85 olarak ölçüldü.

Genel olarak tuz konsantrasyonları arttıkça kök boyunda azalma gözlemlendi. İstatistiksel olarak bu azalma, kontrol grubu ile 25 mM konsantrasyonundaki tuz uygulaması arasında önemli olmasa da, 50, 75 ve 150 mM konsantrasyonlarında anlamlı bulundu (**Çizelge 4.4.**). Bitkilerin kök boyunda, 50 mM'lık uygulamada yaklaşık %38, 75 mM'lık uygulamada yaklaşık %66 oranında düşüş olduğu belirlendi. CaCl_2 'nin yüksek konsantrasyonlarında (150 ve 300 mM) kök gelişiminin oldukça zayıf kaldığı, 300 mM konsantrasyonda ise bitkilerin gelişmediği belirlendi.



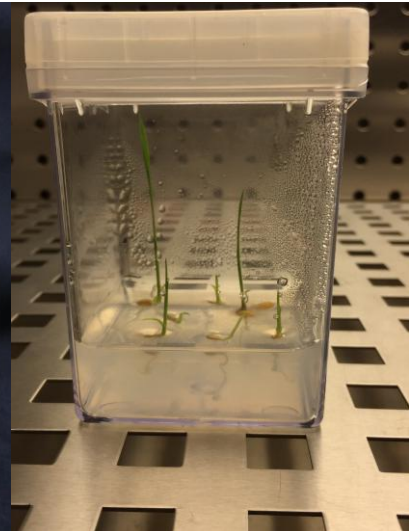
Şekil 4.13. 25 mM CaCl_2 içeren besiyolu ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



Şekil 4.14. 50 mM CaCl_2 içeren besiyolu ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



Şekil 4.15. 75 mM CaCl_2 içeren besiyolu ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



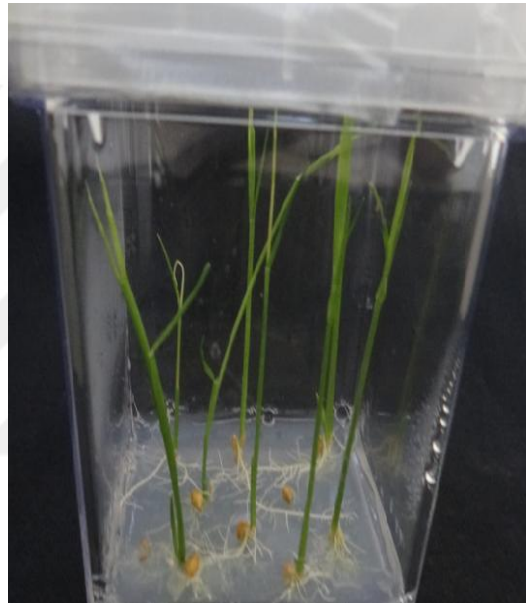
Şekil 4.16. 150 mM CaCl_2 içeren besiyolu ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü

Diğer tuz çeşitlerinde olduğu gibi $MgCl_2$ 'ün konsantrasyonu arttıkça sürgün boyunda uzama olmadığı belirlendi (Şekil 4.17., Şekil 4.18., Şekil 4.19., Şekil 4.20.). Boy uzunluğu istatistikî olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı (75 mM $MgCl_2$ uygulaması hariç) bulundu.

$MgCl_2$ 'nin kök boyu üzerine etkisine bakıldığında ise, 25 ve 75 mM tuz uygulanmış materyallerin kök boyunda kontrol grubuna göre bir artış olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Çizelge 4.4.). Ayrıca yüksek tuz konsantrasyonlarının (150 ve 300 mM) uygulandığı fidelerin köklerinin hiç gelişmediği belirlendi.



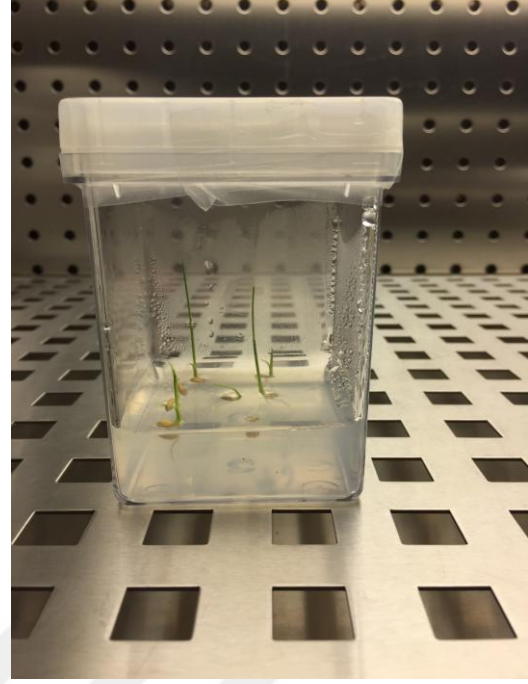
Şekil 4.17. 25 mM $MgCl_2$ içeren besiy ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü



Şekil 4.18. 50 mM $MgCl_2$ içeren besiy ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü

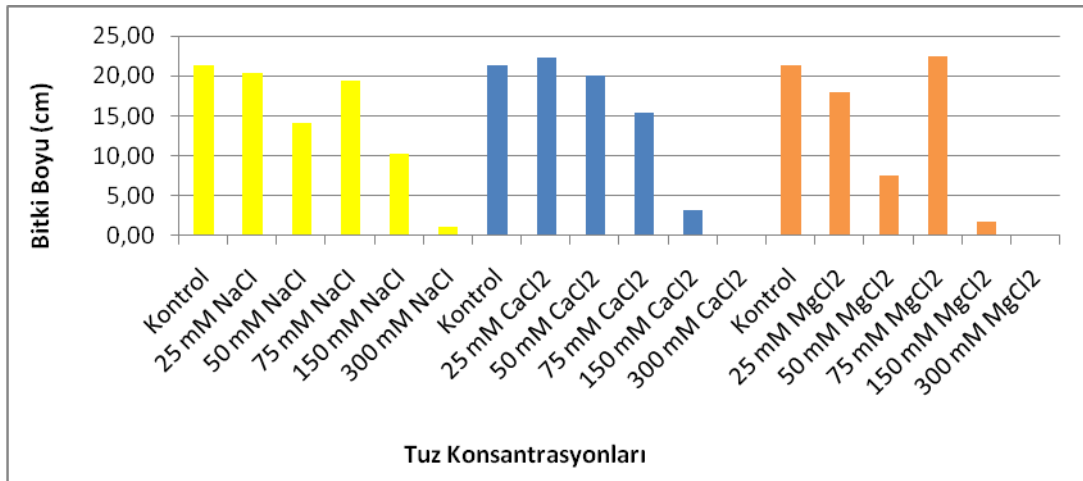


Şekil 4.19. 75 mM MgCl₂ içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü

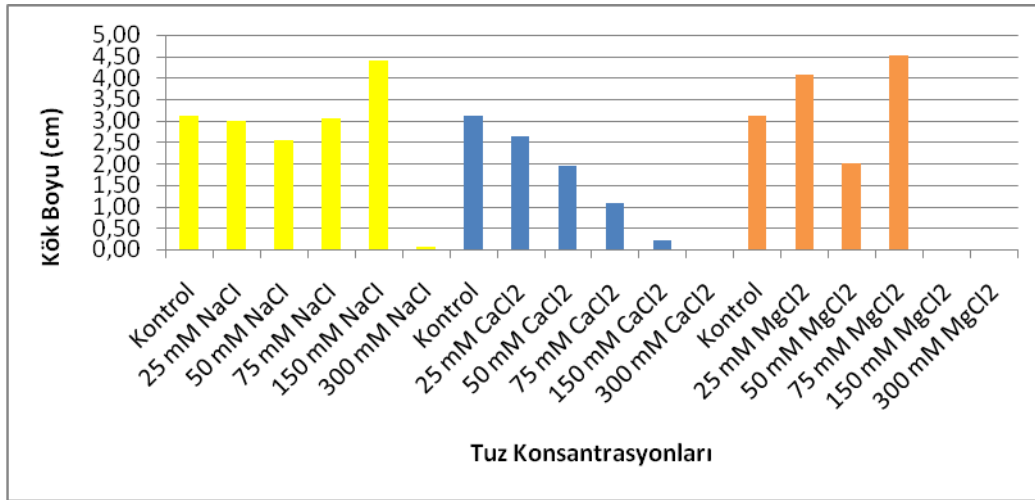


Şekil 4.20. 150 mM MgCl₂ içeren besi ortamında gelişen çeltik fidelerinin 3 haftalık genel görünümü

Sonuç olarak, tuz uygulamalarının düşük konsantrasyonlarında kültüre alınan çeltik fidelerinin sürgün boyu ve kök uzunluğunda farklılıklar olduğu belirlendi. Tuz konsantrasyonu arttıkça tüm tuz çeşitlerinde sürgün boyunda genel olarak azalma olduğu ve sadece CaCl₂'de hem sürgün boyu hem de kök boyunda tuz konsantrasyonu arttıkça düzenli azalma meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4.21. ve 4.22.).



Şekil 4.21. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının sürgün boyu üzerindeki etkisi



Şekil 4.22. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının kök uzunluğu üzerindeki etkisi

Araştırmamızdaki bu sonuçlarla paralel olarak, yapılan birçok çalışmada artan tuz derişimi ile beraber bitkinin kök ve gövde boyunda azalma meydana geldiği ile ilgili bulgular mevcuttur. Khosravinejad ve ark. (2009), tuz stresinin arpada kök ve gövde büyümesinde olumsuz etkilere yol açtığını; yine Bohra ve ark. (1995), ile Maiale ve ark. (2004), da tuz konsantrasyonu artışıyla beraber sürgün boyunda azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Abu-Khadejeh ve ark. (2011), JO112 ve JO992 domates çeşitlerinde *in vitro* mikro sürgünleri 0, 50, 100, 150 ve 200 mM dozlarda eşit hacimde NaCl:CaCl₂ tuzları içeren ortamda kültüre almışlardır. 200 mM'lık konsantrasyonda her iki çeşitte de gövde boylarında yaklaşık %75 azalma ölçmüşlerdir. Yine bulgularımızla benzer şekilde, Yıldıztugay ve ark. (2011)'nin *Centaurea tuzgoluensis*'de, Demiral ve Türkan (2005)'nin da çeltik bitkisinde yaptıkları çalışmada, tuzluluğun kök uzamasına olumsuz etki ettiği bildirilmiştir.

4.2.2. Yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisi

Uygulanan NaCl konsantrasyonu ile yeşil aksam yaş ağırlığı arasında ters bir orantı olduğu ve NaCl oranı arttıkça yaprak yaş ağırlığının azaldığı belirlendi. 3 haftalık kültür periyodu sonunda genel olarak test edilen tüm NaCl konsantrasyonlarında kontrole göre önemli bir düşüş olduğu ve bu düşüşün istatistiksel açıdan da önemli olduğu belirlendi. Kontrol grubunda yeşil aksam yaş ağırlığı 0.58 g iken, 150 mM NaCl'de 0.29 g olarak ölçüldü. 300 mM NaCl uygulamasında kültüre alınan çeltik fideleri kurduğundan yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı hesaplanamadı. Çeltik fidelerinin yeşil aksam yaş ağırlığının, kontrole göre 25 mM'lık NaCl uygulamasında %20, 50 mM

ve 150 mM'lık uygulamalarda %50, 75 mM'lık uygulamada ise yaklaşık %35 oranında azaldığı belirlendi.

Fidelerin yeşil aksam kuru ağırlıkları incelendiğinde genel olarak, yaş ağırlıklarıyla paralel bir şekilde kontrol grubuna göre önemli bir düşüş olduğu görüldü. **Çizelge 4.5.**'deki verilere göre; kontrol grubunda yeşil aksam kuru ağırlığı 0.089 g iken, 150 mM NaCl'de 0.04 g olduğu saptandı. 150 mM NaCl uygulamasındaki fidelerin yeşil aksam kuru ağırlığının kontrol grubuna göre yarı yarıya azaldığı belirlendi.

Çizelge 4.5. Tuz stresinin yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisi (gram \pm standart sapma).

		Tuz Konsantrasyonu (mM)						
		Tuz Çeşidi	Kontrol	25	50	75	150	300
Yaş Ağırlık	NaCl		0.58 \pm 0.13 ^a	0.46 \pm 0.03 ^b	0.29 \pm 0.02 ^c	0.37 \pm 0.02 ^{bc}	0.29 \pm 0.02 ^c	0.00 \pm 0.00
	CaCl ₂		0.58 \pm 0.13 ^a	0.54 \pm 0.02 ^{ab}	0.48 \pm 0.08 ^{ab}	0.40 \pm 0.06 ^b	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	MgCl ₂		0.58 \pm 0.13 ^a	0.62 \pm 0.05 ^a	0.29 \pm 0.01 ^b	0.45 \pm 0.15 ^{ab}	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Kuru Ağırlık	NaCl		0.09 \pm 0.02 ^a	0.07 \pm 0.00 ^b	0.05 \pm 0.01 ^{bc}	0.05 \pm 0.00 ^{bc}	0.04 \pm 0.00 ^c	0.00 \pm 0.00
	CaCl ₂		0.09 \pm 0.02 ^a	0.11 \pm 0.00 ^a	0.10 \pm 0.01 ^a	0.08 \pm 0.00 ^a	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	MgCl ₂		0.09 \pm 0.02 ^{ab}	0.09 \pm 0.00 ^a	0.04 \pm 0.00 ^c	0.06 \pm 0.02 ^{bc}	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

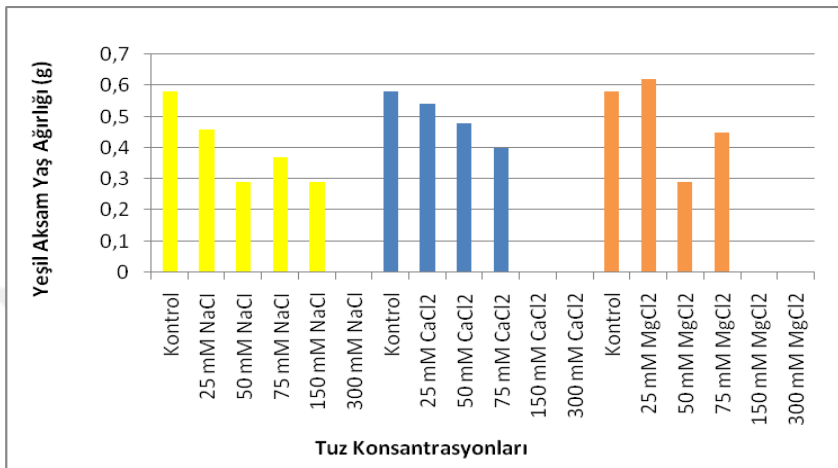
Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

CaCl₂ tuz uygulamasında artan tuz konsantrasyonu ile birlikte yeşil aksam yaş ağırlığında azalma tespit edildi. Düşük konsantrasyonlar (25 ve 50 mM) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı ancak yüksek konsantrasyonlarda (75 mM) anlamlı bir düşüş olduğu görüldü (**Çizelge 4.5.**). Kontrol grubunun yeşil aksam yaş ağırlığı ortalama 0.58 g iken 25 mM'da 0.54 g, 50 mM'da 0.48 g, 75 mM'da ise 0.40 g olarak ölçüldü. 150 ve 300 mM CaCl₂ tuzu uygulamasında kültüre alınan çeltik fideleri gelişemediğinden yeşil aksam yaş ağırlığı hesaplanamadı. Yeşil aksam kuru ağırlıklarında ise uygulamalar arasındaki fark istatistikî açıdan önemsiz bulundu.

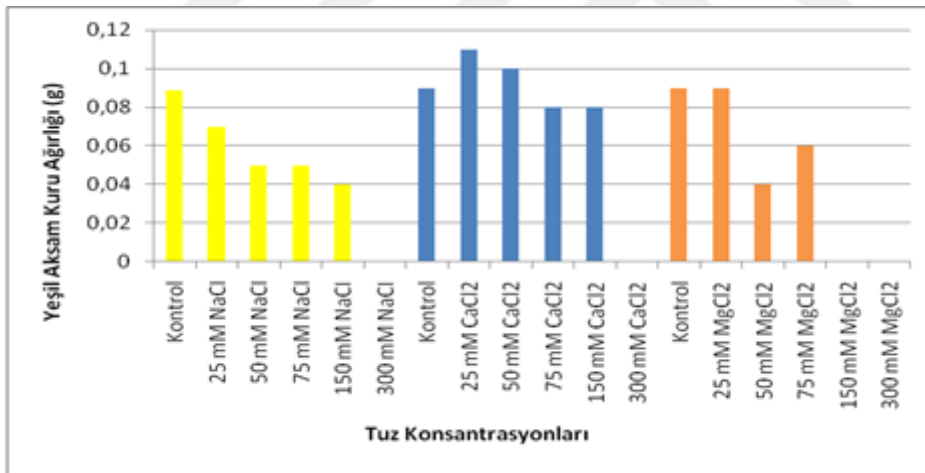
Çizelge 4.5.'de görüldüğü gibi MgCl₂ tuz stresinin çeltik fidelerinin yeşil aksamlarının yaş ve kuru ağırlığı üzerine etkisi değerlendirildiğinde, konsantrasyon artışına bağlı olarak uygulamalar arasında farklılıklar olduğu görüldü. 25 mM MgCl₂ uygulamasında yeşil aksam yaş ve kuru ağırlıkları kontrole göre artış göstermesine rağmen bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmadı. 50 mM MgCl₂ uygulaması hem yeşil aksam yaş ağırlık hem de kuru ağırlık bakımından kontrole göre azalış gösterdi ve bu azalış istatistiksel olarak önemli bulundu. 150 mM ve 300 mM'da ise yeşil aksam gelişim gösteremediğinden herhangi bir hesaplama yapılamadı.

Sonuç olarak fide gelişimi aşamasında yeşil aksam yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisini araştırdığımız çalışmamızda test edilen tüm tuz çeşitlerinin bitkinin gelişimini

olumsuz etkilediği ve genel bir ağırlık kaybına sebep olduğu belirlendi. Ancak test edilen tuz çeşitlerinden CaCl_2 ve MgCl_2 'nin yüksek konsantrasyonlarında (150 ve 300 mM) fidelerin gelişme göstermeyerek kuruduğu buna karşın NaCl 'nin 150 mM konsantrasyonunda bitkilerin yavaş da olsa gelişmesine devam ettiği tespit edildi (Şekil 4.23. ve 4.24).



Şekil 4.23. Tuz stresinin yeşil aksam yaş ağırlığı üzerindeki etkisi



Şekil 4.24. Tuz stresinin yeşil aksam kuru ağırlığı üzerindeki etkisi

Sairam ve ark. (2002), tuz stresinin bitki dokularındaki su içeriğini, klorofil ve karoten miktarını azalttığını, bu kayıplarla birlikte bitkinin büyümek yerine hayatsal faaliyetlerini devam ettirmek için çalıştığını ve sonuçta bitkide ağırlık kaybı meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Vaidyanathan ve ark. (2003) ile Demiral ve Türkan (2005), tarafından çeltikle ilgili yapılan çalışmalarda tuz stresiyile birlikte bitkilerde ağırlık kaybının meydana geldiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma, tuz stresinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığı üzerine etkisi bakımından, literatür ile uyum içinde ve paralel bulunmuştur.

4.2.3. Kök yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisi

Genel olarak NaCl konsantrasyonu arttıkça kök yaş ağırlığında kontrol grubuna göre bir azalma olduğu (150 mM NaCl hariç) görüldü. Bu azalma 25 mM uygulamasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. 50 ile 75 mM NaCl uygulamaları kök yaş ağırlığı bakımından kendi aralarında istatistiksel olarak benzer bulunurken, kontrol grubuna göre önemli bulundu (**Çizelge 4.6.**). Ayrıca 150 mM tuz uygulamasının kök yaş ağırlığının diğer uygulamalardan farklı olarak kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlendi. 300 mM'da ise kök gelişimi olmadığından herhangi bir hesaplama yapılamadı. Tuz konsantrasyonu arttıkça kök kuru ağırlığının düzenli olarak azaldığı görüldü. İstatistiksel olarak, 50, 75 ve 150 mM NaCl uygulamalarında kontrole göre anlamlı bir düşüş olduğu belirlendi.

Çizelge 4.6. Tuz stresinin kök yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisi (gram± standart sapma).

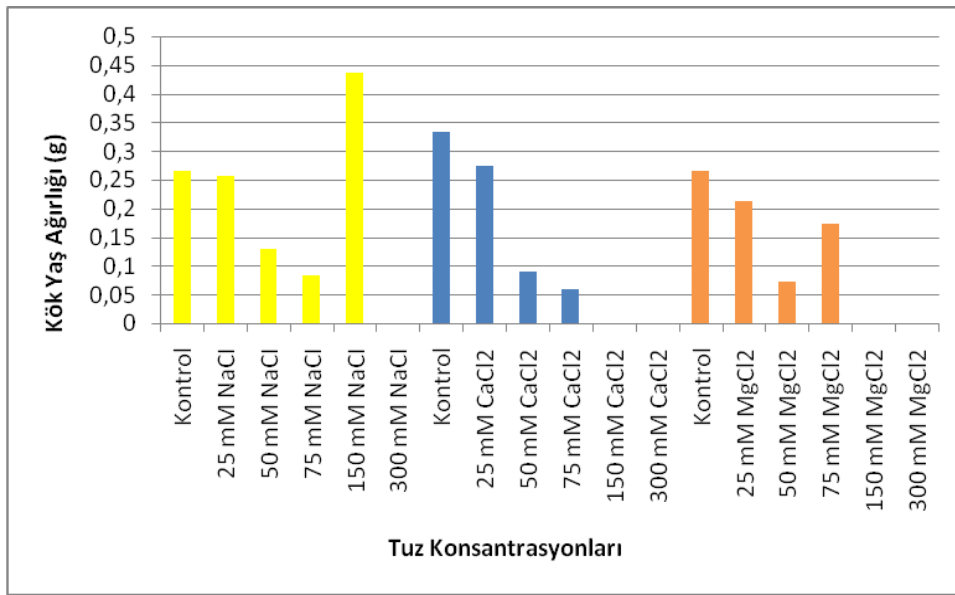
		Tuz Konsantrasyonu (mM)						
		Tuz Çeşidi	Kontrol	25	50	75	150	300
Yaş Ağırlık	NaCl	0.26±0.05 _b	0.25±0.03 ^b	0.13±0.02 ^c	0.08±0.00 ^c	0.43±0.00 ^a	0.00±0.00	
	CaCl ₂	0.33±0.03 ^a	0.27±0.02 ^b	0.09±0.00 ^c	0.05±0.00 ^c	0.00±0.00	0.00±0.00	
	MgCl ₂	0.26±0.0 _{5^a}	0.21±0.05 ^a	0.07±0.057 _b	0.17±0.05 ^b	0.00±0.00	0.00±0.00	
Kuru Ağırlık	NaCl	0.02±0.0 _{0^a}	0.02±0.00 ^a	0.01±0.00 ^b	0.007±0.00 _c	0.01±0.00 ^b	0.00±0.00	
	CaCl ₂	0.02±0.0 _{0^b}	0.04±0.00 ^a	0.02±0.00 ^c	0.01±0.00 ^c	0.00±0.00	0.00±0.00	
	MgCl ₂	0.02±0.0 _{0^b}	0.02±0.00 ^b	0.009±0.01 ^a	0.01±0.002 ^b	0.00±0.00	0.00±0.00	

Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

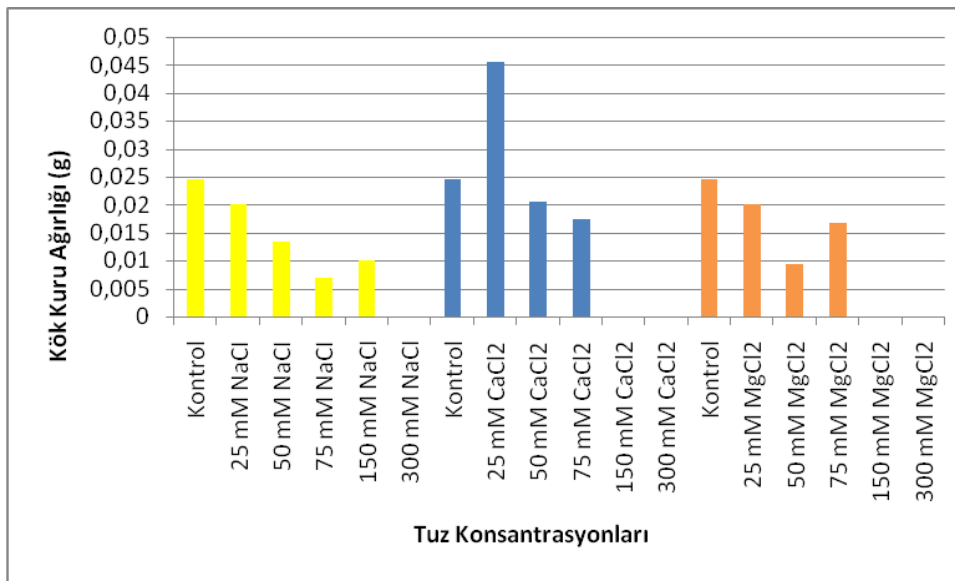
CaCl₂'nin farklı konsantrasyonlarının çeltik fidelerinin kök yaş ağırlığı üzerine etkisi incelendiğinde, kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda (25 mM, 50 mM, 75 mM) düşüş olduğu görüldü. Kontrol grubuna göre bu düşüşün istatistiksel olarak da anlamlı olduğu belirlendi. Ayrıca, 50 ve 75 mM CaCl₂ tuzu uygulamalarının kök yaş ağırlığının benzer sonuçlar verdiği belirlendi (**Çizelge 4.6.**). Kök kuru ağırlığında ise genel olarak yaş ağırlıkta olduğu gibi uygulamalar arasında kontrole göre anlamlı farklılıklar olduğu görüldü. 50 ve 75 mM CaCl₂ uygulamalarının kök yaş ağırlığına benzer şekilde kuru ağırlıklarının da yakın sonuçlar verdiği belirlendi. Bunun yanında 25 mM CaCl₂ uygulamasında kök kuru ağırlığında kontrol grubuna göre artış olduğu belirlendi. 150 mM ve 300 mM tuz uygulamalarında kök gelişemediğinden herhangi bir hesaplama yapılamadı.

MgCl₂'nin çeltik fidelerinin kök yaş ve kuru ağırlıkları üzerindeki etkisi incelendiğinde, genel olarak test edilen tüm konsantrasyonlarda kök gelişiminin etkilendiği ve kontrol grubuna göre ağırlık kaybına uğradığı belirlendi. Tuz uygulamaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, meydana gelen ağırlık kaybının istatistiksel olarak da anlamlı olduğu (25 mM hariç) tespit edildi. 150 mM ve 300 mM uygulamalarında ise veri alınmadı.

Sonuç olarak tuz stresinin fide gelişimi evresinde kök yaş-kuru ağırlığı üzerine etkisini araştırdığımız bu çalışmamızda genel olarak test edilen tüm tuz çeşitlerinin kök gelişimini olumsuz etkileyerek ağırlık kaybına sebep olduğu belirlendi (Şekil 4.25. ve Şekil 4.26.).



Şekil 4.25. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının kök yaş ağırlığı üzerindeki etkisi



Şekil 4.26. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının kök kuru ağırlığı üzerindeki etkisi

Çalışmamızdaki bu verilerle uyumlu olarak, kök yaş ağırlığının artan tuz konsantrasyonu ile birlikte azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Adıyaman (2005), Adavi ve ark. (2007), artan tuz konsantrasyonlarının kök yaş ağırlığını önemli ölçüde azalttığını rapor etmişlerdir. Hernandez ve ark. (1995), Chartzoulakis ve Klapaki (2000), Naseer ve ark. (2001)'nin tuzluluk ile ilgili çalışmalarında, artan tuz stresiyyle birlikte hem kök yaş ağırlığı hem de kök kuru ağırlıklarında önemli bir azalma olduğu bildirilmiştir. Dadkhah ve Grrrifiths (2006), yüksek tuz konsantrasyonlarının (250 ve 350 mM) şeker pancarında kök gelişimini engellediğini, artan tuz seviyelerinde kuru kök ağırlıklarının kontrol bitkilerine göre azaldığını saptamışlardır.

4.2.4. Yeşil aksam ve kök nispi su (%RWC) içeriği üzerine etkisi

Tuz stresinin Karacadağ çeltik çeşidinin yeşil aksam ve kök nispi su (%RWC) içeriği üzerine etkisini belirlemek için, tuz uygulamasının 3. haftasında her bir gruptan rastgele seçilen 5 ayrı materyalin yaş ağırlıkları ölçüldü. 6 saat boyunca steril saf su içinde bekletilen materyallerin turgorlu ağırlıkları alındı. Bitki örnekleri 55°C'de etüvde ağırlık değişimi olmayıncaya kadar kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları saptandı. Her bir gruba ait örneklerin nispi su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanarak, sonuçlar **Çizelge 4.7'**de verildi.

$$\text{Nispi Su İçeriği (\% RWC)} = [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100$$

YA=Yaş ağırlık, KA=Kuru ağırlık, TA=Turgorlu ağırlık

Yeşil aksamların nispi su içeriğinin genel olarak tüm uygulamalarda kontrole göre azaldığı ve bu verilerin istatistiksel olarak da anlamlı olduğu belirlendi (**Çizelge 4.7.**). Nispi su içeriğindeki azalmanın uygulanan tuz konsantrasyonu ile ters orantılı olduğu tuz konsantrasyonu arttıkça nispi su içeriğinin azaldığı tespit edildi. 25 mm NaCl uygulaması ile kontrol grubunun nispi su içeriği bakımından birbirleriyle benzer sonuçlar gösterdiği ve istatistiki açıdan da benzer olduğu belirlendi. Aynı şekilde 50 mM ile 75 mM NaCl uygulamalarının da kendi aralarında benzer sonuçlar verdiği görüldü. En düşük nispi su içeriği oranının %61.33 ile 150 mM NaCl uygulamasında olduğu tespit edildi. 300 mM NaCl uygulamasında bitkilerin gelişim göstermemesi sebebiyle veri alınamadı.

Karacadağ çeltik çeşidinin köklerindeki nispi su içeriği incelendiğinde ise yeşil aksamın nispi su içeriği ile benzer bir şekilde NaCl konsantrasyonu arttıkça azalma olduğu görüldü. **Çizelge 4.7.**'de görüldüğü gibi bu azalmanın kontrol grubuna göre istatistikî olarak da önemli olduğu belirlendi. Bunun yanında 50 mM ve 75 mM NaCl uygulamaları kendi aralarında nispi su içeriği bakımından benzer sonuçlar verdi. En düşük nispi su içeriği en yüksek tuz uygulaması olan 150 mM NaCl uygulamasında görüldü (%67.66).

Çizelge 4.7. Tuz stresinin nispi su içeriği üzerine etkisi (%RWC \pm standart sapma).

		Tuz Konsantrasyonu (mM)						
		Tuz Çeşidi	Kontrol	25	50	75	150	300
Yeşil Aksam	NaCl		88.53 \pm 1.70 ^a	85.30 \pm 1.11 ^{ab}	79.10 \pm 4.05 ^{bc}	71.96 \pm 2.20 ^c	61.33 \pm 9.09 ^d	0.00 \pm 0.00
	CaCl ₂		79.10 \pm 4.05 ^a	79.53 \pm 2.03 ^a	78.36 \pm 1.87 ^a	78.30 \pm 0.60 ^a	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	MgCl ₂		86.10 \pm 2.23 ^a	81.15 \pm 1.91 ^{ab}	79.13 \pm 4.04 ^b	75.25 \pm 4.59 ^b	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Kök	NaCl		97.86 \pm 0.47 ^a	90.86 \pm 4.21 ^b	84.00 \pm 6.00 ^c	78.00 \pm 1.00 ^c	67.66 \pm 3.51 ^d	0.00 \pm 0.00
	CaCl ₂		98.01 \pm 0.38 ^a	95.33 \pm 0.14 ^a	79.50 \pm 8.63 ^b	81.12 \pm 2.46 ^b	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	MgCl ₂		97,93 \pm 0,45 ^a	97,46 \pm 0,45 ^a	83,80 \pm 2,45 ^b	72,80 \pm 0,26 ^c	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

CaCl₂'nin çeltik fidelerinin yeşil aksamının nispi su içeriği üzerindeki etkisi incelendiğinde, tüm uygulamalarda kontrole göre nispi su içeriğinde önemli bir azalmanın olmadığı görüldü. Sonuçlar istatistiksel açıdan bakıldığında da tüm uygulamalar arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi. Kök nispi su içeriğinde genel olarak tuz konsantrasyonu arttıkça kontrole göre azalma olduğu görüldü. Bununla birlikte düşük tuz uygulamalarında (25 mM) meydana gelen azalmanın kontrole göre anlamsız olduğu, yüksek tuz konsantrasyonlarında ise (50 ve 75 mM) istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (**Çizelge 4.7**).

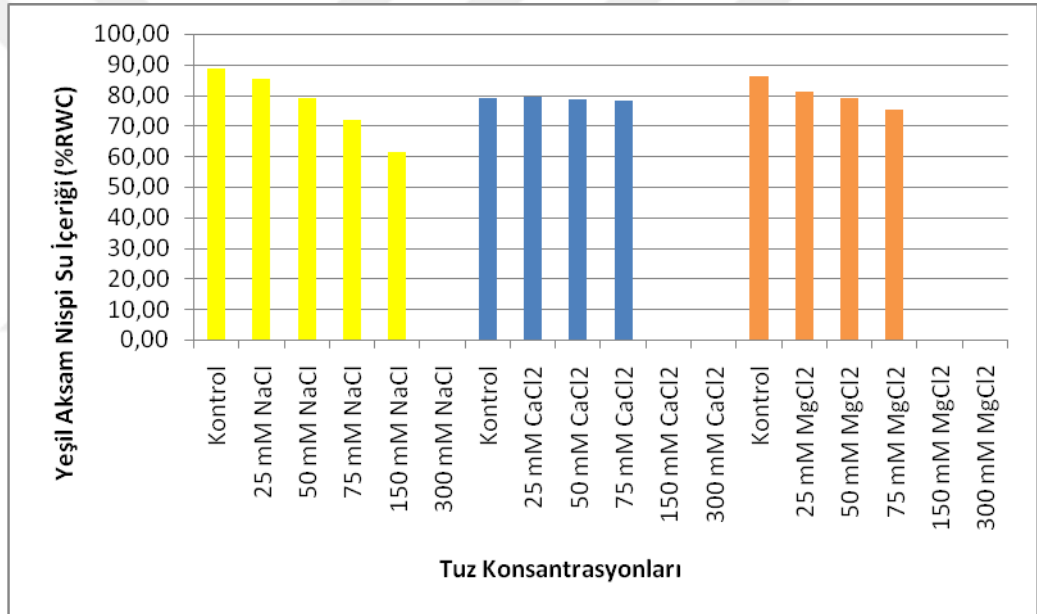
MgCl₂'nin çeltik fidelerinin yeşil aksamı üzerindeki etkisi ile ilgili veriler incelendiğinde, genel olarak uygulanan tuz konsantrasyonu arttıkça nispi su içeriğinde azalmanın meydana geldiği görüldü. Artan tuz konsantrasyonları ile birlikte nispi su içeriğindeki azalma oranları, kontrole göre 25 mM MgCl₂'de %5, 50 mM'da %10, 75 mM'da %15 olarak hesaplandı.

MgCl₂'nin kök nispi su içeriği incelendiğinde **Çizelge 4.7.**'deki verilere göre, kontrol ile 25 mM'lik uygulama arasında istatistikî bir fark görülmezken, 50 ve 75 mM'lik uygulamaların nispi su içeriğinin kontrole göre daha düşük olduğu belirlendi. Bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlı görüldü. Tuz konsantrasyonu ile nispi su içeriği

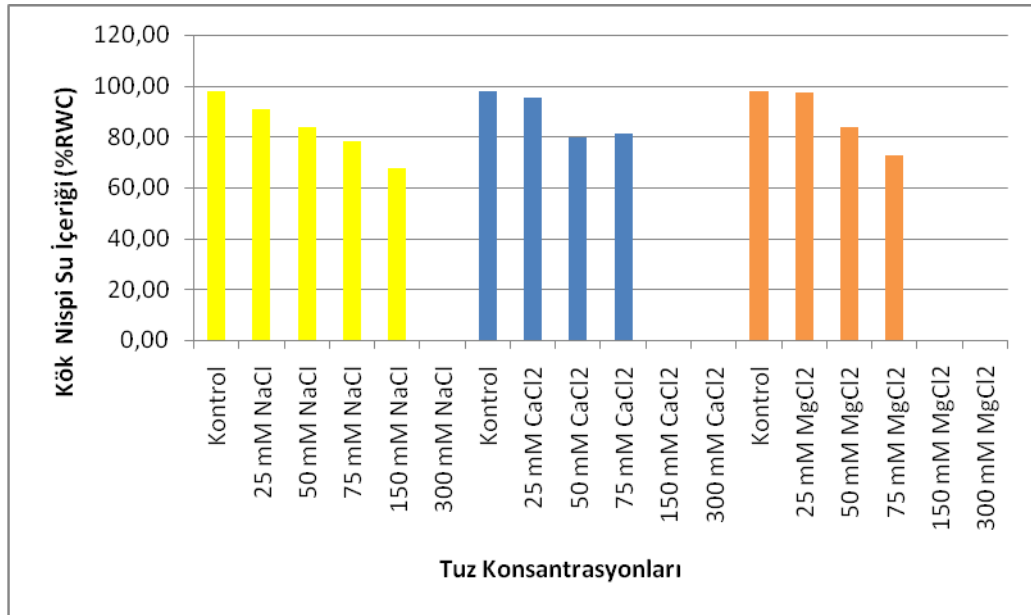
arasında ters orantı olduğu ve artan tuz konsantrasyonları ile beraber nispi su içeriğinin azaldığı belirlendi.

Sonuç olarak tüm tuz çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça nispi su içeriğinde ters orantılı olarak azalma olduğu belirlendi (Şekil 4.27. ve 4.28.). Test edilen tuz çeşitleri arasından $MgCl_2$ ve $CaCl_2$ 'nin $NaCl$ 'e göre daha fazla etkili olduğu belirlendi. Tuz çeşitleri arasında yeşil aksam nispi su içeriği bakımından en az etkileyen tuz çeşidinden en çok etkileyene doğru sıralama yapıldığında; $NaCl > MgCl_2 > CaCl_2$ olduğu sonucuna varıldı.

Diğer taraftan, tuz çeşitleri kendi kontrollerine göre değerlendirildiğinde yeşil aksam nispi su içeriğindeki en az değişimin $CaCl_2$ 'deki uygulamalar arasında olduğu tespit edildi.



Şekil 4.27. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının yeşil aksam nispi su içeriği (%RWC) üzerindeki etkisi



Şekil 4.28. Farklı tuz çeşitleri ve konsantrasyonlarının kök nispi su içeriği (%RWC) üzerindeki etkisi

Kültür ortamında tuz seviyesindeki artış ile suyun osmotik potansiyelinde azalma sonucu bitkide fizyolojik kuraklık meydana gelir. Tuz stresinin oluşturduğu hasarın ilkinin su eksikliği ile ortaya çıktığı bildirilmiştir (Richards, 1954; Levitt, 1980). Khan ve Panda (2008) tuz toleransı birbirinden farklı olan iki çeltik çeşidinin (Lunishree ve Begunbitchi) kökleri üzerine NaCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisini inceledikleri çalışmalarında, her iki çeşitte de %RWC değerinde azalış olduğunu kaydettiler. Araştırmacıların sonuçları, artan tuz konsantrasyonu ile beraber hem yeşil aksam hem de kök nispi su içeriğinde azalmanın olduğu çalışma verilerimizle uyumlu bulunmuştur.

Başka bitkilerde nispi su içeriği ile ilgili yapılan çalışmalar da mevcuttur. Şeker pancarında Katerji ve ark. (1997); buğdayda Srivastava ve ark. (1998); biberde Kaya ve Higgs (2003) tarafından yapılan çalışmalarda, tuz stres faktörüne maruz bırakılan bitkilerin %RWC içeriğinin artan tuz konsantrasyonları ile beraber azaldığını bildirmişlerdir. El-Tayeb (2005), ekim öncesi 1 mM salisilik asit çözeltisi uygulanan arpa tohumlarına 0, 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl uygulamasının etkisini araştırdığı çalışmada artan NaCl seviyesinin 15 günlük fidelerde kök yaş/kuru ağırlığı ve nispi su miktarını azalttığını tespit etmiştir.

4.2.5. Fotosentetik pigment içerikleri üzerine etkisi

Farklı tuz konsantrasyonlarının Karacadağ çeltik çeşidinin fotosentetik pigment içeriği üzerine etkisini belirlemek için yaprak ekstraktları spektrofotometrik olarak

klorofil-a için 663, *klorofil-b* için 645 ve *karotenoid* için 480 nm’de değerlendirildi. 3 tekerrürlü olarak yürütülen çalışmanın sonuçları **Çizelge 4.8., 4.9. ve 4.10.**’de gösterildi.

Genel olarak artan NaCl konsantrasyonu ile birlikte *klorofil a* içeriğinde önemli değişiklikler olduğu belirlendi. Konsantrasyonlar arasındaki bu fark kontrol grubuna göre istatistiksel olarak da önemli bulundu (**Çizelge 4.8**). Bunun yanında 50 ve 75 mM’lık uygulamalarda *klorofil a* içeriklerinin kontrole göre artış olduğu belirlendi. Bu artış kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak da önemli bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, *klorofil a* miktarındaki en büyük azalma 150 mM NaCl uygulamasında tespit edildi.

Yeşil aksam ekstraktlarının *klorofil b* içeriği incelendiğinde ise genel olarak artan tuz konsantrasyonu ile birlikte önemli bir azalma meydana geldiği ve bu azalmanın *klorofil a*’ya göre daha yüksek oranda olduğu gözlemlendi. **Çizelge 4.8.**’deki verilere göre *klorofil-b* içeriği kontrole göre 75 mM’da %17, 50 mM’da %21, 25 mM’da %35, 150 mM’da ise %69 oranında bir azalma göstermiştir. Bu oranlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bulundu.

NaCl’nin farklı konsantrasyonlarının *total klorofil* içeriğini olumsuz etkilediği **Çizelge 4.8.**’de görülmektedir. 25, 50 ve 75 mM NaCl uygulamalarında kontrole göre sırasıyla %16, %10, ve %8 oranlarında bir azalma olurken, 150 mM’lık NaCl uygulamasında bu oran %46’ya kadar çıktığı belirlendi. Test edilen uygulamalar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak da önemli bulundu.

Tuz konsantrasyonu arttıkça *karotenoid* içeriğinde kontrole göre azalma meydana geldiği ve en yüksek azalmanın 150 mM NaCl konsantrasyonunda olduğu belirlendi. Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde; tüm uygulamalar kontrol grubu ile anlamlı bulunurken, 50 ve 75 mM NaCl konsantrasyonları kendi aralarında önemsiz bulundu.

Çizelge 4.8. NaCl konsantrasyonlarının pigment içeriği üzerine etkisi

Tuz Konsantrasyonu (mM)	Klorofil-a içeriği (µg/g) ± Standart Sapma	Klorofil-b içeriği(µg/g) ± Standart Sapma	Total Klorofil içeriği(µg/g) ± Standart Sapma	Karotenoid İçeriği(µg/g) ± Standart Sapma
Kontrol	618.33 ± 0.57 ^b	484.37 ± 1.00 ^a	1100.33 ± 0.57 ^a	0.36 ± 0.00 ^a
25	614.75 ± 1.00 ^c	318.33 ± 1.52 ^d	930.30 ± 0.10 ^c	0.28 ± 0.00 ^c
50	625.33 ± 0.57 ^a	384.33 ± 1.52 ^c	1000.66 ± 0.57 ^{bc}	0.33 ± 0.00 ^b
75	625.42 ± 1.00 ^a	403.66 ± 1.52 ^b	1020.33 ± 0.57 ^{bc}	0.31 ± 0.00 ^b
150	452.66 ± 0.57 ^d	153.00 ± 1.00 ^e	600.60 ± 0.20 ^d	0.20 ± 0.00 ^d
300	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

Çizelge 4.9.'da görüldüğü gibi, CaCl_2 konsantrasyonu arttıkça *klorofil-a* içeriğinde azalma olduğu saptandı. Bu azalma kontrol ile karşılaştırıldığında en düşük konsantrasyon olan 25 mM'da istatistikî olarak anlamlı bulunmazken yüksek konsantrasyonlarda (50 ve 75 mM) önemli bulundu.

Kontrol ile kıyaslandığında düşük CaCl_2 uygulaması *klorofil-b* içeriğini olumsuz etkilemediği gibi değerlerde artış tespit edildi. Ancak tuz konsantrasyonu arttıkça, *klorofil b* içeriğinin olumsuz etkilenecek kontrol grubuna göre bir azalma olduğu tespit edildi. Bu etki istatistiksel açıdan incelendiğinde anlamlı bulundu (**Çizelge 4.9.**).

Çizelge 4.9.'daki verilere göre CaCl_2 uygulamalarının *total klorofil* içeriği, *klorofil-b* içeriği ile benzer sonuçlar verdiği gözlemlendi. 25 mM CaCl_2 uygulamasının *total klorofil* içeriğinde kontrol grubuna göre artma diğer uygulamalarda ise azalma görüldü. Değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu.

Tuz konsantrasyonu arttıkça *karotenoid* içeriğinde kontrol grubuna göre bir azalma olduğu belirlendi ve en düşük *karotenoid* içeriği 50 mM uygulamasında 0.29 $\mu\text{g/g}$ olarak ölçüldü. Uygulamalar arasındaki bu azalma değerlendirildiğinde istatistiksel olarak da anlamlı bulundu.

Çizelge 4.9. CaCl_2 konsantrasyonlarının pigment içeriği üzerine etkisi

Tuz Konsantrasyonu (mM)	Klorofil-a içeriği ($\mu\text{g/g}$) \pm Standart Sapma	Klorofil-b içeriği ($\mu\text{g/g}$) \pm Standart Sapma	Total Klorofil içeriği ($\mu\text{g/g}$) \pm Standart Sapma	Karotenoid içeriği ($\mu\text{g/g}$) \pm Standart Sapma
Kontrol	618.33 \pm 0.57 ^a	484.00 \pm 1.00 ^b	1102.33 \pm 1.52 ^b	0.36 \pm 0.00 ^a
25	617.80 \pm 1.00 ^a	518.54 \pm 2.00 ^a	1135.66 \pm 0.57 ^a	0.32 \pm 0.00 ^b
50	613.53 \pm 1.00 ^b	312.33 \pm 1.52 ^d	925.66 \pm 0.57 ^d	0.29 \pm 0.00 ^d
75	611.66 \pm 0.57 ^c	317.72 \pm 1.00 ^c	929.33 \pm 1.52 ^c	0.30 \pm 0.00 ^c
150	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

Çizelge 4.10.'daki verilere göre, genel olarak MgCl_2 'nin konsantrasyonu arttıkça (75 mM hariç) *klorofil-a* içeriğinin kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi. Bu azalma istatistiksel olarak 25 mM uygulamasında önemli bulunmazken, 50 mM konsantrasyonda önemli bulunmuştur. En düşük *klorofil-a* içeriğinin ise 50 mM MgCl_2 uygulamasında olduğu belirlendi. 75 mM MgCl_2 uygulamasında *klorofil-a* içeriği ise kontrol grubuna göre yüksek bulundu ve bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulundu.

Klorofil b içeriğinin, genel olarak MgCl_2 konsantrasyonun artışıyla birlikte kontrole göre azaldığı **Çizelge 4.10.**'da görülmektedir. Uygulamalar arasında en düşük *klorofil-b* içeriğinin 50 mM uygulamasında olduğu (173.36 $\mu\text{g/g}$) tespit edildi. Uygulamalar arasındaki bu farklar istatistiksel olarak da önemli bulundu.

Total klorofil içeriği bakımından **Çizelge 4.10.**'daki verilere göre tuz uygulamaları arasında kontrole göre önemli farklılıklar olduğu tespit edildi. En yüksek *total klorofil* içeriği 75 mM MgCl₂ uygulamasında görülürken, en düşük *total klorofil* içeriğinin 50 mM tuz uygulamasında olduğu belirlendi (sırasıyla 1068.00 µg/g, 646.33 µg/g). Tuz uygulamaları arasındaki bu farklılıklar hem kontrol ile hem de kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

MgCl₂'nin *karotenoid* içeriği üzerindeki etkisi uygulanan konsantrasyonlara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlendi. Buna göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek *karotenoid* içeriğinin 75 mM uygulamasında ve en düşük *karotenoid* içeriğinin de 50 mM uygulamasında olduğu tespit edildi. Veriler istatistikî açıdan incelendiğinde de uygulamalar arasındaki bu farklılıklar hem birbirlerine hem de kontrol grubuna göre anlamlı bulundu.

Çizelge 4.10. MgCl₂ konsantrasyonlarının pigment içeriği üzerine etkisi

Tuz Konsantrasyonu (mM)	Klorofil-a içeriği (µg/g) ± Standart Sapma	Klorofil-b içeriği (µg/g) ± Standart Sapma	Total Klorofil içeriği (µg/g) ± Standart Sapma	Karotenoid içeriği (µg/g) ± Standart Sapma
Kontrol	618.33 ± 0.57 ^b	484.00 ± 1.00 ^a	1102.33 ± 1.52 ^a	0.36 ± 0.00 ^a
25	618.10 ± 1.00 ^b	339.66 ± 1.52 ^c	957.33 ± 0.57 ^c	0.29 ± 0.00 ^c
50	472.81 ± 1.00 ^c	173.36 ± 1.00 ^d	646.33 ± 1.52 ^d	0.17 ± 0.00 ^d
75	621.33 ± 0.57 ^a	446.33 ± 1.52 ^b	1068.00 ± 2.00 ^b	0.33 ± 0.00 ^b
150	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

Sonuç olarak tuz stresinin Diyarbakır Karacadağ yerel çeltik çeşidinin (Siverek popülasyonu) fide gelişimi evresinde fotosentetik pigment içeriği üzerindeki etkisinin uygulanan tuz çeşidinden ziyade tuz konsantrasyonuna göre farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Tuz çeşitleri arasında sadece NaCl'nin 150 mM konsantrasyonunda bitkiler yavaş da olsa gelişmesine devam ettiği için, pigment içerikleri ölçülebildi. Fotosentetik pigment içeriği üzerinde tuz çeşitlerinden NaCl'nin olumsuz etkisinin daha az olduğu sonucuna varıldı.

Yüksek tuz konsantrasyonlarında iyon birikimi ve stomaların açılıp kapanmasındaki düzensizlikler nedeniyle toplam klorofil miktarında azalmalar meydana gelmekte, bunun sonucu olarak fotosentez etkinliği azalarak bitkinin gelişiminde olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır (Aranda ve Syvertsen, 1996; Yaşar, 2003; Kuşvuran ve ark., 2007; Daşgan ve Koç, 2009).

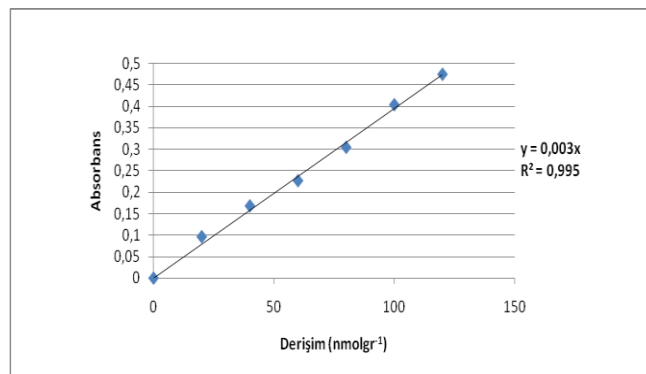
Araştırma sonuçlarımız artan tuz konsantrasyonu ile birlikte *klorofil a, b, toplam klorofil* ve *karotenoid* miktarında meydana gelen değişiklikler daha önceden yapılmış birçok çalışma ile desteklenmektedir.

Tuzluluk stresinin birçok bitkide olduğu gibi çeltik bitkisinde de klorofil pigment miktarında azalmaya yol açtığı çeşitli araştırmalarda ortaya konmuştur (Mitsuya ve ark., 2003; Sing ve Dubey, 1995; Garcia ve ark. 1997). Alamgir ve Ali, (1999), Ali ve ark. (2004), tuz stresi uygulanmış pirinç fidelerinin total klorofil içeriğinde önemli ölçüde azalma olduğu bildirilmiştir. Turan ve ark. (2007), bazı *Oryza sativa* L. genotiplerinde pigmentlerin tuzluluk ile birlikte azalmasına karşılık, bazı genotiplerinde de arttığını bildirmişlerdir.

El-Tayeb (2005), arpa fidelerinde yaptığı çalışmalarda artan tuz konsantrasyonunun *klorofil a*, *b* ve *karotenoid* içeriğinde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Yine aynı şekilde, Khavarinejad ve Mostofi, (1998); Agastian ve ark. (2000), yapraklardaki total *klorofil* ve *karotenoid* içeriğinin tuzluluk ile birlikte azaldığını belirtmişlerdir. Hossain ve ark. (2006), Aghrani ve Kanchan buğday çeşitlerinde 0–150 mM NaCl uygulamalarının *klorofil a* ve *b* içeriğinde azalmaya, kontrole ile kıyasla 50 mM NaCl'nin ise *klorofil a* miktarında artmaya yol açtığını rapor etmişlerdir.

4.2.6. Lipid peroksidasyonu (MDA içeriği) üzerine etkisi

Uygulanan tuz stresine bağlı olarak Karacadağ çeltik çeşidinin yaprak dokularında meydana gelen hücre zarı hasarını ölçmek için lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarı tiyobarbütirik asit testi ile belirlendi. MDA standart eğrisi grafiği (Şekil 4.29.) çizilerek yeşil aksam dokularındaki MDA miktarı hesaplandı ve sonuçlar $\mu\text{mol/g TA}$ (taze ağırlık) olarak ifade edildi.



Şekil 4.29. MDA standart eğrisi

Çizelge 4.11.'deki verilere göre, NaCl'nin tüm konsantrasyonlarının MDA içeriğinde artışa sebep olduğu belirlendi. Kontrol ile karşılaştırıldığında, konsantrasyon arttıkça MDA içeriğinin de doğru orantılı olarak arttığı görüldü. En yüksek MDA

içeriğinin 3.5067 $\mu\text{mol/g}$ değeri ile 150 mM NaCl uygulamasında olduğu belirlendi. Veriler istatistikî açıdan değerlendirildiğinde genel olarak uygulamalar arasındaki istatistikî farklılıklar anlamlı bulundu.

Artan CaCl_2 tuzu konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak MDA içeriği de artış gösterdi. İstatistiksel olarak da değerli görülen bu artışın en yüksek değerinin 75 mM CaCl_2 uygulamasında olduğu (4.1820 $\mu\text{mol/g}$) görüldü. 75 mM CaCl_2 uygulamasında MDA içeriğindeki artışın kontrole göre yaklaşık %55, 50 mM’da ise %38 olduğu tespit edildi (**Çizelge 4.11.**).

Çizelge 4.11. Tuz stresinin lipid peroksidasyonu (MDA İçeriği) üzerine etkisi ($\mu\text{mol/g} \pm$ standart sapma).

Tuz Çeşidi	Tuz Konsantrasyonu (mM)					
	Kontrol	25	50	75	150	300
NaCl	2.69 \pm 0.04 ^d	2.89 \pm 0.04 ^c	2.76 \pm 0.04 ^d	3.01 \pm 0.04 ^b	3.50 \pm 0.053 ^a	0.00 \pm 0.00
CaCl_2	2.69 \pm 0.04 ^c	2.64 \pm 0.04 ^c	3.72 \pm 0.02 ^b	4.18 \pm 0.05 ^a	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
MgCl_2	2.69 \pm 0.04 ^c	2.51 \pm 0.04 ^d	3.25 \pm 0.05 ^b	3.36 \pm 0.04 ^a	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

Aynı satırda farklı harfi alan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p \leq 0.05$)

Çizelge 4.11.'deki veriler ışığında artan MgCl_2 konsantrasyonu ile beraber bitkilerin yeşil aksam MDA içeriğinde artış olduğu gözlemlendi. Artan tuz konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak MDA içeriğinde meydana gelen artışın istatistikî açıdan da önemli olduğu belirlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek MDA içeriğinin 3.6 $\mu\text{mol/g}$ olarak 75 mM MgCl_2 tuz uygulamasında olduğu tespit edildi.

Tuz stresi bitkilerde serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır. Ortaya çıkan bu radikaller hücre zarı lipidlerinin peroksidasyonuna yol açarak lipid ve proteinlerin geri dönüşümsüz olarak hasara uğramasına sebep olmaktadır. Bu durum, hücre bütünlüğünün bozulmasına ve programlı hücre ölümüne kadar giden bir dizi olaya yol açmaktadır (Kuşvuran, 2010; Sreenivasulu ve ark. 1999). Hücre zarındaki lipidlerin peroksidasyona uğraması sonucu son ürün olarak MDA ortaya çıkmaktadır (Ohkawa ve ark., 1979). Hücrelerde meydana gelen bu zararın anlaşılması amacı ile tuz stresi altında yetiştirilen Karacadağ çeltik çeşidinin farklı tuz çeşidi ve konsantrasyonuna bağlı olarak yeşil aksam dokularındaki MDA içerikleri **Şekil 4.30.**'da gösterildi.

Sonuç olarak tuz stresinin Diyarbakır Karacadağ yerel çeltik çeşidinin fide gelişimi evresinde MDA içeriği üzerindeki etkisinin uygulanan tuz çeşidine göre farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Uygulanan tuz çeşitleri karşılaştırıldığında, çeltik fidelerinin MDA içeriğinin, CaCl_2 'de diğer iki tuz çeşidine (NaCl , MgCl_2) oranla daha yüksek değerlere çıktığı belirlendi. Test edilen uygulamalar arasında en büyük hücre

zarı hasarının en yüksek MDA içeriği (4.1820 $\mu\text{mol/g}$) ile CaCl_2 'nin 75 mM uygulamasında meydana geldiği sonucuna varıldı. Ayrıca genel olarak tüm tuz çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça MDA içeriğinin doğru orantılı olarak arttığı belirlendi.

Demiral ve Türkan (2004), yaptıkları çalışmada artan tuz konsantrasyonuna maruz bırakılan çeltik bitkisinde MDA miktarında artış meydana geldiğini bildirdiler. Neto ve ark. (2006), Carrasco-Rios ve Pinto (2014) mısırdá, Erdal ve Çakırlar (2014) aspir çeşidinde, Hamed ve ark. (2014) deniz lavantası, iri papatya ve yabancı lahanada, Zhang ve ark. (2013) buğdayda, Salah ve ark. (2011) yoncada, Sekmen ve ark. (2012) *Gypsophila aucheri*'de yaptıkları çalışmalarda tuz stresi altında MDA miktarının arttığını ve yüksek tuz konsantrasyonlarında bu artışın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların ortaya koyduğu bu sonuçlar, yaptığımız çalışmanın bulgularını destekler niteliktedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Son yıllarda artan kuraklık ile birlikte toprak içeriğinde dengesizlikler meydana gelmektedir. Bu dengesizliğin ortaya çıkardığı en büyük sorunlardan birisi de toprak tuzluluğunun artmasıdır. Artan Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} miktarları toprakta tuzluluğun da artmasına neden olmakta ve bu da bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir.

Besin kaynağı olarak tahıllar içinde buğdaydan sonra en önemli kültür bitkisi olan çeltik, tuzluluktan en çok etkilenen bitkiler arasında yer almaktadır. Bu nedenle gelişim aşamalarının dikkatle incelenmesi ve ortaya çıkan olumsuzlukların bertaraf edilmesi önem arz etmektedir.

Karacadağ yerel çeltik çeşidinin (Siverek popülasyonu), Güneydoğu Anadolu bölgesinin tarımı en çok yapılan çeltik çeşitlerinden biri olduğu bilinmektedir. Ayrıca tadı ve aroması bakımından bölge halkının en çok tercih ettiği pirinç türüdür. Ancak yapılan literatür taramasında bu çeşit ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmakla beraber tuzlulukla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu da Karacadağ yerel çeltik çeşidinin tuzluluktan dolayı çimlenme ve fide gelişimi evrelerinde karşılaştığı olumsuzlukların ortaya konulması ihtiyacını doğurmuştur.

Yaptığımız tez çalışmasında, Karacadağ yerel çeltik çeşidinin çimlenme ve fide gelişimi evrelerinde, farklı tuz çeşidi (NaCl , CaCl_2 , MgCl_2) ve konsantrasyonlarının (25, 50, 75, 150, 300 mM) oluşturduğu strese verdiği fizyolojik ve biyokimyasal yanıtların *in vitro* kültür ortamında incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada birçok avantajı bulunduğu için *in vitro* kültür ortamı tercih edilmiştir. Kültür koşullarının istenilen şartlara göre ayarlanabilmesi bitkinin yetiştiği ortamın tam kontrollü olmasını sağlamıştır. Bunun yanında *in vitro* kültür ortamı, zamandan ve zeminden de tasarruf etmemizi sağlayarak çalışmaların hızlı ve güvenli bir şekilde tamamlanmasına olanak vermiştir.

Bu araştırmadan elde edilen sonuç ve öneriler aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

1. Çimlenme, tohumların su alarak şişmesi ve çatlayıp filizlenmesi olayıdır. Tuzluluğun artışıyla birlikte çimlenme oranının düşmesinin, tohumun yeterince su alamaması ile ilgili ortaya çıkan bir sonuç olduğu düşünülmektedir. Yaptığımız çalışmada çimlenme evresinde her 3 tuz çeşidinde de (NaCl , CaCl_2 , MgCl_2) düşük konsantrasyonlarda önemli bir

fark bulunmazken, tuz konsantrasyonu arttıkça çimlenme yüzdesinin düştüğü ve bu düşüşün genel anlamda istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi. Bununla birlikte çimlenmeyi en çok etkileyen tuz çeşidinin $MgCl_2$ ve en az etkileyenin $NaCl$ olduğu belirlendi. Özellikle 300 mM'de $MgCl_2$ ve $CaCl_2$ 'de hiçbir tohum çimlenmezken, $NaCl$ 'de tohumların yaklaşık yarısının çimlendiği görüldü.

2. Fide gelişimi evresinde yapılan uygulamalarda sürgün boyu ve kök uzunluğunda tuz çeşidi ve konsantrasyonlarına göre değişen farklılıklar olduğu belirlendi. Tuz konsantrasyonu arttıkça sürgün boyu ve kök uzunluğunda genel olarak azalma olduğu tespit edildi.
3. Test edilen tüm parametreler hem yeşil aksam hem de kök kısımlarında genel olarak bir ağırlık kaybına neden olmuştur. $CaCl_2$ ve $MgCl_2$ 'nin yüksek konsantrasyonlarında (150 ve 300 mM) fidelerin gelişme göstermeyerek kuruduğu, 150 mM $NaCl$ 'de ise bitkilerin yavaş da olsa gelişmesine devam ettiği tespit edildi.
4. Bitkinin yeşil aksam ve kök nispi su içeriği ele alındığında genel olarak tüm tuz çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça nispi su içeriğinde ters orantılı olarak azalma olduğu belirlendi. Yeşil aksam nispi su içeriği bakımından en az etkileyen tuz çeşidinden en çok etkileyene doğru sıralama yapıldığında; $NaCl > MgCl_2 > CaCl_2$ olduğu sonucuna varıldı.
5. Tuz stresinin fide gelişimi evresinde fotosentetik pigment içeriği üzerindeki etkisinin uygulanan tuz çeşidinden ziyade tuz konsantrasyonuna göre farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Tuz çeşitleri arasında $NaCl$ 'nin, fotosentetik pigment içeriği üzerinde daha az etkili olduğu sonucuna varıldı.
6. Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA içeriği, bitkide hücre zarının yıkımı sonucunu oluşturan önemli bir stres parametresidir. Yaptığımız çalışmada MDA içeriğinin uygulanan tuz çeşidine göre farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Genel olarak tüm tuz çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça MDA içeriğinin doğru orantılı olarak arttığı belirlendi.

Sonuç olarak, *in vitro* ortamda tuz stresine maruz bırakılan Karacadağ yerel çeltiğinin hem çimlenme hem de fide gelişimi evresinde olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Bu olumsuzlukların sonucu olarak ortaya çıkan verim kayıplarının en aza indirilebilmesi için tuzluluğa karşı dayanıklılık mekanizmalarının geliştirilmesine

yönelik bundan sonra yapılacak araştırmalar fizyolojik, genetik ve biyokimyasal çalışmalarla desteklenmelidir.



KAYNAKLAR

- Aazami, M.A., Torabi, M. and Jalili, E., 2010, In vitro response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress, *Afr J Biotechnol*, 9 (26): 4014-4017.
- Abu-Khadejeh, A., Makhadmeh, I., Shibli, R.A. and Mohammed, M.J., 2011, Physiological responses of tomato micro shoot cultures to in vitro induced salinity stress, *Jordan J AgrSci*, 7 (2): 260-272.
- Adavi, Z., Mobli, M., Razmjoo, K. and Landi, E., 2007, Effects of salinity of irrigation water on *Cynodon spp.* cultivars grown on salty soil in Isfahan, *JWSS 2007*, 10(4):179-196.
- Adıyaman C., 2005, Farklı tuz konsantrasyonlarının ceylan 95 makarnalık buğday ve şahin 91 arpa çeşitlerinde bazı gelişme dönemleri ve morfolojik özellikler üzerine etkileri, *Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa, 197711.
- Agastian, P., Kingsley, S.J. and Vivekanandan, M., 2000, Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes, *Photosynthetica*, 38, 287–290.
- Akay, H., 2010, Çeltikte farklı somatik explantlardan kallus oluşumunun ve bitki elde etme potansiyelinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 2-3.
- Akıncı, I.E. and Şimşek, M., 2004, Ameliorative effects of potassium and calcium on the salinity stress in embriyo culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.), *J Biol Sci*, 4 (3): 361-365.
- Aktaş, H. ve Kılıç, P., 2013, Sebze soya filizi yetiştiriciliğinde (*Glycine max* L.) tuz uygulamalarının tohum çimlenmesi ve filiz kalitesi üzerine etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi*, 23(3): 236-241.
- Alamgir, A.N. and Ali, M.Y., 1999, Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.), *Bangladesh J Bot*, 28:145-149 p.
- Ali, Y., Aslam, Z., Ashraf, M.Y. and Tahir, G.R., 2004, Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown undersaline environment. *Int. J. Environ.Sci. Technol.* 1, 221–225.
- Amini, F. and Ehsanpour, A.A., 2005, Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na^+/K^+ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress, *Am J Biochem & Biotech*, 1 (4): 204-208.
- Amini, F. and Ehsanpour, A.A., 2006, Responce of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to MS, water agar and salt stress in in vitro culture, *Asian J Plant Sci*, 9 (1): 170-175.
- Anonim, 2003, Çeltik Çalışma Grubu Raporu, *Türkiye Ziraat Odaları Birliği*, Ankara.
- Anonim, 2009. Türkiye İstatistik Yıllığı 2007, *Devlet İstatistik Enstitüsü Yay. No:2390*, Ankara.
- Anonim, 2010, Türkiye İstatistik Kurumu, Tarım/Bitkisel Üretim İstatistikleri. Erişim: [http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=45&ust_id=13]. Erişim Tarihi: 17.03.2013.
- Anonim, 2015, Çeşitlerimiz [online], Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü, <http://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Link/1/Cesitlerimiz> [Ziyaret Tarihi: 13.02.2016].
- Anonymous, 1999, Consensus Document On The Biology of *Oryza sativa* (Rice), Organisation For Economic Co-Operation and Development, OECD Environmental Health and Safety Publications, Paris.
- Anonymous, 2011, Global IPM facility available. <http://faostat.fao.org/>

- Anuradha, S. and Rao, S.S.R., 2001, Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Growth Regul*, 33: 151-153.
- Aranda, R.R. and Syvertsen, J.P., 1996, The influence of foliar applied urea nitrogen and salina solutions on net gas exchenc of *Citrus* leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121:501-506.
- Arnon, D.I., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiology*, 24,1-15.
- Asch, F. and Wopereis, M.C.S., 2001, Responses of field grown irrigated rice cultivars to varying levels of flood water salinity in a semiarid environment, *Field Crops Research*, 70: 127-137 p.
- Ashraf, M., 1994, Organic substance responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*, *Biol Plant*. 36:255259.
- Ashraf, M.Y. and Bhatti, A.S., 2000, Effect of salinity on growth and chlorophyll content in rice, *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 43, 130-131.
- Ayyıldız, M., 1990, Sulama Suyu Kalitesi ve Tuzluluk Problemleri. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Kültür Teknik Bölümü, *Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları*: 1196, Ders Kitabı: 344, Ankara, 282s.
- Barr, H.D. and Weatherley, P.E., 1962, A reexamination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficit in Leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15, 413-428.
- Baltacı, C., Can, D., Karaoğlu, A. ve Tantur, A., 2004, Sulanan Alanlarda Tuzluluk Yönetimi Sempozyumu. *Devlet Su İşleri Bildiriler Kitabı*, Ankara, 185-186.
- Bayraklı F., 1998, *Toprak Kimyası*, OMÜ, Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No: 26, 1. Baskı, Samsun.
- Belaqziz R., Romane A. and Abbad A., 2009, Salt Stres Effects on Germination, Growth and Essential Oil Content of an Endemic Thyme Species in Morocco (*Thymus maroccanus* Ball.), *Journal of Applied Scienes Research*, 5, 858-863.
- Benderradji, L., Brini, F., Kellou, K., Ykhlef, N., Djekoun, A., Masmoudi, K. and Bouzerzour, H., 2012, Callus induction, proliferation, and plantlets regeneration of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under saline and heat stress conditions, *ISRN Agronomy*, 2012: 1-8.
- Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A.K., 2002, Salt stres induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination, *Seed Science and Technology*, 30: 279287 p.
- Bohra, J.S., Dörffling, H. And Dörffling, K., 1995, Salinity tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) with reference to endogenous exogenous abscisic acid, *J. Agronomy&CropScience*, 174: 7986 p.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M., 2005, Plant Adaptive Responses to Salinity Stress, *Plant Abiotic Stress*, Blackwell Publishing Ltd., 270p.
- Büyük, G., Soydam-Aydın, S. ve Aras, S., 2012, Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Türk Hij Den Biyol Derg*, 69 (2): 97-110.
- Carrasco-Rios, L. and Pinto, M., 2014, Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves in two contrasting corn, Lluteño' and Jubilee', *Chilean Journal Of Agricultural Research*, 74(1), 89-95.
- Chamandoosti, F., 2007, Effect of sodium chloride on establishment of callus and organogenesis in *Brassica napus* L., *Pak J Biol Sci*, 10 (21): 3880-3884.
- Chartzoulakis, K. and Klapaki, G., 2000, Response of two green house pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hortic.* 86, 247-260.

- Cha-Um, S. and Kirdmanee, C., 2009, Effects of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars, *Pak. J. Bot.*,41(1), 87-98.
- Chuan, C.L. and Ching, H.K., 1999, NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedlings, *Plant and Soil*, 216: 147153 p.
- Dadkhah A.R. and Grrifiths, H., 2006., The Effect of Salinity on Growth, Inorganic Ions and Dry Matter Partitioning in Sugar Beet Cultivars. *J. Agric. Sci. Technol.*, 8: 199-210.
- Dajic, Z., 2006, Salt Stress, Physiology and Molecular Biology of Stres Tolerance in Plants, ISBN-13 978-1-4020-4224-9, Dordrecht, The Netherlands, 345 p.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F., 2000, Dual action of the active oxygen species during plant stres responses, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 779-795.
- Daşgan, H.Y. and Koç, S., 2009, Evaluation of Salt Tolerance in Common Bean Genotypes by Ion Regulation and Searching for Screening Parameters. *Journal of Food, Agriculture Environment*, 7(2): 363-372.
- Demiral, T. and Türkan, I., 2004, Does exogenous glycinebetaine affect antioksidative system of rice seedlings under NaCl treatment, *Journal of Plant Physiology*, 161, 1089-1100.
- Demiral, T. and Türkan, I., 2005, Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance, *Environmental and Experimental Botany*, 53, 247–257.
- Doğan, M., Avu, A., Can, E.N. ve Aktan, A., 2008, Farklı domates tohumlarının çimlenmesi üzerine tuz stresinin etkisi, *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 3 (2): 174-182.
- Dolatabadian, A., Sanavy, S.A.M.M. and Chashmi, N.A., 2008, The effects of application of ascorbic acid (vitamin c) on antioxidant enzymes activites, lipid peroxidant and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stres, *J. Agronomy and Crop Science*, 931-2250.
- Ecem, N., 2010, Farklı Mısır (*Zea mays* L.) Çeşit ve Hatlarında Kuraklık Stresi Etkilerinin Fizyolojik Olarak İncelenmesi, Yüksek lisans Tezi, *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya.
- El-Tayeb, M.A., 2005, Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *PlantGrowthRegul.*45, 215–224.
- Elçi, S., Kolsarıcı, Ö. ve Geçit, H.H., 1994, Tarla Bitkileri, *Ankara Üniversitesi Fakültesi yayınları*:1385, Ders kitabı: 399, Ankara.
- Elliialtıoğlu, Ş. ve Tıpırdamaz, R., 1998, Doku kültürünün tuz stresine dayanıklılıkta kullanımı, Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu, 22-26 Haziran, E.Ü. Ziraat Fakültesi, E.Ü. Bilim–Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bornova – İzmir, 234 s.
- Erdal, Ş. Ç. and Çakırlar, H., 2014, Impact of salt stress on photosystem II efficiency and antioxidant enzyme activities of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars, *Turk J. Biol.*, 38, 549-560.
- Garcia, A.B., Almeida Engler, J., Lyer, S., Gerats, T., Montagu, M.V. and Caplan, A.B., 1997, Effects of osmoprotectants upon NaCl stres in rice, *Plant Physiology*, 115:159169p.
- Gorham J., Jones W.R.G. and McDonnell E., 1985, *Plant and Soil*, 89, 15-40.
- Gouia, H.,Ghorbal, M.H. and Touraine, B., 1994, Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃⁻ reduction rate within whole plants of salt–sensitive bean and salt–tolerant cotton, *Plant Physiology*, 105(4), 1049-1417 pp.

- Güneş, A., Alpaslan, M. ve İnal, A., 2010, Bitki besleme ve gübreleme, *A.Ü. Ziraat Fakültesi yayınları*, Ankara, yayın no: 1581, Ders kitabı:533. ISBN:978-975-482-878-8.
- Güngör, Y. ve Erözel, Z., 1994, Drenaj ve Arazi Islahı. *Ankara Üniv., Ziraat Fak. Yayınları* No:1341, Ders Kitabı:389, Ankara, 232s.
- Gürel, A. ve Avcioğlu, R., 2001, Bitkilerde Strese Dayanıklılık Fizyolojisi, 21. bölüm, Editörler: Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., “Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları”, *Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları*, 308-313.
- Hamed, K.B., Chibani, F., Abdelly, C. and Magne, C., 2014, Growth, sodium uptake and antioxidant responses of coastal plants differing in their ecological status under increasing salinity, *Biologia*, 69(2), 193-201.
- Hassan, N.M., Serag, M.S., El-Feky, F.M. and Nemat Alla, M.M., 2008, In vitro selection of mung bean and tomato for improving tolerance to NaCl, *Ann Appl Biol*, 152: 319-330.
- Hassanein, A.M., 2004, Effect of relatively high concentrations of mannitol and sodium chloride on regeneration and gene expression of stress tolerant (*Alhagi graecorum*) and stress sensitive (*Lycopersicon esculentum* L.) plant species, *Bulg J Plant Physiol*, 30 (3-4): 19-36.
- Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F. and del Rio, L.A., 1995, Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Sci.* 105, 151–167.
- Hong, C-Y., Chao, Y-Y., Yang, M-Y., Cho, S-C. and Kao, C.H., 2009, Na⁺ But Not Cl⁻ or Osmotic Stress is Involved in NaCl Induced Expression of Glutathione Reductase in Roots of Rice Seedlings, *Journal of Plant Physiology*, 166, 1598-1606.
- Implay, J.A., 2003, Pathways of oxidative damage, *Annual Reviews in Microbiology*, 57, 395-418.
- Kaddour, R., Draoui, E., Baa'tour, O., Mahmoudi, H., Tarchoun, I., Nasri, N., Gruber M. and Lachaal, M., 2013, Assessment of salt tolerance of *Nasturtium officinale* R. Br. using physiological and biochemical parameters, *Acta Physiol. Plant*, 35, 3427-3436.
- Kanber, R., Kırdı, C. ve Tekinel, O., 1992, Sulama Suyu Niteliği ve Sulamada Tuzluluk Sorunları. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi*, Adana, Yayın No:21, Ders Kitapları Yayın No:6.
- Kaya, B., 2013, Karacadağ Yerel Ve Osmancık-97 Çeltik Varyetelerinin Bazı Yabancı Otlara Karşı Rekabet Yeteneklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır, 2.
- Khan, M.H. and Panda, S.K., 2008, Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress, *Acta Physiologica Plantarum*, 30,81–89.
- Khavarinejad, R.A. and Mostofi, Y., 1998, Effect of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica* 35, 151–154.
- Khosravinejad, F., Heydari, R. and Farboodnia, T., 2008, Effect of salinity on photosynthetic pigments, respiration and water content in two barley varieties. *Pak. J. Biol. Sci.* 3, 821–825.
- Khosravinejad, F., Heydari, R. and Farboodnia, T., 2009, Growth and inorganic solute accumulation of two barley varieties in salinity. *Pak. J. Biol. Sci.* 12, 168–172.
- Koyuncu, N., 2008, Türkiye’de Yetiştirilen Ekmeklik ve Makarnalık Buğday (*Triticum spp.*) Çeşitlerinin *in vitro* Koşullarda Tuza Toleranslarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı.

- Koyuncu, N., 2012, Bazı Makarnalık buğday (*T. durum* Desf.) çeşitlerinin in vitro koşullarda yüksek tuz dozlarına tepkileri, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 21 (2): 70-74.
- Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, S., Abak, K. and Yasar, F., 2007, Responses of Some Melon (*Cucumis* Sp.) Genotypes to Salt Stress. *Journal of Agricultural Sciences, Ankara University Faculty of Agriculture*. 13 (4): 395- 404.
- Kuşvuran, Ş., 2010, Kavunlarda kuraklık ve tuzluluğa toleransın fizyolojik mekanizmaları arasındaki bağlantılar, Doktora tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 356 sayfa.
- Kün, E., 1997, Sıcak İklim Tahılları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları*:1452, Ders kitabı: 432, Ankara.
- Kwiatowsky, J., 1998, Salinity classification, mapping and management in Alberta.
- Larcher, W., 1995. *Physiological Plant Ecology*, Published by Springer, ISBN 0-387-09795-3, New York, 506p.
- Lee, M.H., Cho, E.J., Wi, S.G., Bae, H., Kim, J.E., Cho, J-Y., Lee, S., Kim, J-H. and Chung, B.Y., 2013, Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 325e335.
- Levitt, J., 1980, Responses of Plants to Environmental Stresses Volume II. (Physiological Ecology), *Academic Press*, New York. 365-490p.
- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J., 1996, NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance, *Annals of Botany*, 78, 389-398.
- Maiale, S., Sanchez, D.H., Guirado, A., Vidal, A. and Ruiz, O.A., 2004, Spermine accumulation under salt stress, *J. Plant Physiology*, 161:3542p.
- Mandhania, S., Madan, S. and Sawhney, V., 2006, Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings, *Biologia Plantarum*, 50 (2), 227-231.
- Mercado, J.A., Sancho-Carrascosa, M.A., Jimenez-Bermudez, S., Peran-Quesada, R., Pliego-Alfaro, F. and Quesada, M.A., 2000, Assessment of in vitro growth of apical stem sections and adventitious organogenesis to evaluate salinity tolerance in cultivated tomato, *Plant Cell Tiss Org*, 62: 101-106.
- Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. and Miyake, H., 2003, Relationship between salinity induced damages and aging in rice leaf tissues, *Plant Prod. Sci.* 6: 213-218 p.
- Mohamed, A.N., Ismail, M.R., Kadir, M.A. and Saud, H.M., 2011, In vitro performances of hypocotyl and cotyledon explants of tomato cultivars under sodium chloride stress, *Afr J Biotechnol*, 10 (44): 8757-8764.
- Montoliu, A., Lopez-Climent, M.F., Arbona, V., Perez-Clemente, R.M. and Gomez-Cadenas, A., 2009, A novel in vitro tissue culture approach to study salt stress responses in citrus, *Plant Growth Regul*, 59: 179-187.
- Munns, R., 2002, Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25; 239–250.
- Nakamura, I., Murayama, S., Tobita, S., Bong, B.B., Yanagihara, S., Ishimine, Y. and Kawamitsu, Y., 2002, Effect of NaCl on the photosynthesis, water relations and free proline accumulation in wild *Oryza* species, *Plant Production Science*, 5: 305-310 p.
- Naseer, S.H., Nisar, A. and Ashraf, M., 2001, Effect of salt stress on germination and seedling growth of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Pak. J. Biol. Sci.* 4, 359–360.

- Neelakandan, A.K. and Wang, K., 2012, Recent progress in the understanding of tissue culture-induced genome level changes in plants and potential applications, *Plant Cell Rep*, 31: 597-620.
- Neto, A., Prisco, A.D., Eneas-Filho, J.T., Braga De Abreu, J. and Gomes-Filho, E., 2006, Effects of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes, *Environmental and Experimental Botany*, 56, 87-94.
- Noaman, M.M. and Ahmad, E., 2004, Development of alfalfa tolerant to salinity stress using organogenesis technique, *Biotechnology*, 3 (2): 136-139.
- Nunez, M., Mazzafera, P., Mazon, L.M., Siqueira, W.J. and Zullo, M.A.T., 2003, Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl, *Biol Plantarum*, 47 (1): 67-70.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, Y. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Queslati, S., Karray-Bourouai, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri, R. and Lachaal, M., 2010, Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (pennyroyal) to salt stress, *Acta Physiol. Plant*, 32, 289-296.
- Öncel, I. ve Keleş, Y., 2002, Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. *C.Ü. Fen-Edb. Fak. Fen Bilimleri Dergisi* 23, 1-16.
- Özdemir S., *Ç.Ü.Z.F. Dergisi*, 10 (3) 69-82 (1995).
- Parida, K.A. and Das, A.B., 2005, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 342349p.
- 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.
- Richards, L.A., 1954, Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils, *U.S. Agriculture Handbook*, No: 60, 159p
- Rodriguez-Rosales, M.P., Kerkeb, L., Bueno, P. and Donaire, J.P., 1999, Changes induced by NaCl in lipid content and composition, lipoxygenase, plasma membrane H⁺-ATPase and antioxidant enzyme activities of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) calli, *Plant Sci*, 143: 143-150.
- Sairam R.K., Rao K.V. and Srivastava G.C., 2002, Differential Response of Wheat Genotypes to Long Term Salinity Stress in Relation to Oxidative Stress, Antioxidant Activity and Osmolyte Concentration, *Plant Science*, 163:1037-1046.
- Salah, I.B., Mahmoudi, H., Gruber, M., Slatni, T., Boulaaba, M., Gandour, M., Messedi, D., Hamed, K.B., Ksouri, R., Hannoufa, A. and Abdelly, C., 2011, Phenolic content and antioxidant activity in two contrasting *Medicago ciliaris* lines cultivated under salt stress, *Biologia*, 66(5), 813-820.
- Saleem, A., Ashraf, M. and Akram, N.A., 2011, Salt (NaCl)-Induced Modulation in some Key Physio-Biochemical Attributes in Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) *J. Agronomy & Crop Science*, 202-213.
- Santos, C.V., 2004, Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Sci. Hortic.* 103, 93-99.
- Seemann, J.R. and Critchley, C., 1985, Effects of salt stress on growth. Ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta*, 164:151-162.

- Sekmen, A.H., Özgür, R., Uzilday, B., Tanyolaç, Z. Ö. and Dinç, A., 2012, The response of the xerophytic plant *Gypsophila aucheri* to salt and drought stresses: the role of the antioxidant defence system, *Turk J. Bot.*, 36, 697-706.
- Shibli, R.A., Kushad, M., Yousef, G.G. and Lila, M.A., 2007, Physiological and biochemical responses of tomato microshoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation, *Plant Growth Regul.*, 51: 159-169.
- Siahpoosh, M.R., Sanchez, D.H., Schlereth, A., Scofield, G.N., Furbank, R.T., Van Dongen, J.T. and Kopka, J., 2012, Modification of OsSUT1 gene expression modulates the salt response of rice *Oryza sativa* cv. Taipei 309, *PlantSci.*, 182, 101–111.
- Sing, A.K. and Dubey, R.S., 1995, Change in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl, *Photosynthetica*, 31: 489-499 p.
- Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H.S., Shekar-Shetty, H., Savithri, H.S. and Sudhakar, C., 1999, Total Peroxidase Activity and Peroxidase Isoforms as Modified by Salt Stress in Two Cultivars of Fox-Tail Millet with Differential Salt Tolerance, *Plant Sci.*, 141:1-9.
- Steppuhn H., Volkmar K.M. and Miller P.R., 2001, Comparing Canola, Field Pea, Dry Bean and Durum Wheat Crops Grown in Saline Media, *Crop Science*, 41:1827-1833.
- Sürek, H., 2002, Çeltik Tarımı, *Hasad Yayınları*, İstanbul.
- Taban, S., Güneş A., Alpaslan M., and Özcan H., 1999, Tr. *J. Of Agriculture and Forestry*, TÜBİTAK, 23 Ek Sayı 3, 625-633.
- Talano, M.A., Agostini, E., Medina, M.I., Milrad De Forchetti, S. and Tigier, H.A., 2003, Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Pera) hairy root cultures: characterization and changes in peroxidase activity under NaCl treatment, *In Vitro Cell Dev-Pl*, 39: 354-359.
- Tatar, Ö., 2006, Tuzluluğun Bazı Çeltik Çeşit Ve Hatlarının Çimlenme İle Fide Gelişimi Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 1.
- Tun, N.N., Heiligtag, B., Kleeberg, A. and Richter, C., 2003, *Technologia and institutional innovations for sustainable rural development*, Deutscher Tropentag, October 810, Göttingen.
- Turan, M.A., Türkmen, N. and Taban, N., 2007, Effect of NaCl on stomatal resistance and proline, chlorophyll, Na, Cl and K concentrations of lentil plants. *J. Agron.* 6, 378–381.
- Turan, S. and Tripathy, B.S. 2012. Salt and genotype impact on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two rice cultivars during de-etiolation, *Protoplasma*, DOI 10.1007/s00709-012-0395-5.
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G., 2003, Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.)—differential response in salt-tolerant and sensitive varieties, *Plant Science*, 165, 1411–1418.
- Yaşar, F., 2003, Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerini 2003n in vitro ve in vivo Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, 139.
- Yazıcı, I., Türkan, İ., Sekmen, A.H. and Demiral, T., 2007, Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation, *Environmental and Experimental Botany*, 61, 49-57.

- Yıldızıtugay, E., Sekmen, A.H., Turkan, I. and Kucukoduk, M., 2011, Elucidation of physiological and biochemical mechanisms of an endemic halophyte *Centaurea tuzgoluensis* under salt stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 816-824.
- Yokaş, İ., Tuna, A.L., Bürün, B., Altunlu, H., Altan, F. and Kaya, C., 2008, Responses of the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant to exposure to different salt forms and rates, *Turk J Agric For*, 32: 319-329.
- Zhang, J., Duan, X., Ding, F., Ma, H., Zhang, T. and Yang Y., 2013, Salinity induced the changes of root growth and antioxidative responses in two wheat cultivars, *Protoplasma*, 10, 709-715.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mehmet Yusuf ORCAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : ANKARA/1985
Telefon : 05336998902
Faks :
e-mail : orcanyusuf@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: İnönü Lisesi Altındağ/Ankara	2002
Üniversite	: Dicle Üniversitesi	2008
Yüksek Lisans	: Batman Üniversitesi	-

YAYINLAR

Bildiri: Karacadağ Çeltik Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Farklı Tuz Tipi ve Konsantrasyonlarının Etkisinin *in vitro* Ortamda İncelenmesi. Mehmet Yusuf ORCAN, Filiz AKBAŞ. II. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu. 31 Ağustos-03 Eylül 2016. Mersin (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)