



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PRUNUS MICROCARPA* VE BAZI SERT ÇEKİRDEKLİ
MEYVE ANAÇLARININ TUZLULUĞA TOLERANS
YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI**

NEVZAT SEVGİN

DOKTORA TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2014

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PRUNUS MICROCARPA* VE BAZI SERTÇEKİRDEKLİ
MEYVE ANAÇLARININ TUZLULUĞA TOLERANS
YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI**

NEVZAT SEVGİN

Bu tez,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında
DOKTORA
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2014

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi NEVZAT SEVGİN tarafından hazırlanan “*Prunus microcarpa* ve Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Tuzluluğa Tolerans Yönünden Karşılaştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 19/09/2014 tarihinde **oy birliği** / ~~oy çokluğu~~ ile Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Nuri NAS (DANIŞMAN)
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

.....

Prof. Dr. İbrahim BOLAT (ÜYE)
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Harran Üniversitesi

.....

Doç.Dr. Mehmet SÜTYEMEZ(ÜYE)
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Recep GÜNDOĞAN (ÜYE)
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

.....

Prof.Dr. Resul GERÇEKÇİOĞLU(ÜYE)
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. M. Hakkı ALMA

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

NEVZAT SEVGİN

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**PRUNUS MICROCARPA VE BAZI SERT ÇEKİRDEKLİ MEYVE ANAÇLARININ
TUZLULUĞA TOLERANS YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI
(DOKTORA TEZİ)**

NEVZAT SEVGİN

ÖZET

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu'dan seçilmiş ve anaçlık potansiyelleri yönüyle önemli görülen *Prunus microcarpa*'nın üç genotipinin (G1, G2, G3) tuzluluğa tolerans durumları, standart bazı anaçlarla (MaxMa 14, Gisela 5, Pixy, SL-64 ve Garnem) karşılaştırmalı olarak, *ex vitro* ve *in vitro* şartlarda araştırılmıştır. Çalışma kapsamında anaçların tuz stresine toleranslarını belirlemek için *in vitro*da explantlar kontrol (0), 50, 100 veya 150 mM NaCl içeren Nas ve Read (2004) besi ortamına (NRM) aktarılmıştır. *Ex vitro* şartlarda torf, perlit ve kum (2/1/1) karışımı ile dolu olan tüplere aktarılmış genotipler kontrol (0), 50, 100 veya 150 mM NaCl içeren solüsyonla sulanmıştır. Her iki denemede dört haftanın sonunda genotiplerin sürgün gelişimi, Klorofil a, Klorofil b, Prolin, Lipid peroksidasyonu (MDA), Hidrojen peroksit (H₂O₂), Zarar görmüş dokuların oranı, Yaprak doku elektrik iletkenliği, yaprak oransal su kapsamı içeriği ve antioksidant enzim (SOD, POX, CAT, APOX ve GR) aktivitelerindeki değişimler değerlendirilmiştir.

Çalışma sonucunda tuzluluk stresinin hem *in vitro* hem *ex vitro* koşullarda bütün genotiplerin büyüme ve gelişmesini (sürgün sayısı, sürgün uzunluğu) engellediği ve genotiplerin strese tepkilerinin farklı olduğu belirlenmiştir. Tuzluluk stresinin özellikle 100 ve 150 mM NaCl konsantrasyonunun bütün genotiplerde Prolin, MDA, SOD, CAT, POX, APOX, GR miktarlarını artırdığı görülmüştür. *Prunus microcarpa*'nın özellikle G2 genotipinin diğer türlerin genotiplerine göre tuza dayanım bakımından öne çıktığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak çalışma kapsamında kullanılan ve ülkemiz orijinli olan *Prunus microcarpa* genotiplerinin uygun toprakların yanı sıra, kısmen tuzlu topraklarda veya sulama suyunun nispeten tuzlu olduğu yerlerde en az diğer standart anaçlar kadar rahat bir şekilde kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Anaç, antioksidatif enzimler, *Prunus microcarpa*, tuzluluk stresi.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Eylül / 2014

Danışman : Prof.Dr Mehmet NURİ NAS

Sayfa sayısı:108

**COMPARISON OF PRUNUS MICROCARPA AND SOME STONE FRUIT
ROOTSTOCKS WITH RESPECT TO SALINITY TOLERANCE
(Ph.D THESIS)**

NEVZAT SEVGİN

ABSTRACT

In this study, *in vitro* and *ex vitro* salinity tolerance of three *Prunus microcarpa* genotypes (G1, G2 and G3) selected from South East Anatolia was investigated in comparison with that of some standard rootstocks (MaxMa 14, Gisela 5, Pixy, SL-64, and Garnem). To determine salinity tolerance of rootstocks, explants were cultured *in vitro* on Nas and Read (2004) Medium (NRM) containing 0, 50, 100 or 150 mM NaCl. Also, in the greenhouse (*ex vitro*) plants were transplanted to pots containing a mixture of peat, perlite and sand (2/1/1) and were watered with 0, 50, 100 or 150 mM NaCl solution. Four weeks after the application of salinity treatments shoot growth, chlorophyll a, chlorophyll b, Proline, Lipid Peroxidation (MDA), Hydrogen Peroxide (H₂O₂), leaf tissue damage, leaf tissue electrical conductivity, leaf relative water content and activity of antioxidative enzymes (SOD, POX, CAT, APOX and GR) were analyzed.

Salinity stress inhibited the growth and development of all genotypes both *in vitro* and *ex vitro* and depending on genotypes the response to salinity stress varied. Under salinity stress particularly at 100 and 150 mM NaCl level Proline, MDA, SOD, CAT, POX, APOX and GR increased in all genotypes. *Prunus microcarpa*, especially G2 genotypes, seemed to be more tolerant to salinity stress compared to the genotypes of the other species tested.

Prunus microcarpa genotypes of Turkey origin tested in this study could be used as potential rootstocks in soils suitable for fruit culture, in lightly saline soils and when irrigation water is brackish, at least as safe as the other standard rootstocks tested.

Key Words: Antioxidative enzymes, *Prunus microcarpa*, rootstock, salinity stress.

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Horticulture, September / 2014

Supervisor: : Prof.Dr Mehmet NURİ NAS

Page Number:108

TEŞEKKÜR

Doktora tezi konusunu belirlemede ve çalışmalarım sırasında beni destekleyen, bilgi, öneri ve tecrübesini esirgemeyerek bana her zaman yol gösteren, bana rahat bir çalışma ortamı sağlayan ve daima örnek aldığım değerli danışmanım Prof. Dr. Mehmet Nuri NAS'a teşekkürlerimi sunarım.

Sera çalışmalarımda bana her türlü desteğini sağlayan Doç. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ'e ve ÜSKİM laboratuvar çalışmalarımda bana rahat bir çalışma imkanı sağlayan Prof. Dr. Yüksel BÖLEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın sera ve laboratuvar aşamalarında bana yardımcı olan Arş. Gör. Özlem DEĞER, Öğr. Gör. Murat AYDEMİR ve Biyolog Halil TEKEREK'e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmam süresince benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen ve sürekli yanımda olan değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

.

NEVZAT SEVGİN

ÖZ.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.2.1. Genotiplerin tuza toleranslarının <i>in vitro</i> da karşılaştırılması.....	24
3.2.2. Genotiplerin tuza toleranslarının <i>ex vitro</i> da (saksılarda) karşılaştırılması	25
3.3. Araştırma Kapsamında Yapılan Ölçüm ve Analizler	27
3.3.1. <i>In vitro</i> da büyüme ve çoğalmanın karşılaştırılması.....	27
3.3.2. Zarar görmüş dokuların oranının belirlenmesi	27
3.3.3. Doku elektrik iletkenliği.....	28
3.3.4. Doku su içeriği.....	28
3.3.5. Klorofil miktarı.....	28
3.3.6. Prolin miktarı.....	29
3.3.7. Lipid peroksidasyonu [Malondialdehid (MDA)] miktarı.....	30
3.3.8. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) içeriği.....	30
3.3.9. Antioksidatif enzim analizleri	30
3.3.9.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	31
3.3.9.2. Katalaz (CAT) aktivitesi	31
3.3.9.3. Peroksidaz (POX) aktivitesi.....	32
3.3.9.4. Askorbat peroksidaz (APOX) aktivitesi.....	32

3.3.9.5. Glutathion redüktaz (GR) aktivitesi.....	32
3.4. Verilerin Değerlendirilmesi	33
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. <i>In vitro</i> da Tuz Denemesine Ait Bulgular	34
4.1.1. Tuzluluk stresinin sürgün sayısı üzerine etkisi.....	34
4.1.2. Tuzluluk stresinin sürgün uzunluğu üzerine etkisi	36
4.2. Tuzluluk Stresinin Klorofil Üzerine Etkisi	41
4.2.1. Tuzluluk stresinin klorofil a üzerine etkisi	41
4.2.2. Tuzluluk stresinin klorofil b üzerine etkisi.....	43
4.3. Tuzluluk Stresinin Lipid Peroksidasyonu [Malondialdehid (MDA)] Üzerine Etkisi.....	44
4.4. Tuzluluk Stresinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi	46
4.5. Tuzluluk Stresinin Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Üzerine Etkisi	48
4.5. Antioksidant Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişmeler	50
4.5.1. Tuzluluk stresinin süperoksit dismutaz (SOD) üzerine etkisi	50
4.5.2. Tuzluluk stresinin katalaz (CAT) üzerine etkisi.....	51
4.5.3. Tuzluluk stresinin peroksidaz (POX) üzerine etkisi.....	52
4.5.4. Tuzluluk stresinin glutatyon redüktaz (GR) üzerine etkisi.....	54
4.6. <i>Ex vitro</i> Koşullarda Tuz Denemesine Ait Bulgular	56
4.6.1. Tuzluluk stresinin dokuların zararlanma oranı (1-5 skalası) üzerine etkisi....	56
4.6.2. Tuzluluk stresi altında yaprak hücrelerinde membran zararlanması (Doku Elektrik İletkenliği).....	59
4.6.3. Tuzluluk stresinin yapraklardaki doku su içeriği (RWC) üzerine etkisi	61
4.6. Tuzluluk Stresinin Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi	62
4.6.1. Tuzluluk stresinin klorofil a miktarı üzerine etkisi	62
4.6.2. Tuzluluk stresinin klorofil b miktarı üzerine etkisi	64
4.7. Tuzluluk Stresinin Lipid Peroksidasyonu [Malondialdehid (MDA) Miktarı] Üzerine Etkisi	66
4.8. Tuzluluk Stresinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi	68

4.9. Tuzluluk Stresinin Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı üzerine Etkisi.....	70
4.9. Ex vitro Koşullarda Tuzluluk Stresi Sonucu Antioksidant Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişmeler	71
4.9.1. Tuzluluk stresinin süperoksit dismutaz (SOD) üzerine etkisi	71
4.9.2. Tuzluluk stresinin katalaz (CAT) üzerine etkisi.....	73
4.9.3. Tuzluluk stresinin peroksidaz (POX) üzerine etkisi.....	74
4.9.4. Tuzluluk stresinin askorbat peroksidaz (APOX) üzerine etkisi	76
4.9.5. Tuzluluk stresinin gulutasyon redüktaz (GR) üzerine etkisi.....	78
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	80
KAYNAKLAR.....	88
ÖZ GEÇMİŞ.....	107

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

dS/m	:	Desisimens/metre
Ug ⁻¹	:	Ünite/gram
µmol/g	:	Mikromol/gram
µmol	:	mikromol
mM	:	milimol
TBA	:	Tiobarbütirik asit
TCA	:	Trikloroasetik asit
PMSF	:	Phenylmethysulfonyl fluoride
DTT	:	1,4- dithiothreitol
GSSG	:	L-Glutathione Oxidized
NADPH	:	β-Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced tetra(cyclohexylammonium) salt
DAP	:	3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate
PVP	:	Polyvinylpyrrolidone
NBT	:	Nitro Blue Tetrazolium
RWC	:	Doku Su İçeriği
MDA	:	Malondialdehit
H ₂ O ₂	:	Hidrojen Peroksit
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
POX	:	Peroksidaz
CAT	:	Katalaz
APOX	:	Askorbat peroksidaz
GR	:	Glutasyon redüktaz
NRM	:	Nas Read Medium
NaCl	:	Sodyum Klorür

Şekil 1.1. Ülkemizde doğal yayılış gösteren <i>Prunus microcarpa</i> bitkileri	8
Şekil 1.2. <i>Prunus microcarpa</i> üzerine aşılı sert çekirdekli meyveler.....	9
Şekil 3.1. <i>In vitro</i> çalışmalar için eksplant kaynağı olarak kullanılan damızlık bitkiler.	20
Şekil 3.2. Eksplant olarak kullanılan sürgünler.	21
Şekil 3.3. Araştırma materyali olarak kullanılan anaçların (genotiplerin) <i>in vitro</i> köklendirilmiş mikrosürgünleri.....	23
Şekil 3.4. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan kültürler.	24
Şekil 3.5. Serada tepesi kesilen klon anaçlar (genotipler).	26
Şekil 3.6. Serada tuz uygulamasına tabi tutulan klon anaçlar	26
Şekil 3.7. Prolin miktarına bağlı olarak değişen absorbans değerleri standart eğrisi.....	29
Şekil 3.8. <i>In vitro</i> da tuz uygulaması yapılan örneklerde SOD aktivitesinin NBT'ye indirgenmesinin ışıқта engellenmesi	31
Şekil 4.1. <i>In vitro</i> da farklı tuz konsantrasyonlarında genotiplerde eksplant başına meydana gelen sürgün sayısı	35
Şekil 4.2. <i>In vitro</i> da farklı tuz konsantrasyonlarında meydana gelen sürgünlerin uzunlukları	37
Şekil 4.3. <i>In vitro</i> da farklı NaCl konsantrasyonu içeren ortam üzerinde kültürlerin gelişimi .	39
Şekil 4.4. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam klorofil a miktarı.....	43
Şekil 4.5. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam klorofil b miktarı.	44
Şekil 4.6. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam MDA miktarı	46
Şekil 4.7. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam prolin miktarı	47

Şekil 4.8. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam H_2O_2 miktarı	49
Şekil 4.9. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam SOD miktarı	51
Şekil 4.10. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam CAT miktarı	52
Şekil 4.11. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam POX miktarı	53
Şekil 4.12. <i>In vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam GR miktarı	55
Şekil 4. 13. Tuzluluk stresi altında dokuların zararlanma oranı	57
şekil 4. 4. Bir ay süresince tuzluluk stresine tabi tutulmuş bitkiler	58
Şekil 4.15. Tuzluluk stresi altında yaprak hücrelerinde membran zararlanması	60
Şekil 4.16. Tuzluluk stresi altında yaprak doku su içeriğinde (RWC) meydana gelen değişme	61
Şekil 4.17. Tuzluluk stresi altında klorofil a miktarında meydana gelen değişme	63
Şekil 4.18. Tuzluluk stresi altında klorofil b miktarında meydana gelen değişme	65
Şekil 4.19. Tuzluluk stresi altında MDA miktarında meydana gelen değişme	67
Şekil 4.20. Tuzluluk stresi altında Prolin miktarında meydana gelen değişme	69
Şekil 4.21. Tuzluluk stresi altında H_2O_2 miktarında meydana gelen değişme	71
Şekil 4.22. Tuzluluk stresi altında SOD miktarında meydana gelen değişme	72
Şekil 4.23. Tuzluluk stresi altında CAT miktarında meydana gelen değişme	74
Şekil 4.24. Tuzluluk stresi altında POX miktarında meydana gelen değişme	75
Şekil 4.25. Tuzluluk stresi altında APOX miktarında meydana gelen değişme	77
Şekil 4.26. Tuzluluk stresi altında GR miktarında meydana gelen değişme	79

Çizelge 3.1. Tuz stresi altında yaprak dokularında meydana gelen zararlanma derecesi.....	27
Çizelge 4.1. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun sürgün sayısı üzerine etkisinin varyans analizi	34
Çizelge 4.2. <i>In vitro</i> da farklı tuz konsantrasyonlarındaki genotiplerin explantlerinden elde edilen ortalama sürgün sayısı	34
Çizelge 4. 3. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun sürgün uzunluğu üzerine etkisinin varyans analizi.....	36
Çizelge 4. 4. <i>In vitro</i> da farklı tuz konsantrasyonlarında genotiplerin eksplantlerinden elde edilen sürgünlerin ortalama uzunlukları (cm)	37
Çizelge 4. 5. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun klorofil a üzerine etkisinin varyans analizi.....	41
Çizelge 4. 6. <i>In vitro</i> da tuz konsantrasyonuna bağlı olarak genotiplerin klorofil a miktarları	42
Çizelge 4. 7. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun klorofil b üzerine etkisinin varyans analizi	43
Çizelge 4. 8. <i>In vitro</i> da tuz konsantrasyonuna bağlı olarak genotiplerin klorofil b miktarları	44
Çizelge 4. 9. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun MDA miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	45
Çizelge 4. 10. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun Prolin miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	46
Çizelge 4. 11. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun H ₂ O ₂ miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	48
Çizelge 4. 12. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun SOD miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	50
Çizelge 4. 13. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun CAT miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	51

Çizelge 4. 14. <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun POX miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	52
Çizelge 4. 15 <i>In vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun GR miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	54
Çizelge 4. 16. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun hasar indeksi üzerine etkisinin varyans analizi	56
Çizelge 4. 17. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun membran zararlanması üzerine etkisinin varyans analizi	59
Çizelge 4. 18. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun doku su içeriği (RWC) üzerine etkisinin varyans analizi	61
Çizelge 4. 19. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun klorofil a üzerine etkisinin varyans analizi	62
Çizelge 4. 20. <i>Ex vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerde toplam klorofil a miktarı	63
Çizelge 4.21. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun klorofil b üzerine etkisinin varyans analizi	64
Çizelge 4. 22. <i>Ex vitro</i> da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerde toplam klorofil a miktarı	65
Çizelge 4. 23. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu, genotip tuz konsantrasyonu interaksiyonunun MDA miktarı üzerine varyans analizi	66
Çizelge 4. 24. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu, genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun Prolin miktarı üzerine varyans analizi	68
Çizelge 4. 25. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu, genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun H ₂ O ₂ miktarı üzerine varyans analizi	70
Çizelge 4. 26. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun SOD miktarı üzerine etkisinin varyans analizi	71

Çizelge 4. 27. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun CAT miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.....	73
Çizelge 4. 28. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun POX miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.....	75
Çizelge 4. 29. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun APOX miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.....	76
Çizelge 4. 30. <i>Ex vitro</i> da genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksiyonunun GR aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi	78

1. GİRİŞ

Sürekli artan dünya nüfusunu beslemek ve ihtiyaçlarını karşılamak için tarıma uygun ekilebilir alanların arttırılması ve ekilebilir mevcut tarım alanlarının insan kaynaklı ve doğal etmenlerle tahrip olmasının önüne geçilmesi gerekmektedir. Çünkü tarım alanlarında meydana gelen azalma ve bozulmalar üretimi doğrudan etkilemektedir. Diğer taraftan, tarıma uygun arazilerde bitki gelişimini olumsuz etkileyen çevresel faktörler nedeniyle her yıl ciddi ürün kayıpları meydana gelmektedir (Corwin ve Lesch, 2005).

Bitkisel üretimde stres; bir veya birden fazla etkenin, bitkiyi etkileyerek büyümede yavaşlamaya ve verim düşüklüğüne neden olması şeklinde tanımlanmaktadır (Esin, 2007). Bitkide strese neden olan etmenler; biyotik kökenli olabildikleri gibi tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklık, besin elementi eksikliği veya fazlalıkları gibi abiyotik kökenli de olabilmektedir. Toprak tuzluluğu özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde görülmektedir. Böyle bir iklim bölgesinde sulama yapılması halinde tuzluluk çok daha hızlı bir şekilde ortaya çıkabilmektedir. Sulama ile toprağın alt katmanlarında bulunan tuz, buharlaşma sırasında kapillarite ile yukarı taşınmakta ve bitkinin kök bölgesi civarında birirmektedir. Sulamanın yanlış uygulanması, drenajın yeterli olmaması veya sulama suyunda yüksek konsantrasyonda eriyebilir tuzların bulunması tuzlanmanın diğer nedenleri arasında gösterilebilir. Toprakta tuz konsantrasyonunun artması ile birlikte bitkinin topraktan su alımı güçleşmekte, toprağın yapısı bozularak bitki gelişimi yavaşlamakta ve hatta bitkinin ölümüne neden olmaktadır (Ekmekçi ve ark., 2005).

Dünya üzerinde tarım bakımından kullanılabilir araziler maruz kaldıkları stres faktörüne göre sıralandığında en büyük payı %26' lık pay ile doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi altındaki topraklar oluşturmaktadır. Bunu %20 ile mineral stres, %15 ile soğuk ve don stresi takip etmektedir. Bunların dışında kalan %29 luk payı tüm diğer stresler alırken yalnızca %10' luk bir alan herhangi bir stres faktörüne maruz kalmamaktadır (Blum, 1986). Kuraklık ve yüksek tuzluluk bitki gelişimi ve veriminde en ciddi hasarı oluşturan iki faktördür.

Tuzluluk bitki gelişimini etkileyen temel etmenlerden biridir ve her yıl bir milyon hektardan fazla arazinin tuzluluğa maruz kaldığı tahmin edilmektedir (Dubey, 1990). Dünyadaki ekim alanlarının %50'sinin ve tarımsal alanların %20'sinin tuz stresi altında olduğu tahmin edilmektedir (Flowers ve Yeo, 1995). Tuzluluk doğal yolla olabildiği gibi

sulama uygulamalarının yanlış yapılması sonucu insan kaynaklı da ortaya çıkabilir. Bu nedenle sulu tarım yapılan alanlarda tuzluluk önemli bir problem olarak görülmektedir.

Dünyada sulanan alanların yaklaşık %50'si taban suyu, tuzluluk ve sodyumluluk etkisi altındadır. Türkiye'de yaklaşık 1.5 milyon hektar alanda tuzluluk ve sodyumluluk problemi bulunmaktadır. Bu alan Türkiye yüz ölçümünün %2'sine, sulamaya uygun arazilerin %32,5'ne toplam işlenen tarım arazilerinin %5,5'ine, ekonomik olarak sulanabilen 8.5 milyon hektar arazinin %17'sine tekabül etmektedir. Toplam sorunlu alanların %74'ü tuzlu, %25'i tuzlu-sodyumlu ve %0,5'i ise sodyumlu topraklardan oluşmaktadır (Kanber ve ark., 2005).

Türkiye 77.95 milyon hektarlık bir izdüşüm alanına sahiptir. Bu alanın yaklaşık %36'sı tarım arazisi (28 milyon ha), tarım arazisinin de % 45'i (12,5 milyon ha) sulanabilir niteliktedir. Türkiye de 78 milyon ha toplam arazinin %27,3'ünde (21,3 milyon ha) kuru tarım, %5,6'sında (4,4 milyon ha) sulu tarım, %3,1'inde (2,42 milyon ha) bağ, bahçe ve özel ürün tarımı yapılmakta, % 27,6'sı (21.5 milyon ha) çayır-mera ve %29,8'i (23,3 milyon ha) orman-funda olarak kullanılmaktadır (DPT, 2007). Günümüz koşullarında sulamaya ayrılabilir su kaynakları potansiyeli ile sulanabilir alanların tümünü sulamak olası görülmemektedir. Mevcut su kaynakları potansiyeli ve halen uygulanan sulama teknolojileri ile ancak, 8.5 milyon ha alanın sulanabileceği düşünülmektedir. Küresel ısınma ile birlikte mevcut su havzalarının azalması sonucu günümüzde sulanabilen tarım arazilerinin bir kısmının ileride yeteri kadar sulanamayacağı düşünülmektedir.

Türkiye'de 26 adet su toplama havzası bulunmaktadır. Türkiye yıllık ortalama 643 mm yağış almakta, bu değer yılda 501 milyar m³ suya denk gelmektedir. Ülkemiz koşullarında yağışın %37'si akışa geçmektedir. Bu durumda, yağışın 274 km³'ü toprak-bitki-su yüzeyleri sisteminden buharlaşarak atmosfere geri dönmekte, 41 km³'ü yeraltı su depolarını beslemekte, 186.05 km³'ünün ise akarsular aracılığı ile deniz, göl ve kapalı havzalara boşalım için akışa geçtiği kabul edilmektedir (Kanber ve ark., 2005).

Göl, nehir ve yer altı suları ile topraktaki su (nem) aynı zamanda çeşitli besin elementlerini (tuzları) içerirler. Çözünebilir tuzlar; bitkiler tarafından kolayca alınabilirler. Bitki bünyesine alınan tuzlar belirli bir konsantrasyonun üzerine çıkınca bitki üzerinde farklı şekilde zararlanmalara sebep olmakta. Toprakta aşırı Na ve Cl birikimi ozmotik basıncı artırır ve suyun bitkiler tarafından alınması engellenir, pH artar ve iyonik rekabet sonucu besin alınımı sınırlanır. Yeşil aksamda sorunlar oluşur. Ca⁺², K⁺ ve Mg⁺² eksiklikleri ortaya çıkar (Meiri, 1984; Letey ve ark.,1990; Marschner, 1995).

Tuz stresi çoğunlukla yüksek orandaki Na^+ ve Cl^- varlığından kaynaklanmaktadır. Na^+ , Cl^- ve SO_4^{2-} gibi iyonların yüksek konsantrasyonda birikmesine spesifik iyon toksisitesi adı verilmektedir. Tuzun zararlı etkileri spesifik iyon toksisitesinin ortaya çıkması, ozmotik basıncın artması ve suyun kullanılabilirliğinin azalmasıyla oluşur (Yılmaz ve ark., 2011; Kumar ve Bandhu, 2005).

Tuz stresi, bitkilerde genellikle kök gövde ve yapraklarda toplam yaş ağırlık ve kuru madde miktarında azalmalara sebep olmaktadır (Hernandez ve ark., 1995; Parida ve Das, 2004). Ayrıca bitki boyunda, sürgün uzunluğunda, bitki başına düşen yaprak sayısında, kök uzunluğunda ciddi azalmalara (Mohammad ve ark., 1998) boğum aralarının kısalmasına ve yaprak dökümlerine neden olmaktadır (Kozlowski, 1997).

Tuz stresine maruz kalan bitkiler, toprak gözeneklerindeki serbest suyun bağlanması sonucu kök bölgesinde oluşan osmotik basınçtan dolayı su alamadığından gerekli bölgelere su gönderemez. Bitki hücrelerindeki turgorun azalmasıyla birlikte içsel bitki hormonlarından Absisik Asitin (ABA) sentezlenmesi artar (Kumar ve Bandhu., 2005). Absisik asidin artmasıyla bitki stomalarını kapatarak su kaybını en aza indirmeye çalışır. Stomaların kapanmasıyla birlikte transpirasyon engellenerek stoma iletkenliğinin azalmasına sebep olur (Munns ve Tester, 2008). Stoma iletkenliğinin azalması kloroplastlara giren CO_2 miktarında düşüşe sebep olur ve net asimilasyon miktarı azalır (Agastian ve ark., 2000).

Bitkilerde tuz stresinin artmasıyla birlikte bitkilere zarar veren bir diğer etmende stres ile birlikte reaktif oksijen türlerinin (ROS) sentezlenmesidir. Osmotik stres sonucu su eksikliği oluşmakta ve hücresel elektron taşınımında bozulmalara, süper oksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$), alkoksi radikali (LO) ve tekil oksijen ($\text{O}^\cdot$) gibi serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır. Serbest radikaller eşleşmemiş elektron içeren atom, atom gurubu veya moleküllerdir (Elstner, 1987; Parida ve Das, 2004) ve stres şartlarında kloroplast, mitokondri, sitoplazma ve endoplazmik retikulumda metabolik reaksiyonlar sonucu oluşurlar (Mittler ve ark., 2004). Bitkilerde reaktif oksijen türlerinin oluşmasıyla enzimlerin çalışması engellenir veya azalır, hücrede membran lipidleri, nükleik asitler, protein sentezi, klorofil gibi hücre bileşenlerinde zarar meydana gelir (Koca ve ark., 2007; Yaşar ve ark., 2008). Bu nedenle ROS seviyelerinin optimum sınırı geçmemesi gerekir (Quiles ve Lopez, 2004).

Tuz stresini ortadan kaldırmak ve bitkisel üretimdeki zararlanmanın önüne geçmek için tuzlu toprakların ıslahının ekonomik ve pratik olmadığı bunun yerine son yıllarda tuza dayanıklı bitki tür ve genotiplerin yetiştirilmesi daha mantıklı görülmektedir. Yüksek oranda çözünebilir tuz içeren ortamlarda bitkilerin büyümesini ve kabul edilebilir bir verimle hayat döngüsünü tamamlayabilme kabiliyeti olarak tanımlayabileceğimiz tuz toleransı, bitkilerde farklı şekillerde olmaktadır.

Marschner'e (1995) göre, bitkilerde tuza tolerans iki şekilde gerçekleşmekte olup bunlardan birincisi, tuzdan sakınım (exclusion) mekanizmasıdır. Bu mekanizmaya sahip bitkiler tuzun alımını sınırlayarak toksiteyi önleme yeteneğine sahiptirler. İkincisi, tuzu kabullenme (inclusion) mekanizması; bitkinin sodyum (Na) ve klor (Cl)'a doku toleransı göstermesidir. Bitki Na'ı fazla aldığı halde, bitkideki zararlanma az veya hiç yok ise, bitkide doku toleransından bahsedilebilmektedir. Bitkilerin tuza karşı reaksiyonu, bitkinin gelişme dönemine, ortamdaki tuzun konsantrasyonuna, tuza maruz kalma süresine, ışık, sıcaklık ve toprak tekstürü gibi çevre koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir.

Farklı bitki türleri ve tür içerisindeki genotipler tuza karşı farklı tolerans gösterebilmektedir. Bir genotipin tuz stresine karşı toleransını gösteren birçok morfolojik-fizyolojik parametre olduğu belirtilmektedir. Tuzdan sakınım veya tuzu kabullenmeye bağlı olarak tuza toleransın belirlenmesi için bitkilerin değişik doku ve organellerindeki iyonların (Na, K, Cl) birikimi (Sykes, 1992), bitkideki taşınımı ve dağılımı ya da translokasyonu (Hasegawa ve ark., 1986), organik madde sentezleme ve biriktirme yeteneklerinin (Banuls ve Primo-Millo, 1992) araştırıldığı görülmektedir.

Son yıllardaki araştırmalar, stres altında antioksidant miktarlarını ve antioksidatif enzim aktivitelerini daha fazla arttıran bitkilerin, oksidatif zarara karşı daha dirençli olduğunu göstermektedir (Wise ve Naylor, 1987; Spsychalla ve Desborough, 1990).

Antioksidantlardaki artışın birçok bitkideki tuz toleransı ile yakından ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Gossett ve ark., 1994; Benavides ve ark., 2000; Hernandez ve ark., 2000). Antioksidatif savunma sisteminde yer alan antioksidatif enzimler bir takım kompleks reaksiyonlar ile reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Bitkilerdeki antioksidant enzimlerin başında Süperoksit Dismutaz (SOD), Askorbat Peroksidaz (APOX), Glutatyon Redüktaz (GR), Katalaz (CAT), Peroksidaz (POX), Polifenol Oksidaz (PPO), Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR), Dehidroaskorbat (DHAR) gibi düşük moleküllü enzimler gelmektedir. Ayrıca antioksidatif savunma sisteminde görev alan

Vitamin E, Antosiyanin, Askorbik Asit (ASA), Glutasyon (GSH), tokoferol ve karotenoidler gibi enzimatik olmayan antioksidatların reaktif oksijenlerin zararlı etkisini azaltmada rol aldıkları bildirilmektedir (Çakmak ve Marschner, 1992; Çakmak, 1994; Gosset ve ark., 1994; Noctor ve Foyer., 1998; Sreenivasulu ve ark., 2000; Gupta ve ark., 2000).

Sert çekirdekli meyve türleri genellikle toprak tuzluluğuna karşı duyarlıdırlar. Normal şartlarda sert çekirdekli meyvelerde yapraklara çok az miktarda Na iletilmektedir. Ancak tuzlu topraklarda yapraklara fazla miktarda gönderilen Na yaprakların yanmasına, verim kaybına ve hatta bitkinin ölmesine neden olabilmektedir (Bernstein, 1980). Meyvecilikte bu gibi sorunların ortadan kaldırılmasında veya minimuma indirilmesinde anaç kullanımı çok büyük önem arz etmektedir. Özellikle stres koşullarına dayanıklı/toleranslı anaçların kullanımı ile birlikte kullanılamayan tarım arazilerinin değerlendirilmesi mümkün hale gelebilmektedir. Çünkü anaçlar, üzerine aşılanan çeşidin gelişmesini, hastalık ve zararlılara dayanımını, verimini, meyve kalitesini, tuza, kurağa, kirece, dona, taban suyuna dayanımı gibi özellikleri etkilemektedir (Arıcı, 2008). Anaç ıslah çalışmalarının amacı bu tür sorunların üstesinden gelebilecek üstün özellikli anaçlar geliştirmeye yönelik olmasına rağmen günümüzde yaygın olarak kullanılan anaçlar yukarıda belirtilen birçok özellik bakımından arzu edilen seviyede bulunmamakta ve bu nedenle yeni anaçlara ihtiyaç duyulmaktadır (Nas ve ark, 2010).

Ülkemizde toplam meyve üretiminin yaklaşık %25'lik bir dilimi sert çekirdekli meyvelerden oluşmaktadır. Sert çekirdekli meyve üretimi bakımından dünyada sayılı ülkeler arasında bulunan ülkemizde 2013 yılında toplam 2.4 milyon ton sert çekirdekli meyve üretimi gerçekleşmiştir (TÜİK, 2013). Türkiye kiraz ve kayısı üretiminde dünyada birinci sırada, şeftali ve nektarin üretimi bakımından altıncı sırada, erik üretimi bakımından beşinci sırada yer almaktadır (FAO, 2012). Modern meyvecilik yöntemlerinin uygulanmasıyla birlikte sert çekirdekli meyvelerdeki üretim miktarı ve yeni kurulan bahçe sayısı her geçen gün artmaktadır. Bu durumda üstün özelliklere sahip anaçların kullanılması önem kazanmaktadır. Çünkü seçilen anaç hem üretim miktarını hem de meyve kalitesini etkilemektedir. Özellikle tuzlu, kireçli, yüksek taban suyu gibi uygun olmayan koşullarda ürün kalitesini ve miktarını önemli derecede etkileyeceğinden dolayı anaç seçimine çok dikkat edilmelidir.

Tarihsel süreç içerisinde sürekli üstün özelliklere sahip çeşitler ve bodur anaçlar geliştirmek için uzun çabalar ve programlar uygulanmıştır. Bu sebepten dolayı hastalık ve zararlılara dayanıklı, çevresel streslere (kuraklık, tuzluluk, sıcaklık) tolerans ve erkenciliği sağlayan bodur anaçlar geliştirme yoluna gidilmiştir (Nas ve ark., 2010). Bütün ıslah çalışmaları üstün özellikteki anaçları geliştirme üzerine olmasına rağmen günümüzde yaygın olarak kullanılan standart anaçlarda istenmeyen özellikler bulunmakta ve yeni anaçlar geliştirmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin kiraz üretiminde kullanılan Gisela 5 ve MaxMa bodur anaçlar olduğu gibi erkenciliği de sağlamakta ancak bu anaçlar *Phytophthora spp.*'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığına hassastırlar (Exadaktylou and Thomidis, 2005; Nas ve ark., 2010).

Sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde uzun yıllar boyunca kuş kirazı, mahlep, şeftali yozları, badem, kiraz, erik, kayısı çöğürleri ve 'Nemaguard' çöğürleri kullanılmıştır. Ancak uzun yıllar kullanılan bu anaçların tohumdan kaynaklanan büyüme ve diğer kalıtım farklılıkları, geç meyveye yatmaları (Arıcı, 2008) verimde düşük kalite ve verim azlığı, çevresel strese duyarlılıkları ve pazar isteklerine uygun kaliteli ürün elde edilememesinden dolayı çöğür anaçlar yavaş yavaş terk edilmekte ve klon anaçlara talep artmaktadır.

Ekonomik açıdan düşünüldüğünde toprak ve iklim şartlarına uyum sağlamış, sık dikime uygun, erken verime yatıran ve belirli alandan maksimum ürün sağlayan klonal anaç kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Klonal anaç kullanımında genetik farklılığın önüne geçilmekte, kaliteli bir örnek ürün elde edilmekte, işçilik, ilaçlama, bakım masrafları azalmakta, gençlik kısırlık dönemi kısa olduğundan ağaçlar meyveye erken yatmaktadır.

Bodur ve yarı bodur klonal anaçlar, sık dikim meyve yetiştiriciliğine imkan vermekte ve modern meyve yetiştiriciliğinin temelini oluşturmaktadır. Klonal anaçlar çöğür anaçlara göre erkencilik, yüksek verim, hasat ve kültürel işlemlerin uygulanmasında kolaylık sağlamakta ve işçilik masraflarını azaltmaktadır. Bu sebepten dolayı artık yeni kurulacak bahçeler bodur ve yarı bodur klonal anaçlar üzerine tesis edilmektedir.

Sert çekirdekli meyve ağaçları, çöğür ve klon anaçları üzerine aşılama yapılarak yetiştirilmektedir. Geçmişte sert çekirdekli meyve fidanı üretiminde en yaygın çöğür anaçları olarak; kuş kirazı (*Prunus avium*), idris (*Prunus mahaleb*), vişne, erik, şeftali, badem ve kayısı çöğürleri kullanılırdı. Günümüzde bazı çeşitler için hala çöğür anaçlar kullanılmakta. Bu anaçlar, üzerine aşıl原因 çeşitlerin meyveye geç yatması, üzerlerine aşıl原因 ağaçların büyümelerindeki farklılıklar, değişik iklim koşullarına adaptasyon zorluğu ve çeşitli hastalık-

zararlılara hassasiyetleri yüzünden artık tercih edilmemeye başlanmaktadır. Bu anaçların yerine meyveye erken yatan, değişik iklim şartlarına kolay adapte olabilen, hastalık ve zararlılara dayanıklı anaçlar elde etmek için yoğun olarak çalışmalar başlatılmıştır. Özellikle kiraz ve vişne (*P. avium* ve *P. cerasus*) türü içerisinde çok sayıda çöğür ve klon anaçları ile, tür ve türler arası melezleme yoluyla elde edilen hibrit klon anaçları bulunmaktadır. *P. avium* çöğür anaçlarına örnek olarak, Alkavo, Hüttner 170× 53, KW 101, Mazzard, OCR-1 verilebilir. Aynı türün klon anaçlarına ise, Charger, Cristimar I.A.I., F 12/1'i örnek olarak verilebilir. *P. mahaleb* çöğür anaçları arasında, Alpruna, CT500, CT2753, Mahaleb 900 ve 4, Türk Mahalebi; klon anaçı olarak ise Dunabogdany, SL-64, Bonn klonları 6, 58, 60, 62 gibi anaçlar yer almaktadır. *P. cerasus* türünde çöğür anacı olarak, Trevnenska, VG1, F442, Ilva; klon anacı olarak da Stockton Morello, Vladimirska, VV1, CAB klonları bulunmaktadır. Son yıllarda yoğunlaşan, tür ve türler arası melezlemeler sonucunda elde edilen hibrit klon anaçları arasında ise Colt, Camil (GM 79), Damil (GM 61/1), Inmil (GM 9), Gisela klonları ve MaxMa klonları bulunmaktadır (Lezzoni ve ark., 1991).

Gisela (Giessen) serisi klonları 1965 yılından beri Almanya' da yürütülen çalışmalar sonucunda elde edilen melez klon anaçları olup, değişik serileri bulunmaktadır. Giessen' de yapılan yoğun çalışmalardan sonra 13 klon tipi Amerika ve Avrupa' da test edilmek üzere piyasaya çıkartılmıştır. Gisela klon serileri arasında en fazla önem kazananları Gisela 1(172/9), Gisela 5(148/2), Gisela 6(148/1) ve Gisela 10 (173/9)'dur (Wertheim ve ark., 1998). MxM (MaxMa, *Prunus avium* x *P. mahaleb*) serisi klon anaçları Oregon orijinli olup nemli ve killi topraklara iyi adapte olmuştur. MaxMa 2, 14, 39, 60 ve 97 gibi serileri bulunmaktadır. Bu serilerden MaxMa 14 ve MaxMa 97 klonları en bodur olanlardır. Demir eksikliğinden kaynaklanan kloroza dayanıklıdır (Callesen, 1998). Myrobolan 29C, Myrobolan GF 31, Pixy, GF- 677, Gf -557, GF-657, GN, Marianna 2623, Marianna 2624, Hansen 2168, Hansen 536 ve Nemaguard toprak istekleri ve iklim şartlarına bağlı olarak sert çekirdekli meyve fidanı üretiminde kullanılan anaçlar arasında yer almaktadır.

Dünyada meyve anaç ıslahı çalışmalarından elde edilen klonal olarak çoğaltılabilen ve bodurluk sağlayan anaçlar sayesinde meyve yetiştiriciliği gelişmiştir. Ülkemizde de klon anaç kullanımı yaygınlaşmaktadır. Ancak genetik kaynaklarımızın zenginliğine rağmen diğer meyve türlerinde olduğu gibi henüz sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde kullanılabilecek ülkemiz topraklarına ve ekolojik şartlarına uyumlu yerli anaçlar geliştirilmemiştir.

Farklı ülkelerde yapılan çalışmalar sonucunda *Prunus* cinsine ait ekonomik öneme sahip meyve türlerinin ıslahında ve bunlar için kullanılan anaçların geliştirilmesinde önemli gelişmeler sağlanmış ve bu yöndeki çalışmalar halen devam etmektedir. Ülkemizde anaç ıslahı çalışması kapsamında *Prunus microcarpa*'nın ıslah çalışmalarında ve özellikle bodurlaştırıcı anaç olarak sert çekirdekli meyve türlerinin yetiştiriciliğinde ticari potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir (Nas ve Bölek, 2012).

Prunus microcarpa; ülkemizde Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde özellikle Mardin, Şırnak, Bitlis, Erzincan ve Siirt illerinde doğal yayılış gösteren, çalı formunda, genellikle 1.5 metreden daha kısa boylanan, *subsp. microcarpa* ve *subsp. tortuosa* olmak üzere iki alt tür şeklinde doğal yayılış gösteren bir *Prunus* türüdür (Şekil 1.1). Doğal yayılış alanı itibarıyla iklim ve toprak şartları dikkate alındığında bu türün olumsuz ekolojik şartlara dayanıklı olabileceği ve ıslah programları için önemli bir gen kaynağı olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 1.1 Ülkemizde doğal yayılış gösteren *Prunus microcarpa* bitkileri genellikle 1,5 metreden daha kısa boylu olmaktadır. Resimde, aktif büyüme (soldaki çalı) ve durgun (sağdaki çalı) dönemdeki yaklaşık 140 cm boyunda bitkiler görülmektedir (Resimler, Nas tarafından hediye edilmiştir).

Prunus microcarpa'nın küçük ta oluşturma (bodur olması) zelliği nedeniyle *Prunus* cinsine ait kiraz, erik, kayısı, şeftali ve badem türleri için bodurlaştırıcı bir anaç olma potansiyeline sahip olabileceği bildirilmiştir (Nas ve Bölek., 2012). Çünkü *Prunus microcarpa*'nın bazı genotipleri adı geçen türlerle iyi aşı uyurması göstermektedir (şekil 1.2).



şekil 1.2. *Prunus microcarpa* zerine aşılı kiraz (A), erik (B), badem (C), kayısı (D) ve şeftali (E) ağaçları.

Bu alışmada MaxMa 14, Gisela 5, SL-64, Pixy ve Garnem gibi günümüzde önem kazanmış sert çekirdekli meyve anaçları ile ülkemiz orijinli ve halen üzerinde çalışılmakta olan, sert çekirdekli meyve türleri için anaç olma bakımından ümitvar bulunan *Prunus microcarpa*'nın üç genotipinin (G1, G2 ve G3) hem *in vitro* hem *ex vitro* (sera) şartlarda tuzluluk stresine karşı göstermiş oldukları dayanıklılık/tolerans araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Akça ve ark. (2012) tuz stresinin üç ceviz çeşidinde (Bilecik, Kaman1, Kaman 5) bitki gelişimi, klorofil miktarı, Prolin içeriği, besin birikimi ve K/Na oranı üzerine etkisini araştırmışlardır. Bir yaşındaki fidanlar farklı konsantrasyonlarda tuzlu su (EC 1,5, 3, 5 dS/m) ile sulanmıştır. Çalışma sonucunda tuz uygulanmış bitkilerde Na^+ , Cl^- , Prolin, K/Na ve Ca/Na oranları artış göstermiştir. Ancak bitki gelişimi ve klorofil a ve b miktarları tuz stresi ile birlikte azalma göstermiştir. Bitkilerdeki Prolin, klorofil a ve b miktarları ve Na içerikleri tuz konsantrasyonuna bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermiştir. Ancak yapraklardaki doku su içeriği bakımından önemli bir fark görülmemiştir. Tuz stresi altında taze sürgün ağırlığı, toplam kuru madde miktarı ve kök uzunluğu bakımından çeşitler arasında önemli farklılıklar olmasına rağmen klorofil a, klorofil b, toplam klorofil miktarı, Prolin içeriği ve yaprak dokularındaki gerçek su içeriği (RWC) bakımından farklılık önemli bulunmamıştır. Tuz stresi altında çeşitlerin Prolin içeriği istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Azevedo Neto ve ark. (2006) tuza tolerant (BR5033) ve tuza hassas (BR5011) iki mısır çeşidinde tuz stresi altında yaprak ve köklerde antioksidatif enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Bitkiler 25 gün boyunca 0 mM (kontrol) ve 100 mM NaCl içeren ortamda yetiştirilmiş ve belli zaman aralıklarında yaprak ve kök örnekleri alınarak antioksidatif enzim aktiviteleri ve MDA miktarı incelenmiştir. Tuz stresi ile birlikte her iki çeşitte yaprak dokularında SOD, APOX, GPX ve GR enzim aktivitelerinde kontrol gurubuna göre artış meydana gelmiş, tuza tolerant çeşitte CAT aktivitesinde önemli bir değişiklik gözlenmemiş ancak tuza hassas çeşitte CAT enzimi aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Çeşitlerin bitki köklerine bakıldığında tuza tolerant çeşitte kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında SOD ve CAT enzim aktivitesi miktarında azalma, APOX, GPX ve GR aktivitesinde ise değişiklik gözlenmemiştir. Tuza hassas genotipte (BR5011) ise bütün enzim aktivitelerinde azalma meydana gelmiştir. MDA miktarları incelendiğinde sadece tuza hassas çeşidin yapraklarında MDA azalma göstermiştir.

Bahmani ve ark. (2012) *in vitro* koşullarda farklı tuz konsantrasyonlarının (0, 20, 40, 80, 100, 120 mM) MM 106 elma anacı üzerine etkisini araştırmışlardır. MM 106 elma anacının tuz stresinden önemli derecede etkilendiği kaydedilmiştir. Kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında 40, 80, 100 ve 120 mM NaCl konsantrasyonunda sürgün uzunluğu, sürgün sayısı, taze ağırlık, kök sayısı ve kök uzunluğunda önemli azalmaların olduğu bildirilmiştir.

Ancak 20 mM NaCl konsantrasyonunda sürgün uzunluğu, taze ağırlık ve kök uzunluğu kontrol gurubuna göre daha yüksek olmuştur

Bolat ve ark. (2006) Marianna GF 8-1 (*Prunus cerasifera* × *munsoniana*), Myrobolan B (*P. cerasifera*) ve Pixy (*P. insititia*) erik anaçların tuz (kalsiyum sülfat) stresine olan etkisini incelemek amacıyla bitkileri besin elementleri içeren kum ortamında (saksılarda) yetiştirmişlerdir. Kum içeren saksılara besin solüsyonu (kontrol) ,40 mM NaCl, Tuz+Ca1 (40 mM NaCl +2.5 mM Kalsiyum) ve Tuz+Ca2 (40 mM NaCl + 5 mM Kalsiyum) uygulanmıştır. Kuru madde miktarı, klorofil içeriği ve elektrik iletkenliği ölçülerek anaçların tuza karşı toleransları karşılaştırılmıştır. Analizler sonucunda Pixy anacının diğer iki anaca göre daha toleranslı olduğu bildirilmiştir.

Chatzissavvidis ve ark. (2008) *in vitro* koşullarda MS besi ortamında farklı konsantrasyonlarda (0, 30, 60 mM) NaCl ve CaCl₂ uygulamasının CAP-6P (*Prunus cerasus*L.) vişne anacında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar, sürgün gelişimi ve besin birikimi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. NaCl uygulaması yapılan bitkilerde Na⁺ ve Cl⁻ miktarında artış gözlenmiştir. CaCl₂ uygulanmış bitkilerde Na⁺ ve Cl⁻ miktarı artmış fakat K⁺ miktarında azalma olmuştur. Yapraklardaki Peroksidaz ve anyonik izoformları 30 ve 60 mM CaCl₂ ile 60 mM NaCl ortamında artış göstermiştir. Yapraklarda yapılan analizlerde Katalaz aktivitesinde Peroksidazın aksine tuz stresi ile birlikte azalma olmuştur. Tuz uygulaması yapılan sürgünlerin gövde kısmında Peroksidaz aktivitesi tuz stresi ile birlikte azalmıştır. Yaprak ve gövdede yapılan incelemelerde enzimatik olmayan (Ferric reducing antioxidant power) antioksidant miktarında artış gözlenmiştir.

Chaabouni ve ark. (2010) farklı tuz konsantarsyonlarının Antep fıstığı (*Pistacia vera*. L.) ve Antep fıstığına anaç olarak kullanılan Atlantik sakızı (*Pistacia atlantica*) üzerindeki etkisine bakmışlardır. DKW besi ortamında tohumdan çimlendirdikleri mikrosürgünlere düşük konsantrasyonlarda (0-80 mM) 45 gün, yüksek konsantrasyonlarda (Antep fıstığı için 0, 131 ve 158.5 mM; Atlantik sakızı için 0, 131 ve 240 mM) 25 gün NaCl uygulamışlardır. Uygulama sonunda bitki gelişimi, hayatta kalan bitki sayısı, bitkilerin mineral içeriği, hayatta kalan bitkilerde Prolin ve çözünebilir protein miktarındaki değişimler incelenmiştir. Her iki çeşitte de düşük konsantrasyonlardaki tuz uygulamalarında her hangi bir bitki kaybı görülmemiş iken 158.5 mM NaCl'ya maruz bırakılan *P. vera* da bitki ölümü %26, *P. atlantica* 'da 240mM NaCl ortamında bitki ölümü %23 olmuştur. Tuz etkisi bakımından 60 ve

80mM konsantrasyonlar *P.vera* da sürgün uzamasında ve yaprak sayısında ciddi düşüşlere sebep olmuştur. Her iki çeşitte de 40 ve 80 mM'lık tuz uygulamaları, oluşan kök sayısında azalmalara sebep olmuştur. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte 25 ve 45 günün sonunda kontrole göre bitki taze ağırlığı düşük olmuştur. Bitki organlarına sodyum ve klorun alımı *P.atlantica*'da *P. vera*' ya oranla daha sınırlı olmuştur. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte her iki türde K^+ alımı azalmıştır. Ca^{+2}/Na^+ oranı *P.atlantica*'da 60 mM NaCl ve *P.vera* da 80 mM NaCl uygulamasıyla azalış göstermiştir. Her iki türdede tuzkonsantrasyonunun artmasıyla Prolin miktarında artış gözlenmiştir.

Daşgan ve ark. (2002) domates bitkisinde tuza toleransın belirlenmesine yönelik bir çalışmada, 55 farklı domates genotipini 200 mM NaCl içeren su kültürü ortamında yetiştirmişlerdir. Hasat edilen bitkiler görsel zararlanmalarına göre yapılan 1-5 skalasına tabi tutulmuş, yeşil aksamda Na birikimi, K/Na ve Ca/Na oranları ile yeşil aksam-kök kuru ağırlıkları incelenmiştir. Genotiplerin, Na birikimi bakımından farklılıklar ortaya koyduğu ve Na konsantrasyonu, K/Na ve Ca/Na ile skala arasında önemli bir ilişki olduğu bulunmuştur. Genotiplerin düşük Na birikimi karşısında daha az zararlanma göstererek daha düşük skala değeri aldıklarını, buna karşılık Na birikiminin artmasına bağlı olarak zararlanma oranının da arttığı ve genotiplerin daha yüksek skala değerleri aldıkları belirtilmiştir. Çalışmada K/Na ve Ca /Na oranının yüksek olduğu genotiplerin daha düşük skala değerlerine sahip olduğu ve bu genotiplerde ortaya çıkan zararlanmanın daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, Na birikimi ile görsel zararlanma arasında ilişki olduğunu, tuzluluk sonucu bitki yeşil aksamında ortaya çıkan zararlanmaya göre oluşturulan skalanın kullanılabilir parametre olduğunu bildirmişlerdir.

Dejampour ve ark. (2012) tuz stresinde 4 *Prunus* hibrit anacının (HS314, HS312, HS302 ve GF677) tuz stresine verdikleri tepkiyi karşılaştırmak için yaptıkları bir çalışmada 1.5, 3, 6 ve 9 ds/m lik tuz solüsyonu kullanmışlardır. Bütün anaçlara 6 ve 9 ds/m lik tuz konsantrasyonları zarar vermiş, 1.5 ve 3 ds/m lik tuz konsantrasyonları fazla etkili olmamıştır. Tuz stresinin bütün konsantrasyonları bakımından HS302 anacında en yüksek Prolin miktarı 9 ds/m lik konsantrasonda kaydedilmiştir. Tuz stresinin artışıyla klorofil içeriği ve klorofil indexi en fazla HS302 ve HS314 genotiplerinde azalmıştır. Tuz stresi ile birlikte yapraklardaki K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- miktarları genotipler arasında farklılık göstermiştir. HS312 ve HS302 genotiplerinin yapraklarında en az miktarda Na^+ ve Cl^- gözlenirken, GF677

ve HS314 genotipinde en yüksek Na^+ ve Cl^- miktarı kaydedilmiştir. HS314 osmotik strese dayanıklı ve tuzlu şartlarda bitki gelişimini koruyabilecek en iyi genotip olarak seçilmiştir.

Demiral (2005), tuz stresinin iki zeytin çeşidinde oluşturacağı tepkiyi incelemek amacıyla Leccino ve Barnea çeşitlerini 3 farklı konsantrasyonlardaki ($2560, 5120, 7680 \text{ mgL}^{-1}$) tuz solüsyonu ile sulamıştır. Çalışma sonucunda bitki örneklerinde toplam kuru madde miktarı, sürgün uzunluğu ve Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} miktarları incelenmiştir. NaCl uygulaması bitki gelişimini etkilemiştir. Ancak Leccino çeşidinde tuzluluğun bitki gelişimi üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Tuzluluk bitki dokularındaki K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} miktarlarını azaltmıştır. Bitki dokularının Na^+ / K^+ oranı tuzluluk ile artış göstermiştir.

Demiral ve Türkan (2005) Pokkali ve IR28 pirinç çeşitlerinin köklerinin tuza olan toleranslarını belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada bitkileri bir hafta süreyle 0, 60 ve 120 mM NaCl konsantrasyonuna tabi tutmuşlardır. Uygulama sonucunda reaktif oksijen türlerinin hücrel toksisiteye neden olduğu ve bu toksisiteye karşı antioksidatif savunma sistemleri arasında farklılık olduğunu bildirmişlerdir. Her iki pirinç çeşidinin köklerinde tuz stresinin artışıyla birlikte Glutasyon Redüktaz (GR) miktarında azalma, Pokkali pirinç çeşidinde hem Askorbat Peroksidaz (APOX) hemde Katalaz (CAT) miktarında artış olmasına karşın IR-28 pirinç çeşidinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Pokkali pirinç çeşidinde tuz stresinin artışıyla birlikte Peroksidaz (POX) aktivitesinde azalma buna karşın IR-28 pirinç çeşidinde artış olmuştur. Tuz stresi altında Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesi bakımından her iki pirinç çeşidinde önemli bir değişme gözlenmemiştir. Tuz stresi altında IR-28 çeşidinde MDA miktarı artmış, Pokkali çeşidinde ise önemli bir artış olmamıştır. Prolin miktarı IR-28 çeşidinde Pokkali çeşidine oranla daha yüksek olmuştur. Her iki çeşitte de tuz stresi ile birlikte kök taze ve kuru ağırlığında azalma görülmüştür.

Eraslan ve ark. (2009) Türkiye’ de yaygın yetiştirilen 3 kiraz anacının; Colt (*Prunus avium x Prunus pseudocerasus*), Gisela 5 (*Prunus cerasus x Prunus canescens*) ve MaxMa (*Prunus mahaleb x Prunus avium*), tuz ve Bor stresi altındaki durumunu *in vitro* koşullarda araştırmışlardır. Tuz denemesinde MS ortamına 0, 25 ve 50 mM NaCl ve Bor denemesinde 0, 1.5 ve 3 mM B (H_3BO_3 olarak) ilave edilmiştir. Deneme sonunda tuz stresi ve B toksisitesi anaçların sürgün gelişimini ve toplam klorofil içeriğini kontrole göre azaltırken lipid peroksidasyonu, membran geçirgenliği, toplam antioksidan aktivitesi ve Prolin içeriğini artırmıştır. Anaçların stres koşullarında POX enzim aktivitesi artmış. MaxMa anacının POX aktivitesi diğer anaçlarınkine göre daha düşük olmuştur. Katalaz aktivitesi bakımından anaçlar

arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. NaCl stresi ve B toksisitesine MaxMa anacının hassas olduğu, Colt anacının orta derecede hassas ve Gisela 5 anacının dayanıklı olduğu belirlenmiştir. NaCl ve B uygulamalarına bağlı olarak anaçların besin maddesi (P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Mn, Cu) içeriklerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir.

Ertürk ve ark. (2007) Gisela 5 kiraz anacına tuz stresinin etkisini incelemek amacıyla MS besisi ortamında 0, 50, 100 ve 150 mM konsantrasyonlarında NaCl uygulamışlardır. Uygulama sonucunda sürgün gelişimi ve sürgünlerdeki klorofil miktarında azalma olmasına karşın bitki su içeriğinde önemli bir değişme gözlenmemiştir. Süperoksit Dismutaz(SOD), Askorbat Peroksidaz (APOX), Peroksidaz (POX), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Redüktaz (GR) gibi bitki bünyesi tarafından üretilen antioksidantların miktarında ise artış gözlenmiştir. Bitki besin elementlerinden Cl miktarında bir değişme gözlenmez iken Na miktarında artış, K, Ca, Mg miktarlarında ise azalma gözlenmiştir.

Ghaleb ve ark. (2010) *In vitro* koşullarda iki turunç anacının [mayhoş portakal(*Citrus aurantium* L.) ve Volkamer limon (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq)] tuz stresine verdikleri tepkileri incelemiştir. Bitkiler beş farklı konsantrasyonda NaCl ve CaCl₂ besin ortamı üzerinde kültüre alınmıştır. Deneme sonucunda ortam içerisinde NaCl miktarının artışı bitki dokularında Na ve Cl miktarını arttırırken Ca miktarını azaltmıştır. Ortamdaki CaCl₂ miktarındaki artış bitki dokularında Ca miktarını arttırmış, Na ve P miktarını azaltmıştır. İki ayın sonunda ortam içerisinde NaCl, CaCl₂ ve kombinasyonlarının artışıyla birlikte bitki gelişiminde (yaprak sayısı, sürgün uzunluğu, taze ağırlık ve bitki kuru ağırlığı) gerileme, bitki yapraklarının zararlanmasında artış belirlenmiştir.

Karakuş (2009) tarafından Van Gogh patates çeşidi ile saksılarda farklı tuz konsantrasyonlarıyla (0, 25, 50 100 mM) yapılan deneme sonuçlarına göre; artan tuz konsantrasyonu bitki boyu, yaprak sayısı, yaprak alanı, sap çapı, bitki başına yumru verimi, saksıdaki yumru sayısı, toplam kuru madde oranı, klorofil içeriği ile yapraktaki iyon (K, Mg, Ca) içeriğini azaltmakta buna karşın hücre membran geçirgenliği, Prolin miktarı, malondialdehid (MDA) miktarı ve yapraktaki sodyum konsantrasyonunu arttırmaktadır.

Kare ve ark. (2005) iki badem anacında [*Prunus dulcis* (*Prunus amygdalus* *commans* *persicoides*) ve *Prunus persica* (*A. persica*)] 5, 10 ve 20 günlük tuz uygulamalarının sonunda anaçlardaki Prolin ve çözünabilir protein miktarını incelemişlerdir. Tuz uygulamasından 5 ve 10 gün sonra çözünabilir protein miktarının arttığı ancak 20 günlük tuz uygulamasından sonra

Prolin miktarının düştüğünü ve bitki ölümlerinin gözlemlendiğini bildirmişlerdir. *Prunus amygdalus commans persicoides*'in yapraklarında çözünabilir protein miktarı tuz stresinin artmasıyla birlikte 5 ve 10 günlük uygulamanın sonunda azalma ve en fazla azalmanın 300 mMol/litre tuz uygulamasında 20 günün sonunda gözlemlendiği belirtilmiştir. *Prunus amygdalus commans persicoides*' de 5, 10 ve 20 günlük tuz uygulamaları sonucunda tuz stresi ile Prolin miktarında azalma gözlemlenmiştir. *Prunus persica* anacında tuz stresi ile birlikte çözünabilir protein miktarı önce artış göstermiş daha sonra azalmıştır. Prolin miktarı tuz stresi ile birlikte artış göstermiş ve *Prunus amygdalus commans persicoides* ile karşılaştırıldığında Prolin miktarının daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Köşkeroglu (2006) mısır (*Zea mays* L.) bitkisinde düşük (5ds/m NaCl) ve yüksek (10ds/m NaCl) tuz konsantrasyonu içeren ortamlarda bitkilere 1MPa basınç oluşturacak şekilde PEG 6000 uygulayarak su stresi oluşturmaya çalışmıştır. Araştırma sonuçlarına göre; artan tuzluluk ve su stresi ile birlikte yapraklarda membran geçirgenliği artmış, klorofil miktarı azalmış, antioksidatif enzim aktivitelerinde ise özellikle tuzlulukla beraber belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Yaprak ve köklerin makro element içeriği azalma göstermiştir. Stres koşullarının artmasıyla birlikte bitki boyu, gövde çapı, gövde ve kök yaş ve kuru ağırlığı azalmıştır.

Liu ve ark. (2008) farklı konsantrasyonlarda (100 mM ve 200 mM) NaCl içeren MS ortamı üzerinde iki elma [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. *domestica* (Borkh.) Mansf.] çeşidinin sürgün uçlarını 10 gün süreyle kültüre almış ve elmada poliamin biyosentezi ve gen ekspresyonunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda tuz stresinin sürgün yaş ağırlığı ve sürgün boyunu ciddi şekilde azalttığı, Na içeriğini artırdığı, özellikle 100 mM NaCl uygulamasının sürgün K içeriğini beklenmedik şekilde artırdığı, ayrıca tuz stresinin poliamin sentezlerini içeren bazı genlerin mRNA seviyelerinde ve serbest poliamin içeriklerinde dikkat çekici bir değişime sebep olduğu belirtilmiştir.

Massai ve ark. (1998) şeftali yetiştiriciliğinde sık kullanılan dört farklı şeftali anacının (MrS 2/5, GF 655/2, GF 677 ve şeftali çöğürü) tuza toleransını incelemişlerdir. Bitkiler 14 gün boyunca 80 ve 120 mM NaCl içeren su ile sulanmışlardır. Deneme sonunda bitkilerin yaprak su potansiyeli, gaz değişimi, Cl⁻, Na⁺, K⁺ ve çözünabilir karbonhidrat miktarları ölçülmüştür. Bütün anaçlarda tuz stresi yaprak su potansiyelinde düşümlere neden olmuştur. GF 677 ve şeftali çöğüründe tuz stresi ile birlikte önemli derecede azalan CO₂ asimilasyonu MrS 2/5 ve GF 655/2 anacında çok az miktarda azalmıştır. Yapraklardaki Na⁺ birikimi 120

mM NaCl uygulamasında GF 677 ve GF 655/2 anaçlarında MrS 2/5 ve GF 655/2 anaçlarından daha az olmuştur. Her dört anaçta da Cl^- miktarındaki artış bir birine yakın olmuştur. Yapraklardaki sorbitol miktarı ve sorbitol/sukroz miktarı MrS2/5 anacında tuz stresi ile birlikte artış göstermiş, GF 677 ve şeftali çöğüründe bir değişiklik olmamıştır.

Ranjbar ve ark. (2001) NaCl ve $CaCl_2$ 'ün iki Antep fıstığı anacının (*Pistacia khinjuk*, *P. mutica*) ekofiziksel karakteristikleri üzerine etkisine bakmışlardır. Çalışma kapsamında anaçlar üç farklı konsantrasyonda (6, 12, 19 dS/m NaCl) tuz ilave edilmiş solüsyon ile sulanmıştır. Tuz stresi sonucunda kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında anaçlarda yaprak su potansiyeli, yaprak osmotik potansiyeli, net fotosentez oranı, transpirasyon oranı ve klorofil içeriğinde azalmalar olmuştur. Tuz stresi sonucunda kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında *P. mutica* 'da bütün parametrelerdeki değişim *P. khinjuk* 'tan daha az olmuştur ve *P. mutica* nın tuzlu ortamlarda *P. khinjuk* tan daha toleranslı olduğu bildirilmiştir.

Sorkheh ve ark. (2011) tuz stresi ile birlikte sekiz badem anacının (*Prunus communis*, *Prunus eleagnifolia*, *Prunus orientalis*, *Prunus lycioides*, *Prunus reuteri*, *Prunus arabica*, *Prunus glauca*, *Prunus scopariaere*) yapraklarındaki antioksidatif enzimler ve çeşitli metabolitlerdeki değişimi incelemişlerdir. Bütün türler 0, 40, 80 ve 120 mM NaCl uygulamasına maruz bırakılmışlardır. Tuz stresi sonucunda bitkilerin yapraklarında α , γ - tokoferol, toplam çözünebilir protein miktarı, MDA, toplam fenolik, H_2O_2 , SOD, POX ve CAT miktarlarına bakılmıştır. Tuz stresi ile bütün anaçlarda SOD, POX enzim miktarı, toplam fenolik miktarı ve α , γ - tokoferol miktarlarında artış gözlenmiştir. CAT, MDA ve çözünebilir protein miktarında azalma gözlenmiştir. Çalışma sonunda *Prunus reuteri* ve *P. glauca* türlerinin tuza dayanıklı, *P. lycioides* ve *P. scoparia* tuza daha az dayanıklı ve *P. communis*, *P. eleagnifolia*, *P. arabica* ve *P. orientalis* türlerinin ise tuza daha hassas olduğu bildirilmiştir.

Sotiropoulos ve ark. (2006a) farklı konsantrasyonlardaki (0, 5, 10, 15, 20, 40, 80 mM) KCl uygulamasının *Prunus* anaçlarından GF677 (*Prunus persica* x *Prunus amygdalus*) ve Nemared (*Prunus persica*) üzerindeki etkisini *in vitro* koşullarda incelemiştir. Her iki anaçta 40mM'a kadar KCl uygulamasının sürgün sayısını önemli derecede etkilemediği, 80 mM KCl uygulamasının ise her iki anacın gelişimini azalttığı belirtilmiştir. Nemared anacında Na, Fe, Mn ve Zn içeriği GF-677 ye oranla yüksek olmuştur.

Sotiropoulos ve ark. (2006b) *in vitro*da bor ve tuz stresinin OHF-333 armut anacı üzerindeki etkisine bakmak amacıyla MS ortamına 0.1 ve 2 mM Bor ile birlikte 0,10, 20, 40 ve 80 mM NaCl uygulamışlardır. En uzun sürgünler 0.1 mM B + 80 mM NaCl içeren MS besisi ortamında elde edilmiş, yüksek sürgün sayısı ise 0.1 mM B+ 0-20 mM NaCl içeren ortam üzerinde elde edilmiştir. Her iki bor konsantrasyonunda 0mM NaCl konsantrasyonu ile kıyaslandığında bitki yaş ağırlığını en fazla 20 ve 40 mM NaCl' nın arttırdığı belirtilmiştir. Bor ve tuz stresinin bitkilerin P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn ve Zn içeriklerini etkiledikleri belirtilmiştir.

Sotiropoulos (2007) NaCl ve CaCl₂ uygulamasının *in vitro* koşullarda M-4 elma anacının sürgün gelişimi, klorofil içeriği, mineral madde, Prolin ve şeker içeriği üzerine etkisine bakmıştır. NaCl'nın üç farklı konsantrasyonu (35, 100 ve 200mM) ile CaCl₂' ün iki farklı (5, 10 mM) konsantrasyonunun kombinasyonu kullanılmıştır. 10 mM CaCl₂ ve 35mM NaCl içeren ortamdaki sürgün sayısı ve sürgün taze ağırlığı 5 mM lık ortamla kıyaslandığında daha yüksek bulunmuş. Yüz (100) ve 200 mM lık NaCl ortamında sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve sürgün taze ağırlığında düşüş olmuştur. Ortamdaki NaCl ve CaCl₂ miktarının artmasıyla birlikte kontrole göre bitkinin N, Na, Cl, Prolin ve çözünabilir şeker miktarında artış olmasına karşın K, B, Mg, Zn ve klorofil içeriğinde azalma gözlenmiştir.

Söylemezoğlu ve ark. (2009) sera koşullarında, saksılarda 41B (*V. vinifera* x *V. berlandieri*) ve 1103P (*V. berlandieri* x *V. rupestris*) asma anaçlarında yapmış oldukları 20 mM NaCl + 20 mM Na₂SO₄ uygulamaları sonucunda; B, Na, Prolin, MDA ve H₂O₂ miktarları 1103P asma anacında daha yüksek değer gösterirken, CAT düzeyi ise 41 B anacında yüksek değer göstermiştir. SOD ve APOX miktarları ise iki çeşit arasında benzer sonuçlar vermiştir.

Troncoso ve ark. (1999) 11 asma anacının *in vitro* koşullarda değişik tuz (NaCl) konsantrasyonlarında (0, 50, 85, 120, 155 mM) tepkilerini araştırmışlardır. Denemede kullanılan anaçlar tuza hassas 5 anaç (41 B, R.Lot, 110 R, 140 R ve 161-49), orta düzeyde dayanıklı 2 anaç (13.5 ve Ramsey) ve dayanıklı 4 anaç (196-17, CH-1, CH-2 ve Superior) 3 farklı guruba ayrılmıştır. Artan tuz konsantrasyonu ile birlikte bütün anaçların kök ve yapraklarında su seviyesinde azalmalar kaydedilmiş, ancak su seviyelerindeki bu azalma dayanıklı çeşitlerde daha az olmuştur. Artan tuz konsantrasyonu bitkilerin K içeriğini önemli oranda azaltırken P ve Ca içeriğinde kısmi azalmalara neden olmuştur. Tuz uygulanan ve

uygulanmayan koşullarda hassas bitkilerin K ve P içeriklerinin dayanıklı olanlarınkinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Sodyum ve Cl içeriği dayanıklı bitkilerde daha yuksek düzeyde belirlenmiştir. Anaçların tuza toleransları onların daha yuksek miktarda tuz absorbe etme kapasiteleri, dokularında K konsantrasyonunu ve su içeriğini artırma yetenekleri ile ilişkilendirilmiştir.

Yaşar ve ark. (2008) tuz stresinin karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) yapraklarındaki antioksidatif enzim aktiviteleri, Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Askorbat Peroksidaz (APOX) ve Glutatyon Redüktaz (GR) üzerine etkisine baktıkları bir çalışmada tuza duyarlı Golden Crown F1, Crimson Sweet ile tuza tolerant Diyarbakır ve Midyat yerel genotipini kullanmışlar. İklim odasında 10 günlük süreyle tuz uygulanan Fidelerde tuza tolerant genotiplerin SOD, CAT, APOX ve GR enzim aktivitelerinin duyarlı olanlara göre çok yuksek olduğu saptanmıştır. Midyat yerel genotipi SOD, CAT ve GR enzim aktiviteleri; Diyarbakır genotipi ise APOX enzim aktivitesi bakımından diğerlerine göre daha üstün bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre antioksidan enzim aktivitelerinin tuza tolerans üzerinde etkili olduğu; tuzlu koşullarda kültüre alınan karpuz genotiplerinin antioksidatif enzim sistemlerini duyarlı çeşitlere göre çok daha aktif kullandıkları belirtilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Prunus microcarpa ve bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının tuzluluğa tolerans yönünden karşılaştırılması adlı çalışmada günümüzde sert çekirdekli meyveler için yaygın olarak kullanılan MaxMa 14, Gisela 5, Pixy, SL-64, Garnem ve anaçlık potansiyelleri bakımından ümitvar bulunan ve Güneydoğu Anadolu'dan seçilmiş olan *Prunus microcarpa*'nın üç genotipi [Genotip1 (G1), Genotipi 2 (G2), Genotip3 (G3)] çalışma materyali olarak kullanılmıştır.

3.2. Metot

Araştırma doku kültüründe çoğaltılmış klon bitkiler üzerinde yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan klon anaçların damızlık bitkileri serada saksılarda büyütülmüştür (Şekil 3.1). Saksılarda büyütülen bitkiler *in vitro* çalışmalar için eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.



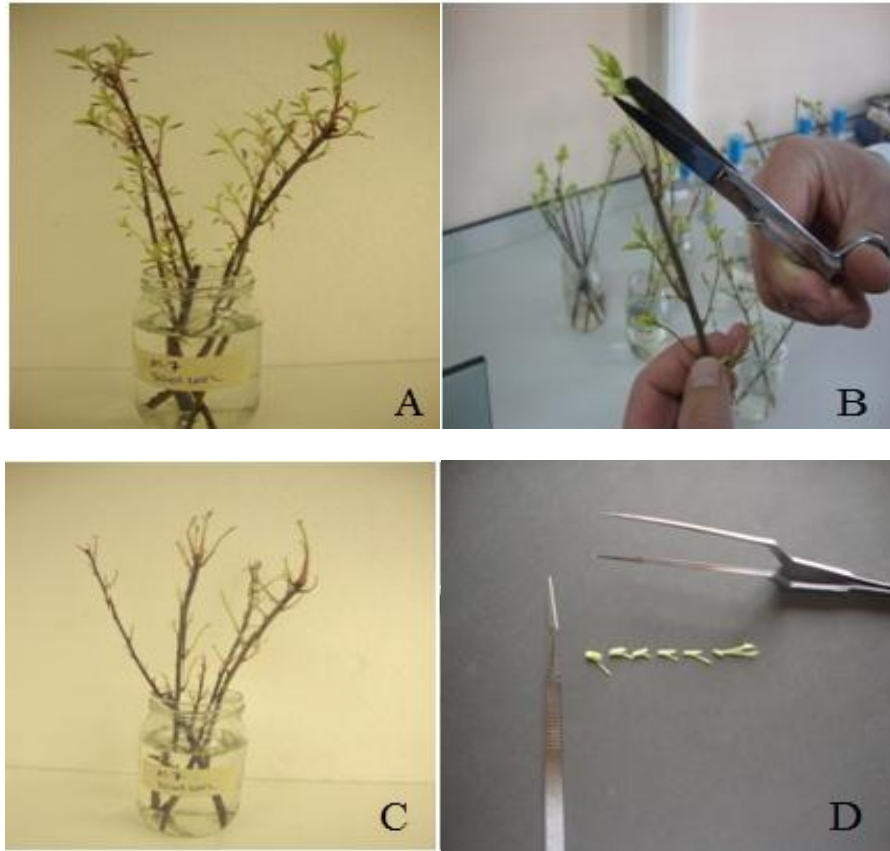
Şekil 3. 1. *In vitro* çalışmalar için eksplant kaynağı olarak kullanılan damızlık bitkiler.

Damızlık bitkilerden alınan çelikler 31.01.2012 tarihinde yüzeysel sterilizasyon amacıyla litreye 10 damla Tween-20 ilave edilerek hazırlanan %20'lik ticari çamaşır suyunda (%5 aktif klorin) 10 dakika bekletildikten sonra akan çeşme suyu altında durulanmıştır.

Yüzeysel sterilizasyon ve durulama işlemlerinden sonra çeliklerin alt ve üst kısımları 0,5 – 1,0 cm kadar kesilmiş ve daha sonra tomurcuk dormansisini kırmak amacıyla çeliklerin dip kısımları cam kavanozlardaki sürdürme solüsyonuna konulmuştur (Şekil 3.2).

Sürdürme solüsyonu (200 mL) içeren her kavanoza 25 – 35 cm uzunlukta 4-5 çelik konulmuştur. Çeliklerin sürdürülmesinde kullanılan sürdürme solüsyonu litreye 200 mg 8-Hydroxyquinoline sülfat, 20 g sukroz ve 10 mg Giberallik asit (GA_3) içermektedir. Bu sürdürme solüsyonunun kullanılmasıyla normal vejetasyon mevsiminin dışında aktif büyüyen, taze sürgünler oluşmakta ve böylece morfogenez potansiyeli daha yüksek eksplantlar elde edilebilmektedir (Nas ve ark., 2012).

Sürdürme solüsyonuna konulan çelikler laboratuarda sürmeye bırakılmıştır. Sürdürme solüsyonu üç günde bir yenilenmiş ve solüsyon yenilenirken çeliklerin solüsyona batan alt kısımları yıkandıktan sonra 0,5 cm kadar kesilip tekrar solüsyona konulmuştur. Solüsyon yenileme işlemi 4 – 5 kez tekrarlanmıştır. Uç ve yan tomurcuklardan süren yeni sürgünler eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.

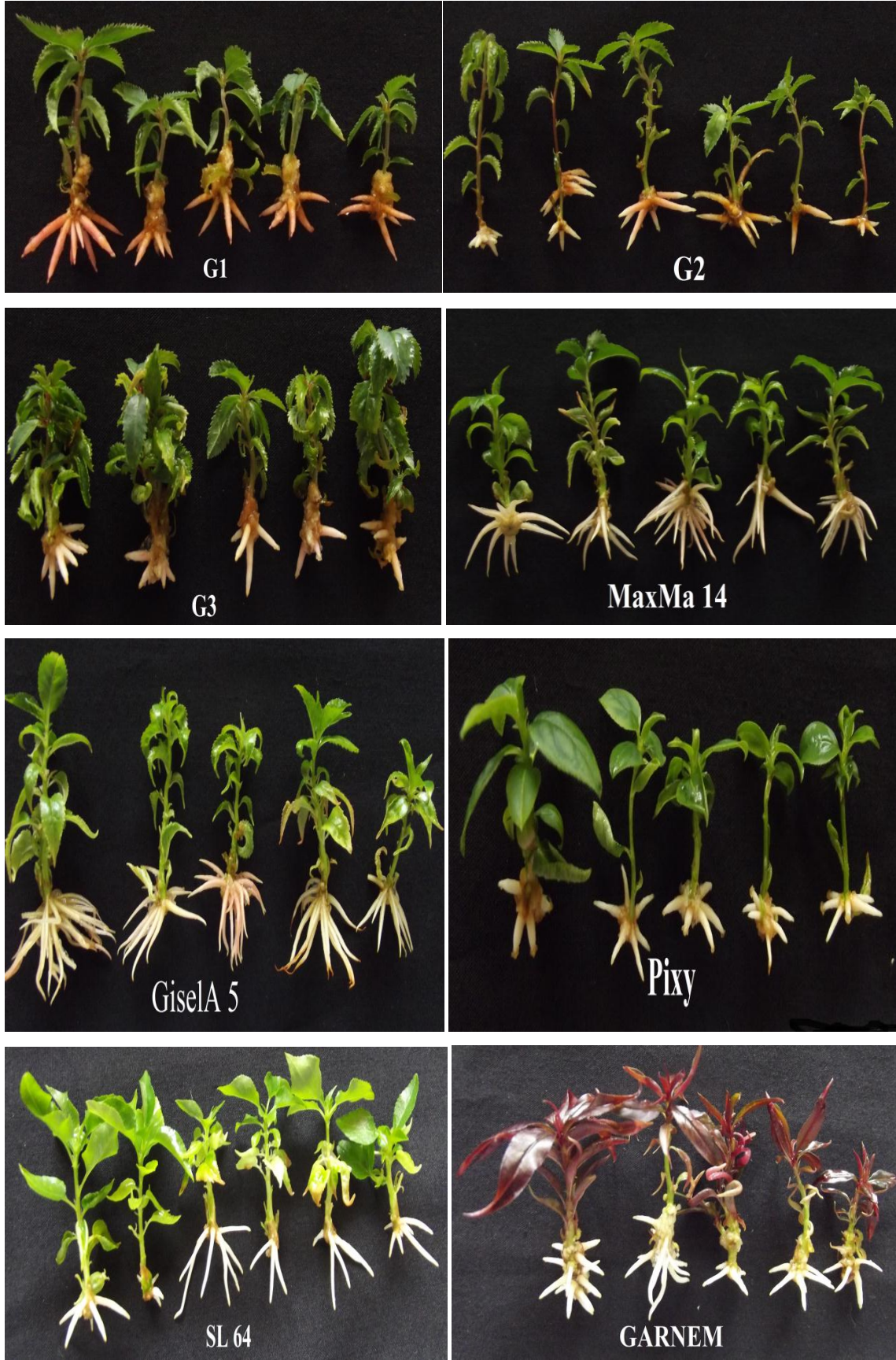


Şekil 3.2. Eksplant olarak kullanılan sürgünler. Çeliklerin tepe ve yan tomurcuklarından süren yeni sürgünler (A) iki haftanın sonunda sürdürme solüsyonunda çelikler, (B) çeliklerden süren

sürgünlerin yapraklarının kesilmesi, (C) yaprakları kesilmiş sürgünler, (D) kültüre aktarılmadan önce boğum aralarından kesilmiş yeni sürgünler.

Sürdürme sonucunda anaçlara ait elde edilen yeni sürgünlerin yaprakları kesildikten sonra sürgünler yüzeysel sterilizasyona (disinfestasyona) tabi tutulmuşlardır. Yeşil çelikler litreye 10 damla Tween-20 içeren %20' lik ticari çamaşır suyu solüsyonu içerisinde ara-sıra karıştırılarak 15 dakika bekletildikten sonra üç kez sterilsaf su ile durulanmışlardır. Yüzeysel sterilizasyon işleminden sonra yeşil çelikler boğum aralarından kesilmiştir. Tek-boğum veya sürgün-ucundan oluşan eksplantlar 25 x 150 mm'lik cam tüpler içerisinde $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Benzyladenine (BA) + $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Indole-3- butyric acid (IBA) + $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sukroz içeren ve $5.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar (Sigma, A-1296) ile jelleştirilmiş NRM (Nas ve Read, 2004) ortamı üzerinde kültüre alınmışlardır. Tüplere aktarılan eksplantlar $23 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklığa sahip iklim odasında 16/8 ışık/karanlık fotoperiyot ve soğuk floresan lamba ($80 \mu\text{molm}^{-2}\text{S}^{-1}$) altında büyümeye bırakılmışlardır. Üç hafta sonunda, mikrobiyal bulaşmadan arı ve sağlıklı görünen eksplantler alt kültüre alınmışlardır.

Dördüncü alt kültürün sonunda mikrosürgünlerin bir kısmı köklendirilip dış ortama aktarılmıştır (Şekil 3.3). Dış ortama aktarılan bitkiler daha sonra tuzluluk (NaCl) stresi muamelesine tabi tutulmak üzere serada saksılarda büyümeye bırakılmıştır. Mikro sürgünlerin diğer kısmı ise *in vitro* da tuzluluk (NaCl) muamelesine tabi tutulmak üzere alt kültüre alınmışlardır.



Şekil 3. 3. Araştırma materyali olarak kullanılan anaçların (genotiplerin) *in vitro* da köklendirilmiş mikrosürgünleri.

3.2.1. Genotiplerin Tuza Toleranslarının *in vitro* da Karşılaştırılması

Dördüncü alt kültürün sonunda doku kültürü ortamında doğrudan farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarına tabi tutulmak amacıyla dört farklı tuz konsantrasyonu (0, 50, 100, 150 mM NaCl) ve $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sukroz içeren ve $5.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar ile jelleştirilmiş NRM (Nas ve Read, 2004) ortamı üzerinde eksplantlar kültüre alınmışlardır. Kültür kabına (Magenta kabı) dört eksplant konulmuş ve $23 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklığa sahip iklim odasında 16/8 ışık/karanlık fotoperiyot ve soğuk floresan lamba ($80 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) altında gelişmeye bırakılmıştır. NaCl denemesi iki kez tekrarlanmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Her muamele için 4 tekerrür (her biri 4 eksplant içeren magenta kabı) kullanılmış ve bütün deneme iki kez tekrar edilmiştir.

Dört haftanın sonunda sürgün sayısı (çoğalma) ve sürgün uzunlukları ile canlı kalan eksplant sayısı kaydedilmiş ve enzim analizleri için her örnekten 5 gram alınıp $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3. 4. *In vitro* da tuz uygulamasına tabi tutulan kültürler.

3.2.2. Genotiplerin Tuza toleranslarının *Ex vitro* da (Saksılarda) Karşılaştırılması

Mikroçoğaltılan bitkiler Nas ve ark. (2010) göre köklendirilip dış ortama aktarılmıştır. Doku kültüründe çoğaltılıp dış ortama alıştırılan bitkiler içlerinde yalnızca torf bulunan plastik torbalarda (tüplerde) altı ay boyunca serada büyümeye bırakılmıştır. Altı ayın sonunda bitkiler torf ve kum (4/1) ile doldurulan plastik tüplere (35 x 20 cm) aktarılmıştır. Plastik tüplere aktarıldıktan bir hafta sonra bitkilerin üzerinde bir yaprak bırakarak tepeleri alt kısımdan 10 cm kalacak şekilde kesilmiştir (Şekil 3.5). Herhangi bir muameleye maruz bırakılmadan plastik tüplerdeki bitkiler bir ay süresince düzenli olarak Hougland solüsyonuyla sulanmıştır. Daha sonra yüksek tuz konsantrasyonunun bitkilerde meydana getireceği şoku önlemek için (Wright ve Hughes, 1993) kontrol bitkileri hariç bitkiler önce kademeli olarak on gün boyunca iki günde bir 200 ml 50 mM tuzlu su ile düzenli olarak sulanmıştır. On günün sonunda bitkiler iki günlük aralar ile 0, 50, 100 ve 150 mM NaCl içeren tuzlu su ile sulanmıştır. Her genotipten (anaçtan) 5'er tekerrür ve her tekerrür de 4 bitki olacak şekilde her muamele seviyesi için 20 bitki kullanılmıştır. Bitkilerin altından süzülen suyla birlikte bir kısım tuzun uzaklaşmaması için Plastik tüplerin altına plastik tabaklar yerleştirilmiştir. Plastik tabaklara süzülen su tekrar bitkiye verilmiştir. Bir ay süre ile tuz uygulamasına maruz bırakılan bitkilerden (Şekil 3.6) enzim analizleri amacıyla her örnekten en az 5 gr olacak şekilde üst kısımlardan yeni çıkmış yaprak örnekleri alınmış ve -80 °C de derin dondurucuya konmuştur.



Şekil 3. 5. Serada tepesi kesilen klon anaçlar (Genotipler).



Şekil 3. 6. Serada tuz uygulamasına tabi tutulan klon anaçlar (Genotipler).

3.3. Araştırma Kapsamında Yapılan Ölçüm ve Analizler

3.3.1. *In vitro* da büyüme ve çoğalmanın karşılaştırılması

Tuz stresine maruz bırakılan genotiplere ait eksplantlerin dört haftanın sonunda *in vitro* da çoğalma katsayısı ve mikrosürgünlerin kalitesi (uzunluk, kalınlık, renk, kallus durumu, nekroz, uç kuruması ve eksplant canlılığı) temel ölçütler olarak değerlendirilmiştir.

3.3.2. Zarar görmüş dokuların oranının belirlenmesi

Tuz uygulamasında bitkilerde strese bağılı olarak meydana gelen morfolojik zararlanmaları ortaya koymak için Korkmaz (2002) tarafından belirtilen Çizelge 3.1 deki derecelendirmeye göre sınıflandırma yapılmıştır.

Çizelg 3.1 Tuz stresi altında yaprak dokularında meydana gelen zararlanma derecesi

Zararlanma Derecesi (Puan)	Zararlanma Derecesinin Tanımı
1	Nekrotik hasar yok
2	Hafif hasar (yaprak alanının %5'den daha az bir alanı nekrotik hasara sahip)
3	Orta hasar (yaprak alanının %5 ile 25 arasında kalan bir alanı nekrotik hasara sahip)
4	Şiddetli hasar (yaprak alanının %50'den daha fazla bir alanı nekrotik hasara sahip fakat bitki canlı)
5	Çok şiddetli hasar (yaprak alanının %50'den daha fazlası nekrotik hasara sahip veya bitki ölü)

Her bir gruba sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 5 değerleri verilip zarar görmüş dokuların oranı rakamsal bir değere dönüştürülmüştür.

3.3.3. Doku elektrik iletkenliği

Stresin yaprak dokusunda ve özellikle hücre zarlarında meydana getirdiği hasarı belirlemek amacıyla elektriksel iletkenlik ölçümleri yapılmaktadır. Bu amaçla, canlılığını sürdüren bitkiler arasından tesadüfi olarak seçilen 2 bitkiden alınan bir cm çapındaki yaprak diskleri içerisinde 20 ml saf su bulunan cam tüplere konmuş ve çalkalayıcı da 24 saat çalkalanıp daha sonra ıslatma suyunun elektriksel iletkenliği Kaya ve ark. (2003)'de belirtilen metoda göre ölçülerek hücre zarlarının zarar görme oranı belirlenmiştir (EC1). EC leri ölçülen örnekler otoklavda 121 °C'de 20 dakika bekletildikten sonra tekrar ölçüm yapılmıştır (EC2). İlk ölçüm/son ölçüm arasındaki oran hesaplanarak, (EC1/EC2) x100 göreceli elektriksel iletkenlik değerleri hesaplanmıştır. (EC1/EC2) x100 oranının fazlalığı hücrede hasarın fazla, düşük olması ise hasarın az olduğu anlamına gelmektedir.

3.3.4. Doku su içeriği

Tuz uygulamasından sonra hayatta kalan bitkiler arasında tesadüfen seçilen 3 bitkiden bir cm çapında alınan yaprak diskleri hemen tartılıp taze ağırlıkları alınmıştır (FW). Daha sonra diskler içerisinde bir miktar saf su bulunan petri kaplarının içerisinde konularak 5 saat bekletilmiştir. Sonra disklerin üzerindeki fazla su kurutma kağıdı yardımıyla silinerek diskler tekrar tartılmış böylece turgor ağırlıkları tespit edilmiştir (TW). Daha sonra bu diskler petrilerin içerisinde konularak 72 °C'ye ayarlanmış olan etüvde 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra tekrar tartım yapılmış ve kuru ağırlıkları tespit edilmiştir (DW). Doku su içeriği Kaya ve ark. (2003) tarafından belirtilen aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$RWC = [(FW - DW) / (FW - TW)] \times 100$$

RWC: Doku su içeriği

FW : Taze yaprak ağırlığı

DW : Kuru yaprak ağırlığı

TW : Turgorlu yaprak ağırlığı

3.3.5. Klorofil miktarı

Hayatta kalan bitkiler arasında tesadüfen seçilen bitkilerden alınan 0.5 gr yaprak örneği 5 ml %80 aseton çözeltisi ile bir havan içerisinde homojenize edildikten sonra klorofil a ve klorofil b pigmentlerinin konsantrasyonları, homojenize edilen ekstrat solüsyonu Whatman no:2 filtre kağıdı ile filtre edildikten sonra ekstrakt solüsyonunun absorbanlarının

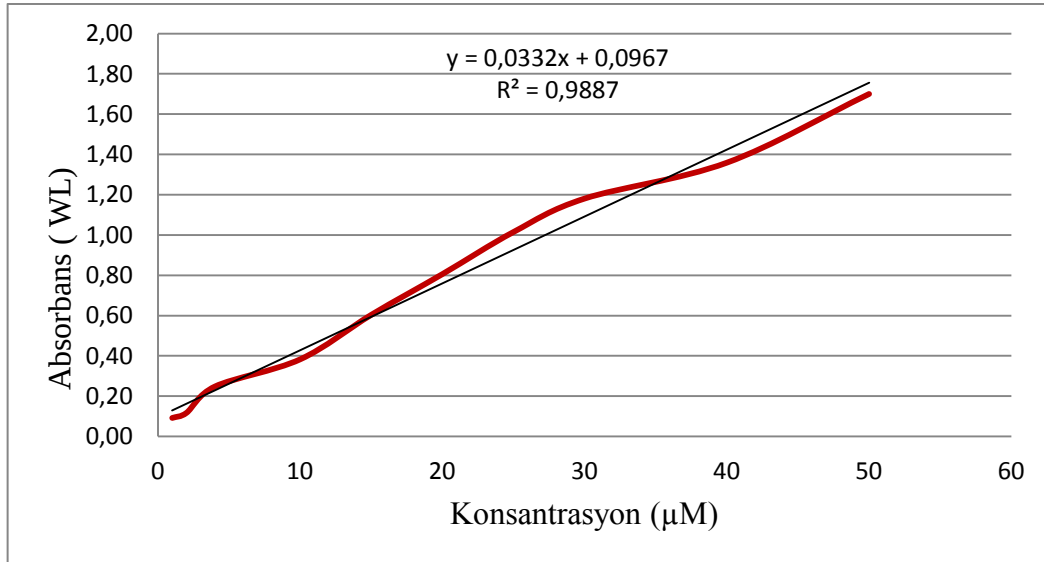
spektrofotometrede 645 nm ve 663 nm’de okunmasından sonra Güneş ve ark. (2007) tarafından belirtilen aşağıdaki formüle göre hesaplama yapılmış olup kör numune olarak aseton kullanılmıştır.

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = 11.75 \times A_{663} - 2.35 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = 18.61 \times A_{645} - 3.96 \times A_{663}$$

3.3.6. Prolin miktarı

Bates ve ark. (1973) tarafından verilen metoda göre Prolin tayini için hayatta kalan bitkiler arasından tesadüfen seçilen bitkilerden 0.25 gr yaprak örneği alınıp porselen havan içerisinde 5 ml %3'lük (w/v) 5-sülfosalisilik asit ile ekstrat edilmiştir. Ekstraktlar Whatman No:2 filtre kağıdıyla filtre edilmiştir. Filtre edilmiş ekstraktan 1 ml alınmış ve 1 ml asit ninhidrin + 1 ml glacial asetik asit ile test tüpü içerisinde karıştırılmıştır. Test tüpleri 100 °C'deki su banyosunda 1 saat bekletildikten sonra 1 dakika boyunca buz içerisinde soğutulmuştur. Oda sıcaklığına geldikten sonra karışımın üzerine 4 ml toluene eklenerek 30 saniye boyunca vortexde çalkalandıktan sonra karışımdan alınan örneğin absorbansı daha sonra spektrofotometrede 520 nm’de okunmuştur. Kör numune olarak toluen kullanılmıştır. Değişik yoğunlukta Prolin içeren çözeltilerin yardımıyla standart eğri oluşturulmuş ve örneklerin Prolin içerikleri hesaplanmıştır (Şekil 3.7.).



Şekil 3. 7. Prolin miktarına bağlı olarak değişen absorbans değerleri standart eğrisi

3.3.7. Lipid peroksidasyonu [malondialdehid (MDA)]miktarı

Tuzluluk uygulamasının sonunda yapraklarda meydana gelen Lipid Peroksidasyonun derecesinin belirlenmesi için Lipid Peroksidasyonunun son ürünü olan Malondialdehit (MDA) ölçülmüştür. Toz halindeki 0.5 gr yaprak örneği alınmış, üzerine 6 ml %10'luk trikloroasetik asit (TCA) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Bu karışım 10.000 devir/dakika ile 15 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra homojenatın üst kısmından 2 ml süpernatant alınarak, içinde %20 TCA bulunan %0.6'lık tiobarbitrik asit (TBA)'den 2 ml ilave edilmiştir. Daha sonra karışım 100 °C'de 20 dakika kaynatıldıktan sonra buz banyosuna konarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Sonrasında spektrofotometrede 450, 532 ve 600 nm'de absorbans okumaları yapılmış ve MDA içeriği Zhang ve ark (2005)'de belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{MDA} = 6.45 \times (\text{A}_{532} - \text{A}_{600}) - 0.56 \times \text{A}_{450}$$

3.3.8. Hidrojen peroksit (H₂O₂) içeriği

Özden ve ark (2009) tarafından belirtilen metoda göre hesaplanmıştır. Bunun için 0.5 g taze yaprak örneği her uygulamadan alınmış 3 ml %1'lik TCA içerisinde buz üzerinde havanda ezilerek homojenize edildikten sonra 4°C'de 10 dakika 10.000 devir/dakika santrifüj edilmiştir. Sonrasında 0.75 ml supernatant, bir test tüpü içerisinde 0.75 ml 10 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi (pH: 7.0) ve 1.5 ml 1 M KI ile karıştırılmıştır. Karışımın absorbansı spektrofotometrede 390 nm'de okunduktan sonra H₂O₂ içeriği hazırlanan H₂O₂ standart eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır.

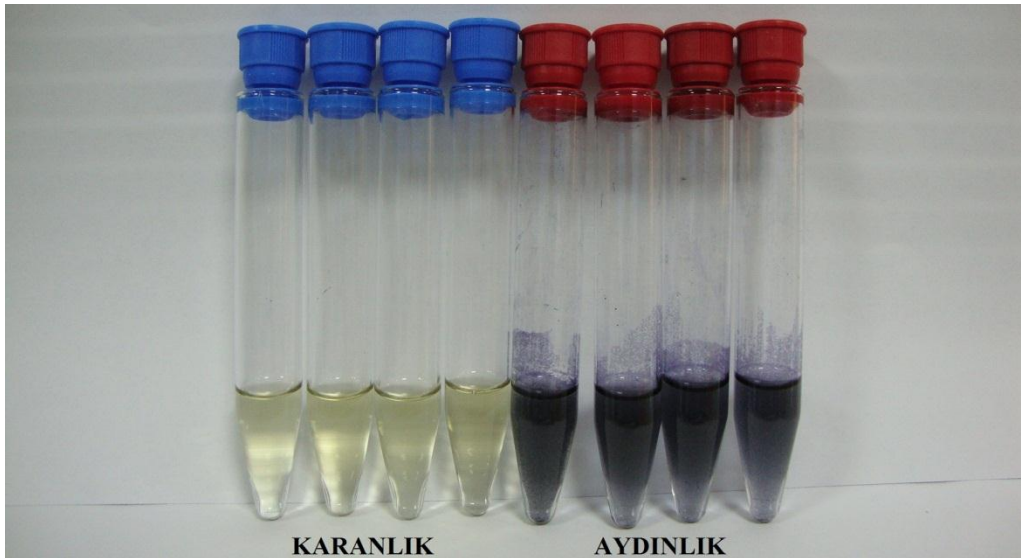
3.3.9. Antioksidatif enzim analizleri

Tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde meydana gelen enzim değişimlerini incelemek için stres uygulamalarının sonlanmasıyla hemen ardından her bir tekerrürden alınan taze yaprak örnekleri sıvı azot içerisinde ezildikten sonra derin dondurucuda (-80 °C) analize kadar muhafaza edilmiştir. Derin dondurucudan çıkarılan toz halindeki örneklerden 125 mg tartılmış ve üzerine ezme solüsyonu (50 mM trisma base, 0.1 mM EDTA, 1 mM PMSF (Phenylmethanesulfonyl flüoride), 2 mM DTT (DL-Dithiothreitol) ilave edildikten sonra santrifüjde 4°C'de 15.000 devir de 30 dk santrifüj edilmiştir. APOX ve Glutasyon Redüktaz için ezme solusyonuna 5 mM Askorbat ile %2 lik PVP (Polyvinylpyrrolidone) ilave edilmiştir. Santrifüj sonunda üstte kalan süpernatant enzim analizleri için kullanılmıştır. Ölçümler SHİMAZDU marka UV-1800 model spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir.

3.3.9.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

Bor ve ark. (2003) tarafından belirtilen metoda göre süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi yöntemine göre ölçülmüştür. Süpernatanttan (sıvı kısım) alınan 15 µl bitki örneği, test tübü içerisinde 10 mM L-methionine, 0.66 mM EDTA, 0.0033 mM Riboflavin içeren 2.695 ml 50 mM Na fosfat tampon çözeltisi (pH 7,8) ve 300 µl 33 mM NBT ile karıştırılmış ve karışım 2 adet floresan ışık ($40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) altında 10 dakika süre ile bekletilmiştir. Örneklerin absorbansları spektrofotometrede 560 nm’de okunmuştur. Kontrol örnekleri (enzim içermeyen) ve kör numunelerin (ışıklandırma yapılmamış) absorbansları okunarak NBT’nin ışıpta (Şekil 3.8) indirgenmesini %50 oranında engelleyecek enzim aktivitesi, SOD enzim aktivitesi olarak hesaplanmıştır.

$$\text{SOD} = [(\text{abs}_{\text{aydınlık}} - \text{abs}_{\text{karanlık}}) / \text{abs}_{\text{aydınlık}}] \times 100$$



Şekil 3.8. *In vitro* da tuz uygulaması yapılan örneklerde SOD aktivitesinin NBT'ye indirgenmesinin ışıpta engellenmesi.

3.3.9.2. Katalaz (CAT) aktivitesi

Bor ve ark, (2003) tarafından belirtilen metoda göre Hidrojen Peroksit (H_2O_2) miktarının 240 nm absorbansta gösterdiği düşüş baz alınarak hesaplanmıştır. Bu amaçla 70 µl supernatant, 920 µL 50 mM fosfat tampon çözeltisi (pH:7,0) ve 15 µl %3 lük H_2O_2 karıştırılmış (toplam hacim 1 ml) ve üç dakika süreyle her 10 saniyede bir ölçüm alınarak karışımdaki absorbans değişikliği 240 nm' ($E=39.4\text{mM}^{-1}$) de spektrofotometrede izlenmiştir. CAT aktivitesi dakikada harcanan µmol H_2O_2 olarak ifade edildi.

3.3.9.3. Peroksidaz (POX) aktivitesi

Bor ve ark, (2003) tarafından belirtilen metoda göre hesaplanmıştır. DAP (diaminobenzidine tetrahidrokloridrate)'ın Hidrojen Peroksitin (H_2O_2)varlığında oksidasyonu izlenerek ölçülmüştür. Bu amaçla reaksiyon solüsyonu son hacim 1mL olacak şekilde 65 μ l supernatant, 15 μ l %30 H_2O_2 , 1mM 3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate, 55 mM citric acid 920 μ l 50 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi (pH:7.0) bir test tüpü içerisinde karıştırılmıştır. Reaksiyon en son H_2O_2 ilave edilerek başlatılmış ve 465 nm de absorbans değişimi 3 dakika boyunca takip edilmiştir. Enzim aktivitesi dakikada tüketilen μ mol ml^{-1} H_2O_2 olarak ifade edilmektedir.

3.3.9.4. Askorbat peroksidaz (APOX) aktivitesi

Çakmak ve Marschner (1992)' de belirtilen metoda göre yapılmıştır. Askorbat okside olurken spektrofotometrede 290 nm absorbansta oluşan azalmalar okunmuştur. Buna göre son hacim 1mL olacak şekilde ayarlanan reaksiyon ortamında 0.6 ml 50 mM'lık fosfor tamponu (pH:7.0), 0.1 ml 1 mM EDTA 0.1ml 1 mM H_2O_2 , 0.1 ml 5 mM Askorbat bulunmaktadır. Askorbatın oksidasyonu enzim ekstrasyonunun ilavesiyle başlatılarak 180 sn boyunca absorbansta oluşan azalma izlenmiştir. Hesaplamalar Askorbatın ekstinsiyon katsayısı ($E=2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak yapılmıştır.

3.3.9.5. Glutathion redüktaz (GR) aktivitesi

Foyer ve Halliwell (1976) metoduna göre yapılmıştır. Spektrofotometrede 340 nM absorbansta NADPH'ın oksidasyonu baz alınarak ölçülmüştür. Son reaksiyon hacmi 1ml olacak şekilde reaksiyon solüsyonuna 500 μ l 0.1 mM EDTA içeren 50 mM Fosfat tamponu (pH:7.00), 50 μ l 20 mM GSSG, 50 μ l 2mM NADPH ve son olarak 400 μ l saf su ilave edilerek 25 $^{\circ}$ C de 180 sn boyunca spektrofotometrede okuması yapılmıştır. Glutasyon redüktaz enzim aktivitesi ekstinsiyon katsayısı ($E= 6.2\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak yapılmıştır.

3.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırma tesadüf blokları (*in vitro*) ve tesadüf parselleri (*ex vitro*) deneme desenine göre *in vitro*da 4'er *ex vitro*da 5'er tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Deneme sonucunda elde edilen veriler SPSS İstatistiksel analiz paket programı (Standart versiyon 16.0) kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuşlardır. Uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemlilik derecesini ortaya koymak için Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Faktörlerin araştırılan parametreler üzerindeki etkilerinin istatistiksel bakımdan önemi çizelgelerde sırasıyla: Ö.D.: $p < 0.05$ seviyesinde önemsiz; **: $p < 0.05$ seviyesinde önemli ve ***: $p < 0.005$ seviyesinde önemli olarak belirtilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *In vitro*da Tuz Denemesine Ait Bulgular

4.1.1. Tuzluluk stresinin sürgün sayısı üzerine etkisi

In vitro koşullarda farklı tuz konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Prunus microcarpa* (G1, G2, G3) ve standart meyve anaçlarında (Garnem, SL-64, Pixy, Gisela 5, MaxMa 14) eksplant başına oluşan sürgün sayısı bakımından Genotip ve Tuz konsantrasyonunun etkisi önemli bulunurken ($p \leq 0.005$), Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *In vitro*da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun sürgün sayısı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	262,91	37,6	12,08***
Tuz konsantrasyonu	3	312,83	104,3	33,5***
Genotip xTuz konsantrasyonu	21	55,94	2,7	0,857 ^{ÖD}

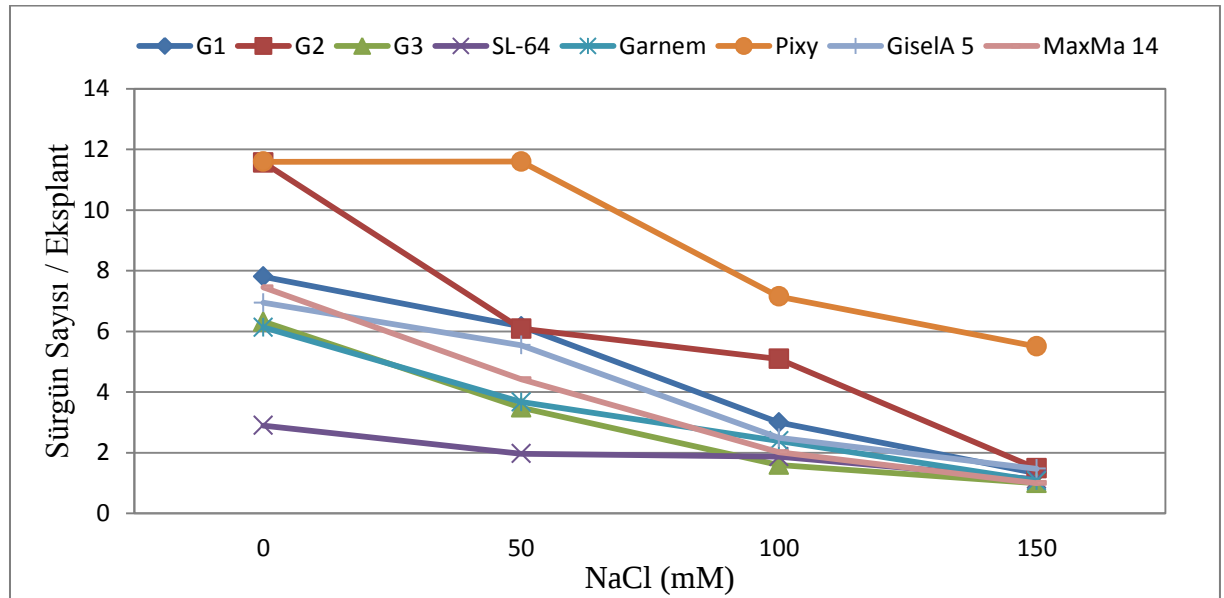
Ö.D. Ortalamalar arasındaki fark önemli değil;***: ortalamalar arasındaki fark, $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Yüz elli (150) mM tuz uygulamasında eksplant başına en az sürgün sayısı ortalama bir (1) sürgün ile *P. microcarpa* nın G3 genotipi ve MaxMa 14 anacında gözlenmiştir. 150 mM tuz uygulamasında eksplant başına en fazla sürgün sayısı sırasıyla 5.5, 1.5, 1.5, 1.4 adet ile Pixy, G2, Gisela 5 ve G1 de olmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *In vitro*da farklı tuz konsantrasyonlarındaki genotiplerin explantlarından elde edilen ortalama sürgün sayısı ve 150 mM NaCl’ da kontrol gurubuna göre sürgün sayısında % azalma.

Genotip	Sürgün Sayısı/ Eksplant				% azalma
	0 mM NaCl	50 mM NaCl	100 mM NaCl	150 mM NaCl	
G1	7,8	6,1	3,0	1,3	83,3
G2	11,5	6,0	5,1	1,4	87,8
G3	6,3	3,4	1,6	1,0	84,2
SL-64	2,9	1,9	1,8	1,1	62,2
Garnem	6,1	3,6	2,3	1,0	83,4
Pixy	11,6	11,6	7,1	5,5	52,5
GiselA 5	6,9	5,5	2,4	1,4	79,8
MaxMa 14	7,45	4,4	2,0	1,0	86,6

Bütün denemelerde tuz (NaCl) konsantrasyonu arttıkça eksplantlardaki ortalama sürgün sayısında azalma gözlenmiştir (Şekil 4.1). Aynı durum Bahmani ve ark. (2012) MM-106 elma anacı üzerinde tuz uygulamasında da belirtilmiştir. Vişne anacının (CAB-6P) sürgün sayısında 60 mM CaCl_2 uygulamasında kontrole göre %60 azalma olduğu bildirilmiştir (Chatzissavvidi ve ark., 2008).



Şekil 4.1. *In vitro*da farklı tuz konsantrasyonlarında genotiplerde eksplant başına meydana gelen sürgün sayısı.

Tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte 150 mM NaCl konsantrasyonunda kontrol gurubuna oranla explant başına oluşan sürgün sayısında en fazla azalma %87,8 ile G2 genotipinde gözlenmiştir. En az düşüş %52,5 ile Pixy anacında gözlenmiştir. SL-64 genotipine bakıldığında kontrol gurubunda da sürgün sayısının yüksek olmadığı gözlenmiştir. Tuz stresinin sürgün sayısı üzerine bu olumsuz etkisi diğer çalışmalarda da belirtilmiştir. *In vitro* koşullarda Colt kiraz anacı üzerinde tuz uygulamasında 50, 100 ve 150 mM'lık konsantrasyonlarda sürgün sayısında ciddi azalmalar kaydedilmiştir (Arıcı ve Eraslan, 2012). Armut anacında (Sotiropoulos ve ark., 2006), CAB-6P kiraz anacında (Chatzissavvidis ve ark., 2008), MM 106 elma anacında (Bahmani ve ark., 2012) tuz stresi ile birlikte sürgün sayısında ciddi oranda azalmalar olduğu rapor edilmiştir.

4.1.2. Tuzluluk stresinin sürgün uzunluğu üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlarda tuz içeren ortam üzerine kültüre alınan eksplantlardan meydana gelen sürgünlerin uzunluklarına bakıldığında, sürgün uzunluğu üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun sürgün uzunluğu üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	1,468	0,21	3,1**
Tuz konsantrasyonu	3	5,126	1,709	25,4***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	2,176	0,104	1,5**

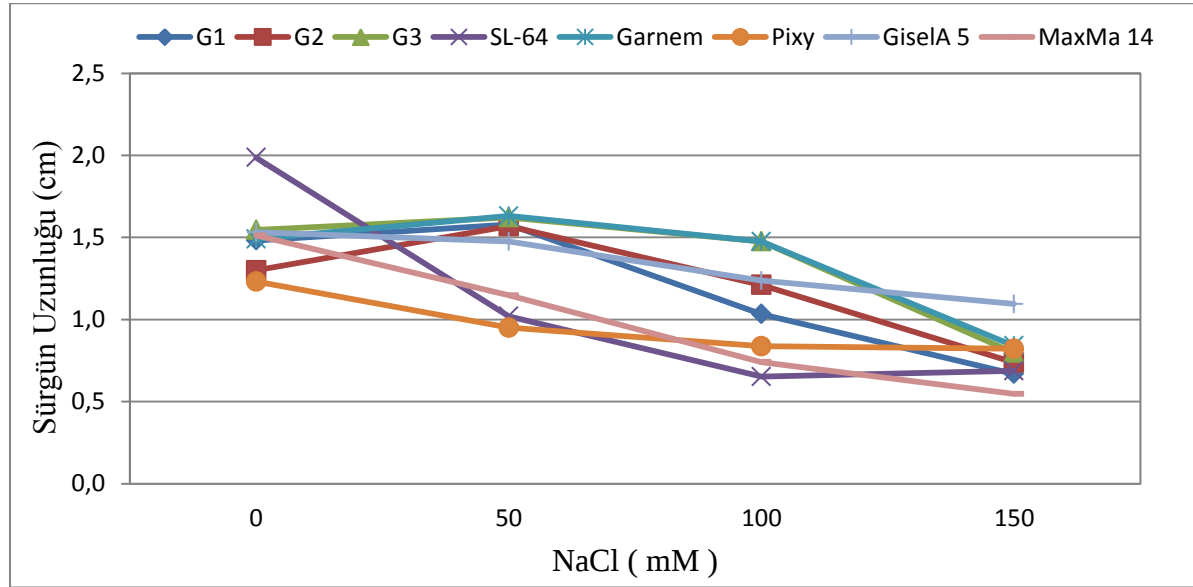
, *: ortalamalar arasındaki fark, sırasıyla, $p \leq 0.05$ ve $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Sürgün uzunluğu bakımından MaxMa 14 anacında kontrol gurubunda ortalama sürgün uzunluğu 1.5 cm iken 150 mM NaCl konsantrasyonunda bu değer 0.5 cm olmuştur. MaxMa 14 ten sonra 150 mM NaCl'da en kısa sürgünler sırasıyla 0.6, 0.7 cm ile G1 ve G2 genotiplerinden elde edilmiştir. En uzun sürgünler ortalama 2.0 cm ile kontrol gurubundaki SL-64 eksplantlerinden elde edilmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.2).

Çizelge 4.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında genotiplerin eksplantlarından elde edilen sürgünlerin ortalama uzunlukları (cm) ve 150mM NaCl’ da kontrol gurubuna göre ortalama sürgün uzunluklarında % azalma.

Genotip	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm)				
	0 mM NaCl	50 mM NaCl	100 mM NaCl	150 mM NaCl	% azalma
G1	1,4	1,5	1,0	0,6	57,1
G2	1,3	1,5	1,2	0,7	46,1
G3	1,5	1,6	1,4	0,8	46,6
SL-64	1,9	1,0	0,6	0,6	68,4
Garnem	1,4	1,6	1,4	0,8	42,8
Pixy	1,2	0,9	0,8	0,8	33,3
GiselA 5	1,5	1,4	1,2	1,1	26,6
MaxMa 14	1,5	1,1	0,7	0,5	66,6

Sürgün uzunluğu bakımından kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında en fazla azalma 150 mM NaCl da %68,4 ile SL-64 genotipinde olmuştur. Bunu %66,6 ile MaxMa14 anacı takip etmiştir. GiselA 5 %26,6 ile en az düşüş gösteren genotip olmuştur.



Şekil 4.2. *In vitro*da farklı tuz konsantrasyonlarında meydana gelen sürgünlerin uzunlukları.

*In vitro*da ortalama sürgün uzunluğu artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak ciddi oranda düşük kalmıştır (Şekil 4.2). Yüksek orandaki tuz konsantrasyonunun sürgün uzunluğunu olumsuz etkilemesinin ortamın aşırı osmotik basıncından kaynaklandığı düşünülmektedir (Arıcı ve Eraslan, 2012). Bahmani ve arkadaşları (2012) MM-106 elma anacında 40 mM NaCl(tuz) konsantrasyonunun uygulamasının sürgün uzunluğunda azalmaya

sebebiyet verdiğini açıklamışlardır. Bu durum Chatzissavvidis ve ark. (2008) tarafından CAB-6P vişne anacı için de bildirilmiştir..

Artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak bitkilerdeki kloroz durumu daha belirgin bir şekilde görölmüştür. Özellikle 50 mM'dan daha yüksek NaCl konsantrasyonlarının şiddetli kloroza ve zararlanmalara neden olduğu görölmüştür. Araştırmanın sonunda 100 ve 150 mM NaCl konsantrasyonunda bütün genotiplerin yapraklarında kahverengileşme görölmüş yaprak uçlarında ciddi nekrozlar görölmüştür (Şekil 4.3). Yüz elli (150) mM NaCl içeren ortam üzerindeki sürgünlerde gelişme neredeyse durma noktasına gelmiş hatta birçok sürgün ölmüştür.



Şekil 4. 3. Farklı NaCl konsantrasyonu içeren ortam üzerinde kültürlerin gelişimi.



Şekil 4.3. devamı

4.2. Tuzluluk Stresinin Klorofil Üzerine Etkisi

4.2.1. Tuzluluk stresinin klorofil a üzerine etkisi

Tuz uygulamasından sonra örneklerde yapılan analiz sonucunda Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuzkonsantrasyonu interaksyonun klorofil a üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5)

Çizelge 4.5. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz Konsantrasyonu interaksyonunun klorofil a üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	183,8	26,3	29,0***
Tuz konsantrasyonu	3	632,0	210,7	233,1***
Genotip xTuz Konsantrasyonu	21	284,7	13,6	15,0***

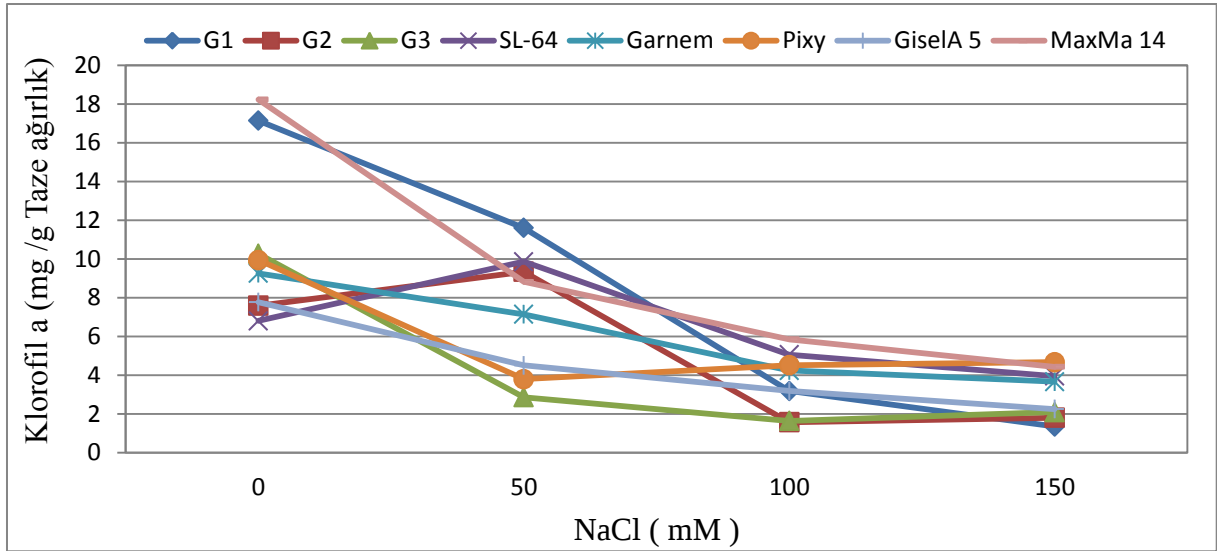
***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Yüzelli (150) mM NaCl (tuz) stresi altında en düşük klorofil a miktarı (1,3 mg/g) G1genotipinde gözlenmiştir. G2 genotipinde 50mM NaCl konsantrasyonundaki klorofil a miktarı kontrole göre yüksek bulunmuştur. Diğer bütün genotiplerde tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte klorofil a miktarında azalmalar olmuştur. En yüksek klorofil a miktarı sırasıyla 18.2 ve 17.1 (mg/g) ile MaxMa 14 ve G1 genotiplerinin kontrol gurubunda gözlenmiştir. Tuz konsantrasyonunun artışıyla klorofil a miktarında en fazla düşüş sırasıyla %92.1, %79.7, %76.3 ile G1, G3 ve G2 genotiplerinde gözlenmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.4). Klorofil a miktarındaki bu düşüş *Prunus microcarpa* genotiplerinin yapraklarını dökerek stres koşullarında hayatta kalmaya çalışmasından kaynaklanıyor olabilir.

Çizelge 4.6. *In vitro* koşullarda tuz konsantrasyonuna bağlı olarak genotiplerin klorofil a miktarları (mg/g taze ağırlık) ve 150mM NaCl’ da kontrol gurubuna göre klorofil a miktarında % azalma.

Genotip	Klorofil a miktarı (mg/gr taze ağırlık)				
	0 mM NaCl	50 mM NaCl	100 mM NaCl	150 mM NaCl	% azalma
G1	17,1	11,6	3,1	1,3	92,1
G2	7,5	9,3	1,5	1,8	76,3
G3	10,2	2,8	1,6	2,0	79,7
SL-64	6,8	9,8	5,0	3,9	41,9
Garnem	9,2	7,1	4,2	3,6	60,5
Pixy	9,9	3,7	4,5	4,6	53,0
GiselA 5	7,7	4,5	3,1	2,2	71,1
MaxMa 14	18,2	8,8	5,8	4,4	75,7

Tuz stresi altında en düşük klorofil a miktarı 1,3 (mg/g) ile G1 genotipinde gözlenmiştir. G2 genotipinde 50mM NaCl konsantrasyonundaki klorofil a miktarı kontrole göre yüksek bulunmuştur. Diğer bütün genotiplerde tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte klorofil a miktarında azalmalar olmuştur (Şekil 4.4). En yüksek klorofil a miktarı sırasıyla 18.23 ve 17.14 (mg/g) ile MaxMa 14 ve G1 genotiplerinin kontrol gurubunda gözlenmiştir. Tuz konsantrasyonunun artışıyla klorofil a miktarında en fazla düşüş sırasıyla %92.1, %79.7, %76.3 ile G1, G3 ve G2 genotiplerinde gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Klorofil a miktarındaki bu düşüş *Prunus microcarpa* genotiplerinin yapraklarını dökerek stres koşullarında hayatta kalmaya çalışmasından kaynaklanıyor olabilir. Çünkü doğal yayılış alanlarında *Prunus microcarpa* genellikle yapraklarını yazın erken dönemlerde dökmektedir.



Şekil 4.4. *In vitro* da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinde toplam klorofil a miktarı.

4.2.2. Tuzluluk stresinin klorofil b üzerine etkisi

Tuz uygulamasından sonra yapılan klorofil b analizi sonucunda Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun klorofil b miktarı üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. *In vitro* da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun klorofil b üzerine etkisinin varyans analizi.

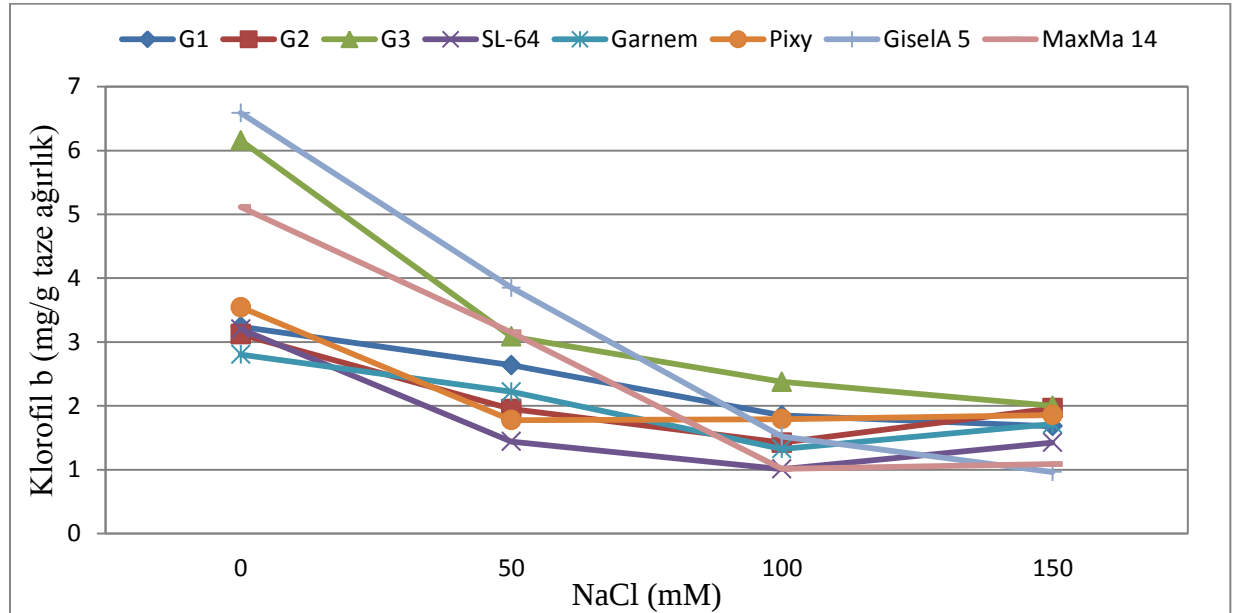
Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	14,4	2,1	4,8***
Tuzkonsantrasyonu	3	100,8	33,6	79,6***
GenotipxTuzkonsantrasyonu	21	48,8	2,3	5,5***

***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuz konsantrasyonunun artması ile birlikte Klorofil a da olduğu gibi klorofil b miktarı da azalmıştır. En düşük klorofil b miktarı 0.96 mg/g taze ağırlık ile 150 mM NaCl konsantrasyonunda SL-64 ve Gisela 5 genotiplerinde gözlenmiştir. En yüksek klorofil b miktarı kontrol grubunda sırasıyla 6.58, 6.15, 5.11 ile Gisela 5, G3 ve MaxMa 14 genotiplerinde gözlenmiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4. 5).

Çizelge 4.8. *In vitro* koşullarda tuz konsantrasyonuna bağlı olarak genotiplerin klorofil b miktarları (mg/g taze ağırlık) ve 150mM NaCl’ da kontrol gurubuna göre klorofil b miktarında % azalma.

Genotip	Klorofil b miktarı (mg/gr taze ağırlık)				
	0 mM NaCl	50 mM NaCl	100 mM NaCl	150 mM NaCl	% azalma
G1	3,24	2,63	1,85	1,68	48,2
G2	3,12	1,94	1,42	1,96	37,1
G3	6,15	3,08	2,37	2,00	67,5
SL-64	3,20	1,44	1,00	1,42	55,5
Garnem	2,80	2,22	1,32	1,71	38,8
Pixy	3,54	1,77	1,79	1,85	47,7
GiselA 5	6,58	3,85	1,52	0,96	85,4
MaxMa 14	5,11	3,15	1,01	1,08	78,7



Şekil 4. 5. *In vitro*da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinde toplam klorofil b miktarı.

4.3.Tuzluluk Stresinin Lipid Peroksidasyonu [Malondialdehid (MDA)] Üzerine Etkisi

Tuz uygulamasıyla birlikte oluşan osmotik stres ve toksik etki nedeniyle ortaya çıkan serbest oksijen türevleri hücre zarına zarar vermekte ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan Malondialdehit (MDA) miktarında değişmelere neden olmaktadır. Hücrelerde meydana gelen bu zararlanmaların belirlenmesi için tuz stresine tabi tutulan genotiplerde MDA miktarında meydana gelen değişimler incelenmiştir.

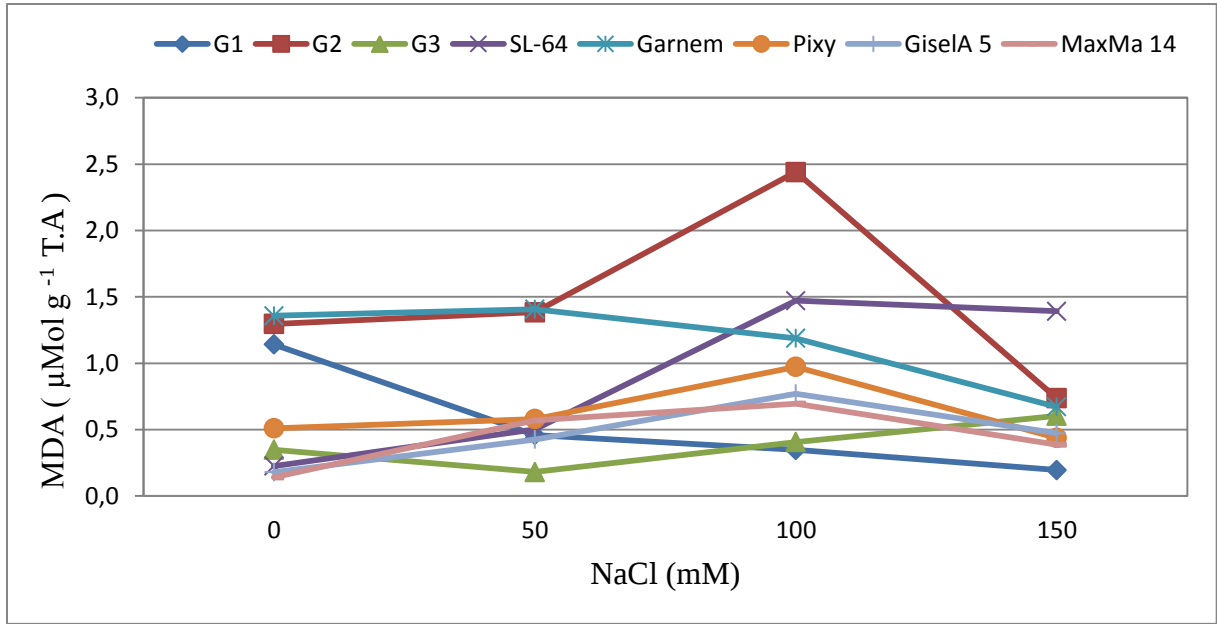
Çizelge 4.9' a bakıldığında MDA miktarı üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.9. *In vitro*da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun MDA miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	8,822	1,26	12,2***
Tuz konsantrasyonu	3	1,339	0,446	4,3**
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	7,135	0,34	3,3***

, *: ortalamalar arasındaki fark, sırasıyla, $p \leq 0.05$ ve $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuz stresine maruz bırakılmış genotiplerde MDA içeriklerine bakıldığında stresin MDA değişimi üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Artan stres ile birlikte genel olarak MDA miktarında ilk önce artış belirlenmiştir. Bazı çeşitlerde özellikle 100mM NaCl uygulamasından sonra bitki aşırı zarar gördüğünden MDA miktarında azalma olmuştur. En yüksek MDA miktarı (2.44 $\mu\text{mol/g}$ T.A) 100mM NaCl konsantrasyonunda G2 genotipinde gözlenmiştir. Özellikle bazı Genotiplerde (G2, Gisela5, Pixy, MaxMa 14) 100mM NaCl'dan sonra MDA miktarlarında düşüşler başlamıştır. G1 genotipinde ise MDA miktarları tuz stresinin artmasıyla birlikte sürekli bir düşüş göstermiştir (Şekil 4.6). Çalışmada yer alan genotiplerin tümü dikkate alındığında genel olarak en düşük MDA miktarları kontrol gurubunda, en yüksek MDA miktarı ise 100 mM NaCl içeren ortam üzerindeki bitkilerde gözlenmiştir. Tuz stresinin MDA üzerindeki olumsuz etkisi Eraslan ve arkadaşları (2009) tarafından Gisela 5, MaxMa 14 ve Colt kiraz anaçları üzerine tuz uyguladıkları bir çalışmada gözlenmiş ve 50 mM tuz uygulamasının MDA miktarını arttırdığı belirtilmiştir.



Şekil 4. 6. *In vitro*da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinde toplam MDA miktarı.

4.4.Tuzluluk Stresinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki NaCl uygulamasının çalışmada kullanılan genotiplerin Prolin içerikleri üzerine etkisine bakıldığında Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur(Çizelge 4.10). Artan NaCl konsantrasyonunabağlı olarak genotiplerdeki Prolin miktarı kontrole göre artış göstermiştir.

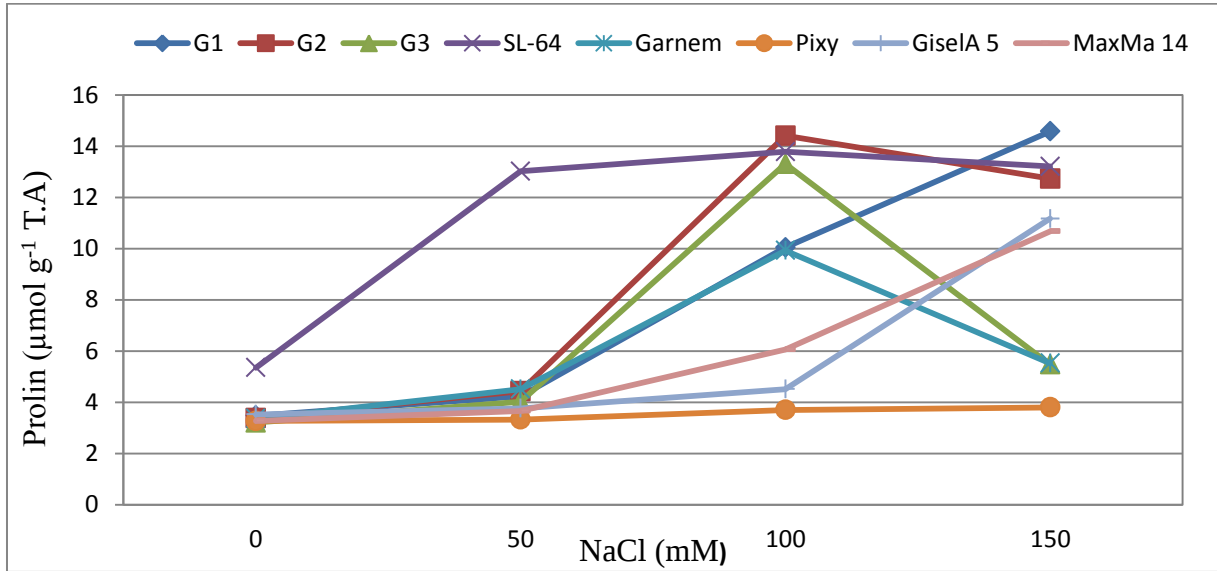
Çizelge 4.10. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun Prolin miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	45	315,4	161,1***
Tuz konsantrasyonu	3	149,9	449,9	536,3***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	15,6	328,4	55,9***

***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Bir amino gurubu asit olan Prolinin stres koşulları altında yüksek yapılı bitkilerde osmotik dengeyi sağlamak amacıyla yüksek miktarda sentezlendiği bilinmektedir (Öztürk ve Demir, 2002; Hsu ve ark., 2003; Kavi ve ark., 2005). Özellikle stres koşullarında strese (tuza) dayanıklı bitkilerde Prolin oluşumu çok hızlı iken, bu durum strese duyarlı bitkilerde yavaş olmaktadır (Fougere ve ark., 1991; Petrusa ve Winicov, 1997).

Artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak en yüksek Prolin miktarı ($14.6 \mu\text{mol g}^{-1} \text{T.A}$) G1 genotipinde 150mM lık NaCl uygulamasında ölçölmüştür. G1 genotipinin yanında tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte Gisela 5 ve MaxMa 14 genotiplerinde de Prolin miktarında düzenli bir artış olmuştur. Genotiplere bağlı olarak tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte belli bir seviyeden sonra bazı genotiplerde Prolin miktarında düşüş gözlenmiştir. G2, G3 ve Garnem genotiplerinde 100mM NaCl uygulamasına kadar Prolin miktarında doğrusal bir artış olmuş, ancak 100mM dan sonra Prolin miktarında düşüş olmuştur. G2, G3 ve Garnem genotiplerinde 100mM NaCl konsantrasyonunda Prolin miktarı sırasıyla 14.41 , 13.31 ve 9.93 ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{T.A}$) olmuştur. SL-64 genotipinde kontrol gurubunda 5.35 ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{T.A}$) olan Prolin miktarı 50mM da 13.02 ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{T.A}$) olarak ölçölmüştür (şekil 4.7).



şekil 4.7. *In vitro*da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin költürlerinin toplam Prolin miktarı.

Prolin amino asidi stres koşullarında bitkilerde en fazla üretilen bir amino asit olduğu için son yıllarda stres fizyolojisinde üzerinde çalışılan en önemli bileşiklerden biri olmuştur. Glutamat ve ornitinden sentez edilmesine rağmen baskın olarak glutamattan sentezlenmektedir (Yıldız ve ark, 2010). Stres koşullarında osmotik basıncın düşmesiyle birlikte somatik hücrelerin azalan bu osmotik basıncı dengelemeleri güçleşmekte ve hücre su alımını gerçekleştirememektedir. Dolayısıyla besin elementlerinin alınımı engellenmektedir. Ancak stres koşullarına ve tuza dayanıklı bitkiler hücrelerindeki proteinleri parçalaması sonucu ortaya çıkan amino asitler sayesinde osmotik basıncı dengelemektedirler. Bu amino asitlerin başında da Prolin gelmektedir. Prolin miktarındaki artış hücredeki osmotik basıncı arttırarak bitkinin tuzdan aşırı zarar görmesini engellemektedir (Khalvati, 2001). Bitkilerde yaygın olarak bulunan Prolin özellikle diğer amino asitlere oranla daha fazla birikmekte ve kullanılabilir azot birikimini düzenlemektedir (Abraham ve ark., 2003). Ayrıca Prolin membran kararlılığını sağlayarak NaCl'ün hücre membranına olan olumsuz etkisini azaltmaktadır (Mansour, 1998;Yıldız ve ark., 2010).

4.5. Tuzluluk Stresinin Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Üzerine Etkisi

Tuz konsantrasyonunun bitki yapraklarındaki Hidrojen Peroksit miktarı üzerine etkisinin önem düzeyi Çizelge 4.11 de verilmiştir. Yapılan istatistiki analiz soncunda Hidrojen Peroksit miktarı üzerine Genotip, tuz konsantrasyonu ve Genotipx tuz konsantrasyonunu interaksyonunun H₂O₂ içeriği üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11).

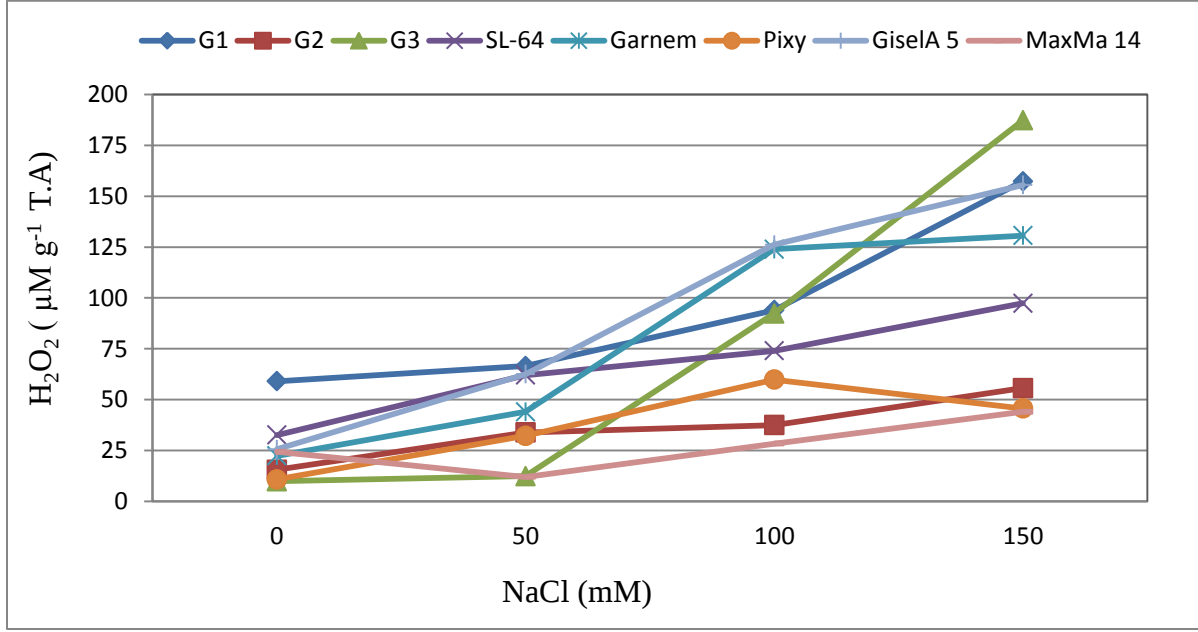
Çizelge 4.11. In vitroda genotip, tuz konsantrasyonu ve genotip x tuz konsantrasyonu interaksyonunun H₂O₂ miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	7800	5460	7,95***
Tuz konsantrasyonu	3	43117	12935	43,95***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	2055	4315	2,09**

***, **: ortalamalar arasındaki fark sırasıyla p≤0.01 ve p≤0.005seviyesinde önemli.

NaCl konsantrasyonunun bitki yapraklarındaki Hidrojen Peroksit miktarı üzerine etkisine bakıldığında bütün bitkilerde NaCl konsantrasyonunun artışıyla birlikte H₂O₂ miktarında artış olmuştur. H₂O₂ miktarı en fazla 150 mM NaCl konsantrasyonunda 187.33 µMol g⁻¹ taze ağırlık ile G3genotipinde gözlenmiştir. Pixy çeşidinde H₂O₂ miktarı 100 mM

NaCl konsantrasyonuna kadar artış ($59,8 \mu\text{Mol g}^{-1}$) gösterir iken 150 mM NaCl konsantrasyonunda ($45,6 \mu\text{Mol g}^{-1}$) 100 mM NaCl konsantrasyonuna göre azalma gözlenmiştir (Şekil 4.8). Genel olarak tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte H_2O_2 miktarında artış olmuş fakat H_2O_2 miktarındaki artış G2, MaxMa 14 ve Pixy genotiplerinde düşük seviyede kalmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *In vitro*da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam H_2O_2 miktarı.

Hidrojen Peroksit (H_2O_2) süperoksitin (O^-) çevresindeki moleküllerden 1 elektron alması veya moleküler oksijenin (O_2) çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması sonucu oluşur. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında Lipid Peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir (Büyük ve ark., 2012). Ayrıca Calvin çemberinin bir çok enziminide inaktivite eder (Charles ve Halliwell, 1980). Hücre zarındaki Lipid Peroksidasyonu ve Calvin çemberindeki enzimlerin inaktif hale gelmesi sonucunda bitkide çeşitli doku zararlanmaları meydana gelir. Bu çalışmada tuz konsantrasyonuna bağlı olarak H_2O_2 miktarında gözlenen artış diğer araştırmalar tarafından da rapor edilmiştir. Fadzilla ve ark. (1997) tuz uygulaması sonucu pirinç sürgünlerinde Hidrojen Peroksit miktarının arttığını bildirmişlerdir. Harinasut ve ark. (2003) 50, 100 ve 150 mM lık tuz uygulamasının dut bitkisinde Hidrojen Peroksit miktarını arttırdığını bildirmişlerdir.

4.5. Antioksidant Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişmeler

Tuzluluk stresi altındaki bitkilerin stresten etkilenme derecelerini inceleme yöntemlerinden birisi de stres koşullarında ortaya çıkan antioksidant enzim aktivitelerinin miktarının ölçülmesidir. Bu nedenle tuz uygulamasının Süperoksit Dismutaz, Peroksidaz, Katalaz, Askorbat Peroksidaz ve Glutasyon Redüktaz antioksidant enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerini belirleyen analiz sonuçlarıyla ilgili bulgular aşağıda verilmiştir.

4.5.1. Tuzluluk stresinin süperoksit dismutaz (SOD) üzerine etkisi

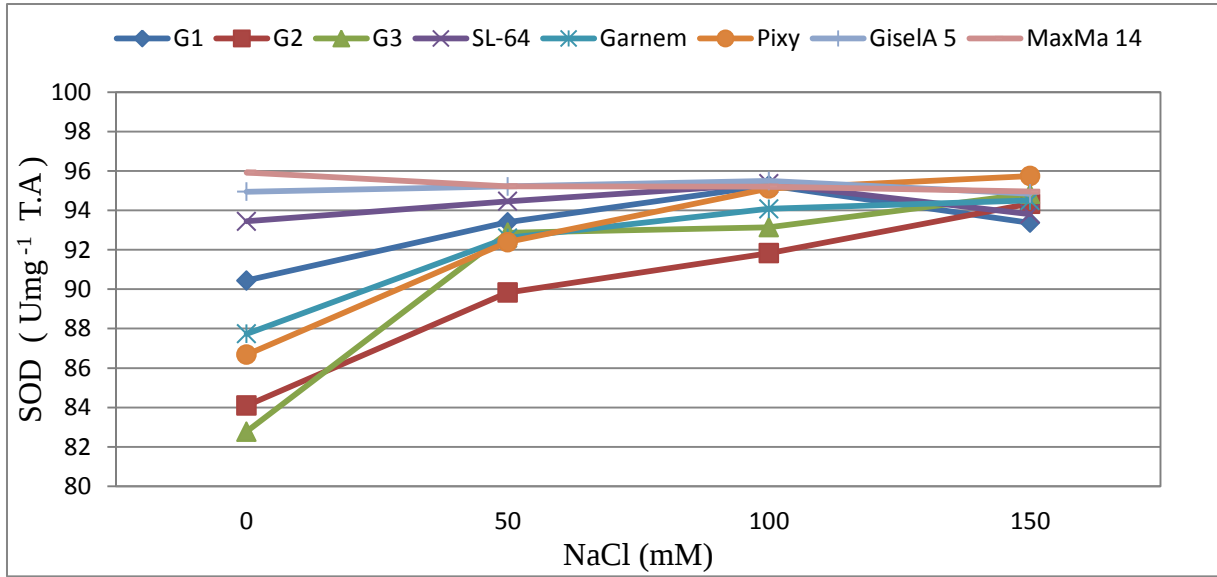
Farklı konsantrasyonlardaki tuz uygulamasının SOD miktarı üzerine etkisine bakıldığında Genotip ve Tuz konsantrasyonunun etkisi önemli, Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. *In vitro* da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun SOD miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	205,13	29,30	5,3***
Tuz konsantrasyonu	3	267,88	89,29	16,1***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	217,41	10,35	1,8 ^{ÖD}

ÖD,***: ortalamalar arasındaki fark sırasıylaönemli değil , $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Yapılan çalışmada 50, 100 ve 150mM'lık tuz uygulamalarında SOD miktarı genel olarak tüm genotiplerde kontrol gurubuna göre artış göstermiştir. Yalnız MaxMa 14 genotipinde tuz uygulamasıyla birlikte SOD miktarında düşüş gözlenmiştir. Enyüksek SOD miktarı 150 mM NaCl konsantrasyonunda ($95.74 \text{ Umg}^{-1} \text{ T.A}$) Pixy genotipinde gözlenmiştir. G2, G3, Garnem ve Pixy genotiplerinde tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte SOD miktarında doğrusal bir artış gözlenirken G1, SL-64 ve Gisela 5 genotipinde ise 100mM NaCl uygulamsından sonra SOD miktarında düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9. *In vitro* da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam SOD miktarı.

4.5.2. Tuzluluk stresinin katalaz (CAT) üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki tuz uygulamasına maruz bırakılan genotiplerdeki Katalaz aktivitesindeki değişim miktarları Şekil 4.10 da verilmiştir. Katalaz aktiviteleri tuz uygulamsından sonra meydana gelen en genç yapraklar üzerinde incelenmiştir. Yapılan analiz sonucunda katalaz aktivitesi üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.13).

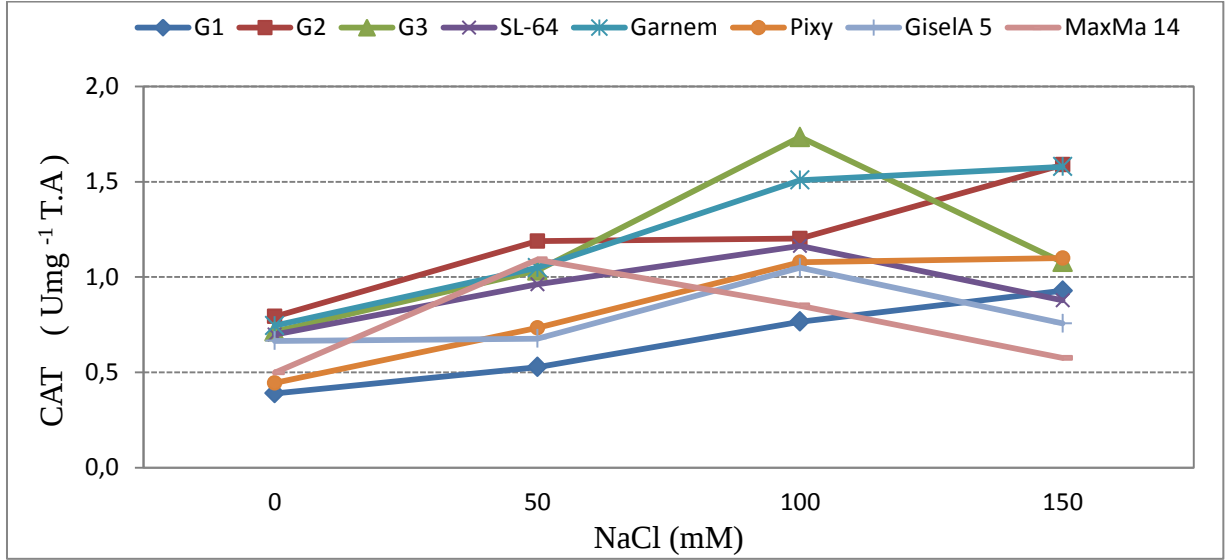
Çizelge 4.13. *In vitro*da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun CAT miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	2,61	0,373	11,7***
Tuz konsantrasyonu	3	2,455	0,818	25,7***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	2,902	0,138	4,3***

***: ortalamalar arasındaki fark, $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Araştırma kapsamında kullanılan tüm genotiplerde tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte belli bir seviyeye kadar Katalaz miktarında artış gözlenmiştir. 150mM tuz uygulamsında en yüksek Katalaz miktarı $1,589 \text{ Umg}^{-1} \text{ T.A}$ ile G2 genotipinde ölçülmüştür (Şekil 4.10). G1, G2, Garnem ve Pixy genotipinde tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte

Katalaz miktarında da doğrusal bir artış gözlenmiş ancak G3, SL-64, Gisela 5 genotipinde 100 mM NaCl uygulamasından sonra katalaz miktarında düşüş olmuştur. MaxMa14 genotipinde ise en yüksek katalaz miktarı 50mM NaCl konsantrasyonunda $1.091 \text{ Umg}^{-1} \text{ T.A}$ olmuş, daha yüksek konsantrasyonlarda katalaz miktarında düşüşler başlamıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. *In vitro* da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam CAT miktarı.

4.5.3. Tuzluluk stresinin peroksidaz (POX) üzerine etkisi

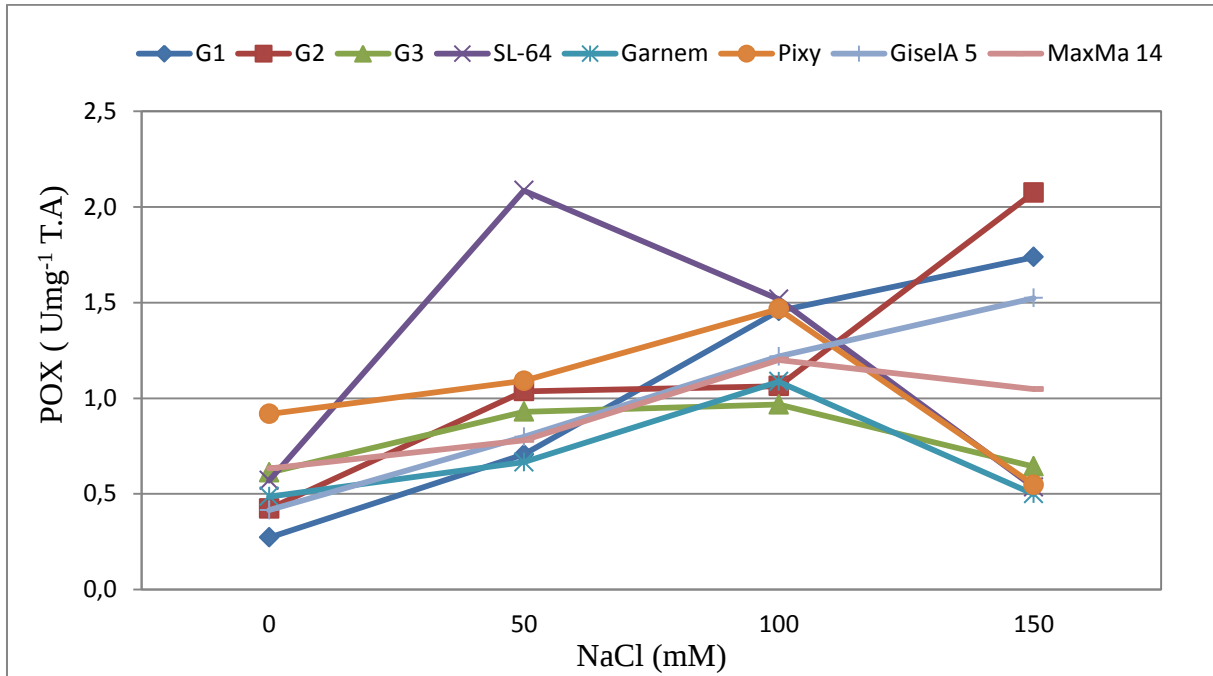
Farklı konsantrasyonlardaki tuz uygulamasına maruz bırakılan genotiplerdeki Peroksidaz aktivitesindeki değişme miktarları Şekil 4.11’de verilmiştir. POX aktiviteleri tuz uygulamasından sonra meydana gelen en genç yapraklar üzerinde incelenmiştir. Yapılan analiz sonucunda POX aktivitesi üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. *In vitro* da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun POX miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	1,88	1,88	1,11 **
Tuz konsantrasyonu	3	4,45	4,45	6,13 ***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	9,11	9,11	1,79 **

, *: ortalamalar arasındaki fark sırasıyla, $P \leq 0.05$ ve $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli

Tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte Peroksidaz aktivitesi hem *P. microcarpa* genotiplerinde hem diğer standart anaçlarda önemli düzeyde artış göstermiştir (Şekil 4.11). *P. microcarpa* G 1 ve G 2 genotiplerinde NaCl konsantrasyonunun artmasıyla birlikte POX aktivitesi doğrusal bir artış göstermiştir. G 1 ve G 2 genotiplerinde kontrol gurubuna oranla 150 mM NaCl konsantrasyonunda POX aktivitesinde sırasıyla yaklaşık %540 ve %391 artış olmuştur. Standart anaçlarda ise genotiplere bağlı olarak POX miktarı belli bir konsantrasyona (100 mM) kadar artış gösterdikten sonra bir düşüş gözlenmiştir. Özellikle SL-64 çeşidinde 50 mM NaCl içeren ortam üzerindeki bitkilerde en yüksek olan POX miktarı daha yüksek konsantrasyonlarda NaCl içeren ortam üzerindeki bitkilerde azalmaya başlamıştır.



Şekil 4. 11. *In vitro*da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam POX miktarı.

4.5.4. Tuzluluk stresinin glutatyon redüktaz (GR) üzerine etkisi.

Yapılan ölçümler neticesinde GR aktivitesi üzerine Genotip ve Tuz konsantrasyonunun etkisi önemli, Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.15).

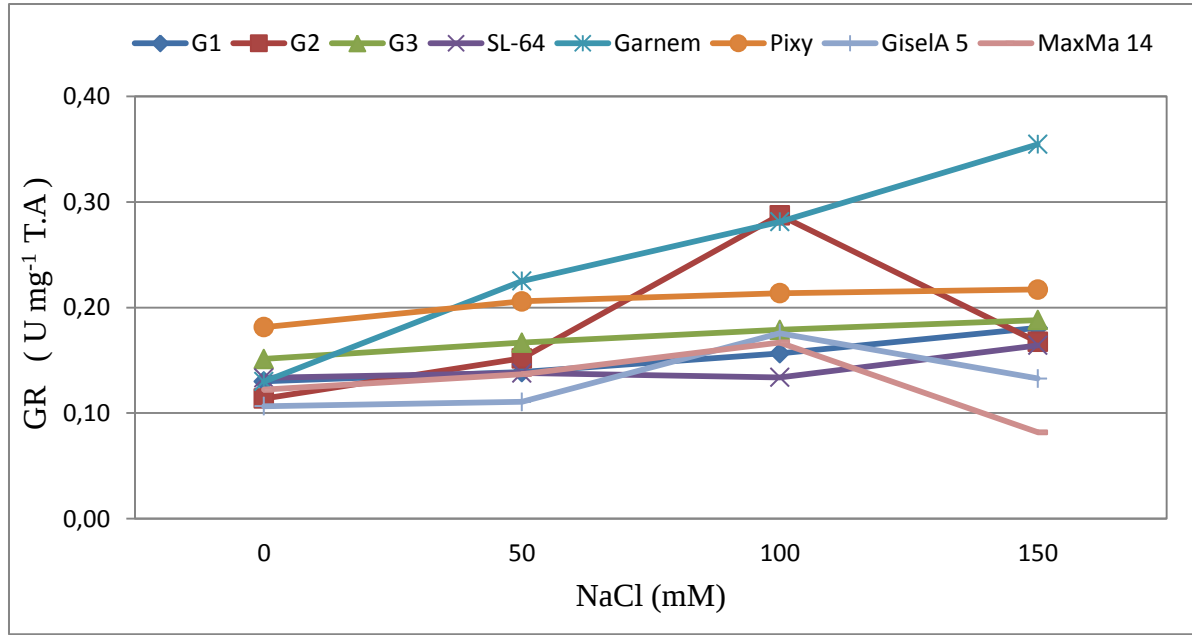
Çizelge 4.15. *In vitro*da Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun GR miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	0,086	0,012	1,83**
Tuz konsantrasyonu	3	0,024	0,008	1,198**
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	0,1	0,005	0,711 ^{ÖD}

ÖD, **: ortalamalar arasındaki fark sırasıyla, önemli değil ve $P \leq 0.05$ seviyesinde önemli.

Tuz stresine tabi tutulan G 1, G 2, G 3, *P. microcarpa* genotipleri ile standart anaç olan Garnem, SL-64, Pixy, Gisela 5 ve MaxMa 14 genotiplerinin GR aktivitelerine ait spektrofotometrik sonuçlar Şekil 4.12 de verilmiştir.

Bir aylık tuz uygulamasının sonunda hem *P. microcarpa* hem standart anaç genotiplerinin GR aktivitelerinde artış gözlenmiştir. NaCl konsantrasyonunun artışıyla birlikte özellikle G1 ve G2 genotiplerinin GR miktarlarında düzenli bir artış gözlenmiştir. G2 genotipinde 100mM NaCl uygulamasına kadar GR aktivitesinde düzenli bir artış olurken daha sonra düşüş gözlenmiştir. En yüksek GR aktivitesi Garnem çeşidinde 150 mM NaCl konsantrasyonunda ($0.355 \text{Umg}^{-1} \text{T.A}$) ölçülmüştür. Gisela 5 ve MaxMa 14 çeşitlerinde 100mM NaCl konsantrasyonundan sonra GR aktivitesinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *In vitro*da tuz uygulamasına tabi tutulan genotiplerin kültürlerinin toplam GR miktarı.

4.6. Ex vitro Koşullarda Tuz Denemesine Ait Bulgular

4.6.1. Tuzluluk stresinin dokuların zararlanma oranı (1-5 skalası) üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlarda tuz stresine maruz bırakılan ve kontrol bitkilerinde yeşil aksamda meydana gelen görsel zararlanmaların etkisini ortaya koymak için 1-5 skalası oluşturulmuştur. Kontrol grubunda bulunan ve zarar görmeyen bitkilere '1' skala değeri verilmiştir.

Yapılan gözlemler sonucunda tuz uygulamasına bağlı olarak yeşil aksamda meydana gelen hasarlanma üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Bir aylık tuz uygulaması sonunda *P. microcarpa* (G 1, G 2, G3) ve standart anaç (Garnem, SL-64, Gisela 5, Pixy, MaxMa 14) genotiplerinde meydana gelen görsel hasar ile ilgili veriler Şekil 4.13 de verilmiştir.

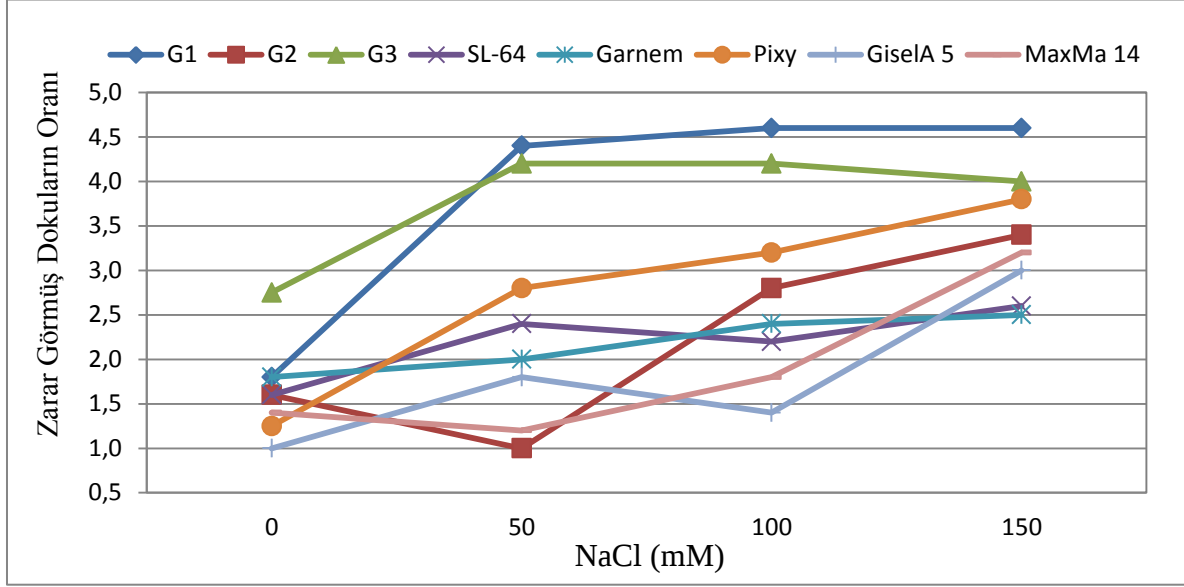
Çizelge 4.16. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun Hasar İndeksi üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	12,7	88,9	11,8***
Tuz konsantrasyonu	3	19,9	59,9	18,6***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	1,5	33,3	1,4**

, *: ortalamalar arasındaki fark, sırasıyla, $p \leq 0.05$ ve $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte genotiplerin tümünde zararlanma derecesi artmıştır. Bu durum bazı genotiplerde az olduğu halde diğer genotiplerde fazla olmuştur. Özellikle standart anaçlara göre büyüme hızı düşük olan G1 ve G3 genotipleri yeşil aksam bakımından tuzdan en fazla etkilenen grup olmuştur. Bunu sırasıyla Pixy ve G2 izlemiştir. G1 ve G3 genotiplerinde 50 mM NaCl uygulamasından itibaren yeşil aksamın etkilendiği görülmüştür (Şekil 4.13). Yeşil aksamda zararlanmanın en az olduğu çeşitler sırasıyla Garnem, SL-64, Gisela 5 ve MaxMa 14 olmuştur. Yeşil aksamda meydana gelen zararlanma şiddeti genotiplerin büyüme hızlarıyla ilişkilendirilmiştir (Şekil 4.14). Büyüme hızı fazla olduğunda uygulanan tuz miktarının etkileyeceği alan (birim doku miktarı) artmakta her doku birimine daha az tuz düşmekte, dolayısıyla zararlanma daha hafif olmaktadır. Ancak bitkilerin arazide olduğu ve saksılardaki durumun aksine topraktaki tuz konsantrasyonunun kolay kolay

değişmediği durumlarda hızlı büyüyen bitkilerde zararlanma daha şiddetli olabilir. Diğer taraftan yavaş büyüyen genotiplerde görülen yaprak dökümü (büyüme hızındaki yavaşlama) bir bakıma tuzdan sakınım mekanizması olarak işlev görüyor olabilir ve yavaş büyüyen bitkilere stres altında avantaj sağladığı düşünülebilir.



Şekil 4. 13. Tuzluluk stresi altında zarar görmüş dokuların oranı.

Yüksek tuz konsantrasyonlarında bütün bitki türlerinin büyüme ve gelişmelerinde bir azalma olmayla birlikte büyüme ve gelişme bakımından türler arasında farklılıklar vardır (Munns, 2002). Abiyotik stres faktörlerinin ilk işareti spesifik membranların hasar görmesidir (Holmberg ve Bülow, 1998). Sodyum hem floem hemde ksilem iletim demetlerinde rahat hareket edebilen bir element olduğundan dolayı aşırı Na birikimi yaşlı yaprakların uç ve kenar kısımlarından başlayarak yaprak ayası ve sapına doğru ilerleyerek nekrotik lekelere kadar dönüşen semptomlar ve yaprağın kurumasına kadar varan hasarlar verir (Aktaş, 2002). Yapraklarda görülen kloroz olayı tuz stresinin tipik göstergesidir (Maas ve Francois, 1982; Wu ve ark., 2001). Saadatmand ve ark. (2007) Antep fıstığında tuz stresinin ilk belirtisi olarak yapraklarda kloroz oluştuğunu ve daha sonra nekrotik hasarların oluştuğunu ve yaprakların kuruduğunu bildirmişlerdir. Ertürk ve arkadaşları (2007) Gisela 5 kiraz anacında düşük tuzkonsantrasyonlarında hafif kloroz oluştuğunu daha sonra nekrotik hasarların oluştuğunu gözlemişlerdir. Ayrıca 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonunun sürgünde ve yaprak kenarlarında hasarlar oluşturduğunu 150 mM tuz konsantrasyonunda bütün yaprak ve sürgünün belli bölgelerinde nekrotik hasarlar oluştuğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.14. Bir ay süresince tuzluluk stresine tabi tutulmuş bitkiler.

4.6.2. Tuzluluk stresi altındayaprak hücrelerinde membran zararlanması (doku elektrik iletkenliği)

Hücre zarlarının yapılarının bozulması ve hücre içerisinde bulunan su ve suda erimiş maddelerin hücreler arası boşluklara akması doku elektrik iletkenliğinin yüksek olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle doku elektrik iletkenliği bitkilerin stres altında hücre zarı bütünlüğünü ne derecede koruyabildiklerinin bir ifadesi olarak kullanılmaktadır (Değer, 2010).

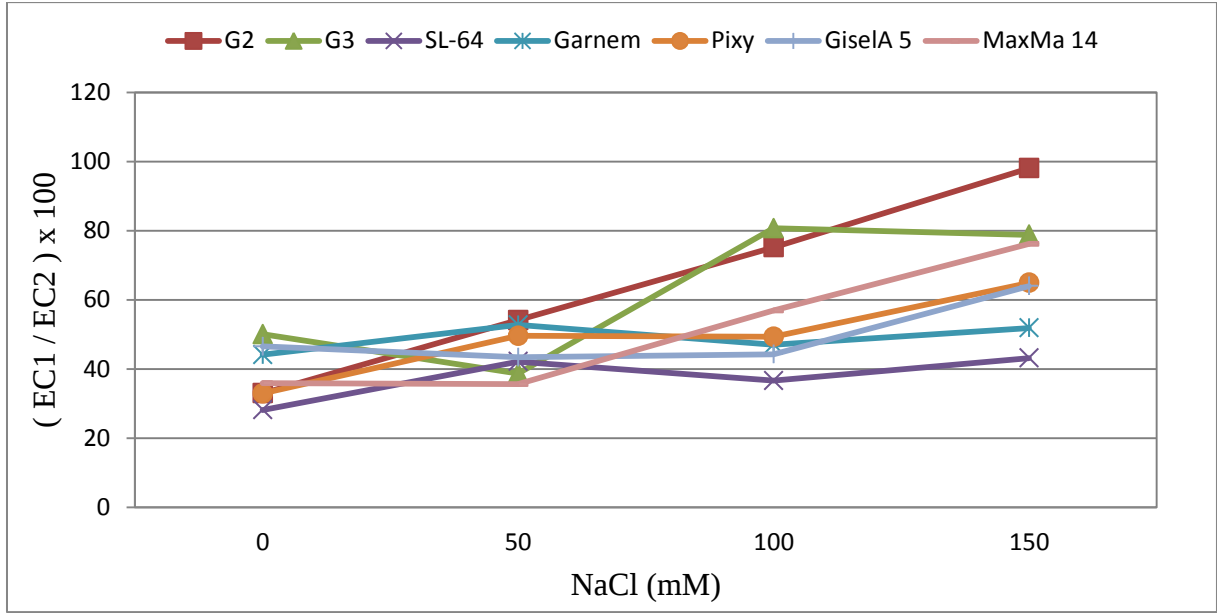
Bu çalışmada membran zararlanması üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun Membran Zararlanması üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	674,5	4047,4	6,9***
Tuz konsantrasyonu	3	2325,1	6975,45	24***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	254,2	4576,9	2,6***

***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Farklı konsantrasyonlardaki tuz uygulamasına maruz bırakılan genotiplerin yaprak hücrelerindeki membran zararlanmasındaki değişme miktarları Şekil 4.15 te verilmiştir.



Şekil 4. 15. Tuzluluk stresi altında yaprak hücrelerinde membran zararlanması.

Tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde stres sonucu meydana gelen membran zararlanmasına bakıldığında en yüksek zararlanma oranı sırasıyla %96, %80 ile G2 ve G3 genotipinde gözlenmiştir. G1 genotipinde disk alınacak büyüklükte yaprak olmadığından G1 genotipinin membran zararlanmasına bakılmamıştır. G2, G3, G1 genotipleri stres koşullarında erken dönemde yaprak dökme eğiliminde olan bitkilerdir. En yüksek doku elektrik iletkenliği değerleri kullanılan en yüksek tuz konsantrasyonunda (150 mM NaCl) gözlenmiştir. Eraslan ve ark. (2009) 50 mM tuz uygulamasının Colt, Gisela 5 ve MaxMa anacında membran geçirgenliğini arttırdığını ve ortalama membran geçirgenliğinin MaxMa14 anacında en yüksek değerde olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada en yüksek membran geçirgenliği G2 ve G3 genotiplerinden sonra MaxMa 14 anacında kaydedilmiştir (Şekil 4.15).

4.6.3. Tuzluluk stresinin yapraklardaki doku oransal su içeriği (RWC) üzerine etkisi

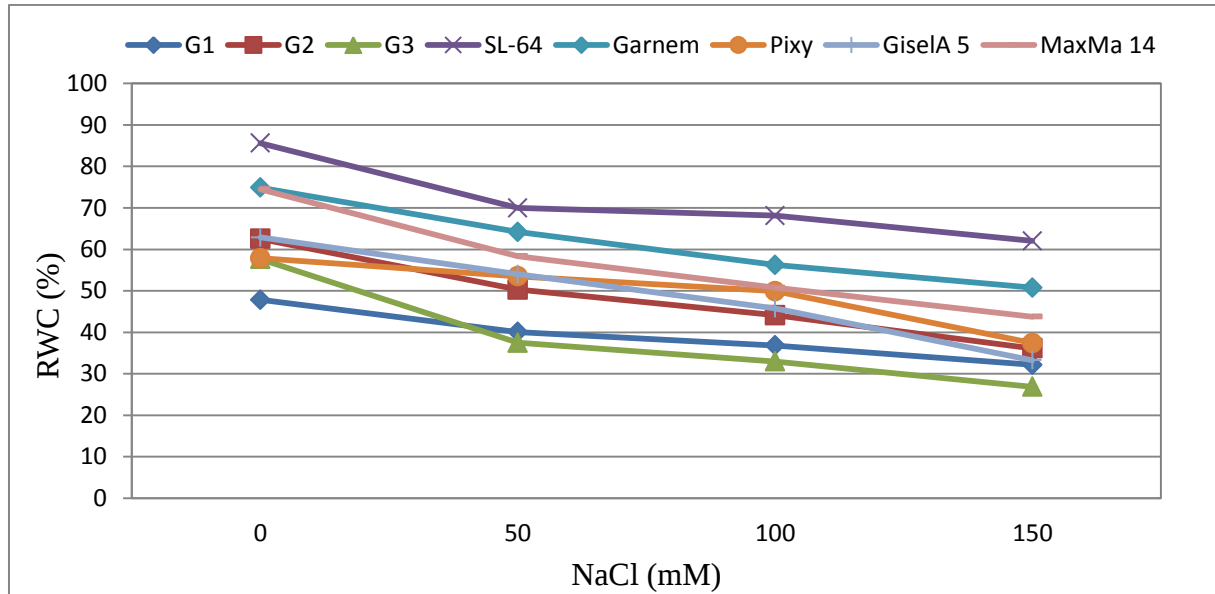
Yapraklardaki doku oransal su içeriği üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun Doku Oransal Su İçeriği (RWC) üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	6868,1	981,2	61,4***
Tuz konsantrasyonu	3	5371,5	1790,5	112,1***
Genotip x Tuzkonsantrasyonu	21	423,5	20,2	1,2**

, *: ortalamalar arasındaki fark, sırasıyla, $p \leq 0.05$ ve $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuz stresine maruz bırakılan *P. microcarpa* genotipleri (G1, G2, G3) ile standart anaçlardaki (SL-64, Garnem, Pixy, Gisela 5, MaxMa 14) doku oransal su içeriğindeki değişimler şekil 4.16 da verilmiştir.



Şekil 4.16. Tuzluluk stresi altında yaprak Doku Oransal Su İçeriğinde (RWC) meydana gelen değişme.

Tuz konsantrasyonunun artmasıyla bütün genotiplerin yaprak dokusundaki su oranında düşüşler gözlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında doku su içeriği bakımından en fazla düşüş %53.37 ile G3 genotipinde gözlenmiştir. Bu genotipi sırasıyla%47.08, % 42.19, % 41.24, % 35,35 ile Gisela 5, G2, MaxMa 14 ve Pixy genotipleri takip etmiştir. Doku oransal su içeriğindeki en az düşüş %27.56 ile SL-64 genotipinde gözlenmiştir (Şekil 4.16).

Yapraklardaki doku oransal su içeriği (RWC) tuz stresinin artmasına bağlı olarak azalmaktadır (Srivastava ve ark., 1998). Tuz stresi altında Marianna Gf-8.1 ve Myrobolan B anacında doku oransal su içeriğinin azaldığı Pixy anacında ise bu azalışın istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir (Bolat ve ark., 2006). Zeytin bitkisinde tuz stresine verilen ilk tepkinin yaprak su oranının ve gerçek su içeriğinin azalması şeklinde olduğu rapor edilmiştir (Chartzoulakis, K.S., 2005). Mandhania ve ark. (2006) tuz stresi altında tuza tolerant bitkilerin yaprak doku oransal su içeriklerinin tuza hassas bitkilerden daha az etkilendiğini bildirmişlerdir.

4.6. Tuzluluk Stresinin Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi

4.6.1. Tuzluluk stresinin klorofil a miktarı üzerine etkisi

Yapraklarda klorofil a miktarı üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz Konsantrasyonu interaksiyonunun klorofil a üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	499,3	71,32	141,9***
Tuz konsantrasyonu	3	685,6	228,53	454,7***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	198,0	9,43	18,7***

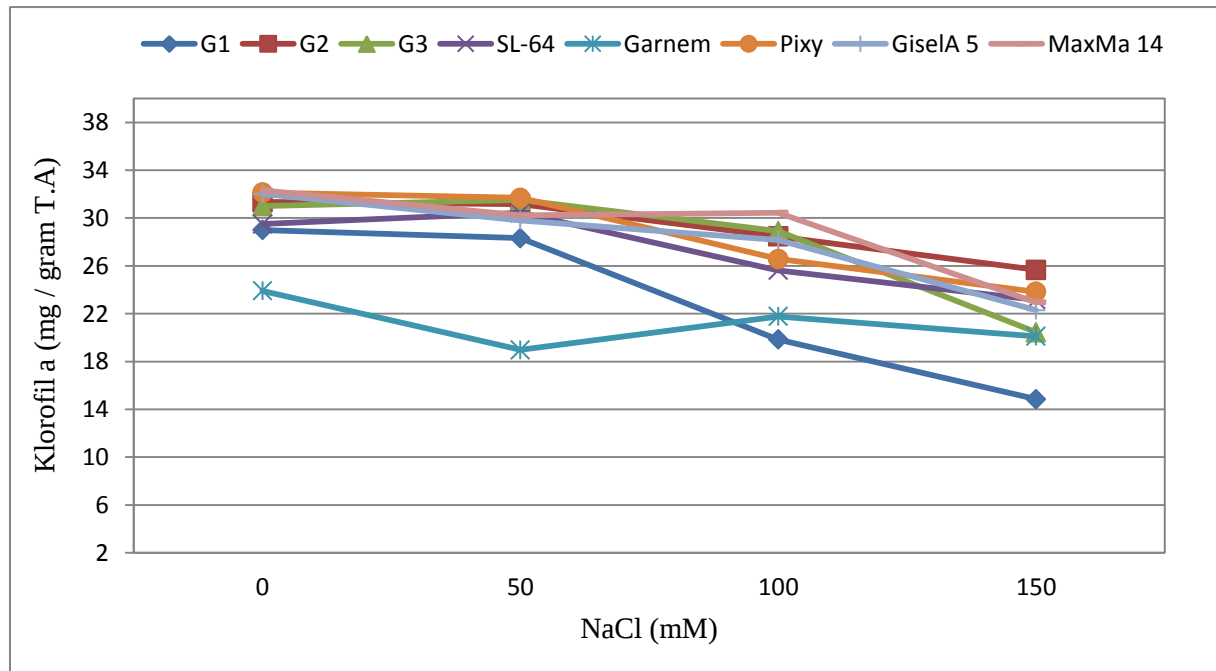
***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuz stresine maruz bırakılan *Prunus microcarpa* genotipleri ile standart anaçlarda klorofil a miktarındaki değişme oranları Çizelge 4.20 ve Şekil 4.17 de verilmiştir.

Çizelge 4. 20. Tuz uygulaması yapılan genotiplerde toplam klorofil a miktarı (mg/g taze ağırlık) ve 150mM NaCl’ da kontrol gurubuna göre klorofil a miktarında % azalma.

Genotip	0mM NaCl	50mM NaCl	100mM NaCl	150mM NaCl	% azalma
G1	29,00	28,32	19,85	14,84	48,82
G2	31,34	31,16	28,46	25,67	18,10
G3	30,99	31,52	28,91	20,44	34,04
SL-64	29,50	30,44	25,62	23,17	21,46
Garnem	23,91	18,97	21,77	20,11	15,89
Pixy	32,13	31,69	26,58	23,84	25,81
GiselA 5	32,03	29,80	28,16	22,30	30,39
MaxMa 14	32,31	30,23	30,45	22,94	29,00

Kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında tuz konsantrasyonu arttıkça klorofil a miktarında kademeli bir şekilde azalma gözlenmiştir (Şekil 4.17). Tuz stresi ile birlikte klorofil a miktarında en fazla azalma %48.82 ile G1 genotipinde olmuştur (Çizelge 4. 20). Bu genotipi sırasıyla %34.04, %30.39, %29.00, %25.81’ lik azalma ile G3, GiselA 5, MaxMa 14 ve Pixy takip etmiştir. Tuz stresi ile birlikte klorofil a miktarında en az düşüş sırasıyla %15.89 ve %18.10 ile Garnem ve G2 genotipinde gözlenmiştir (Çizelge4.20).



Şekil 4. 17. Tuzluluk stresi altında klorofil a miktarında meydana gelen değişme.

Bitkilerin yaprak dokusundaki toplam klorofil ve karotenoid içeriği tuz stresi ile birlikte genel olarak azalma göstermektedir (Agastian ve ark, 2000; Kahn, 2003; Yıldız ve ark., 2010). Arıcı ve arkadaşları 50 mM NaCl varlığında (tuz stresinde) klorofil miktarında azalma olduğunu bildirmişler. Aynı şekilde tuz stresi altında domates bitkisinin yapraklarında toplam klorofil a, klorofil b ve karotenoid miktarında azalma olmuştur (Khavarinejad ve Mostofi, 1998). Fino 49 limon çeşidinde tuz uygulamasında olgun yapraklardaki klorofil miktarı taze yapraklardaki klorofil miktarından daha fazla etkilenmiştir (Pérez-Pérez, ve ark., 2009). Aranda ve Syvertsen (1996) yüksek orandaki tuz konsantrasyonlarında iyon birikimi ve stomaların açılıp kapanmasındaki düzensizlikler nedeniyle toplam klorofil miktarında azalmalar olduğunu ve bu azalmaların fotosentez etkinliğini düşürerek bitkinin gelişimini engellediğini ve bitkinin zarar görmesine neden olduğunu bildirmişlerdir.

4.6.2. Tuzluluk stresinin klorofil b miktarı üzerine etkisi

Yaprak klorofil b miktarı üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz Konsantrasyonu interaksiyonunun klorofil b üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	264,3	37,8	141,5***
Tuz konsantrasyonu	3	560,6	186,9	700,7***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	559,3	26,6	99,8***

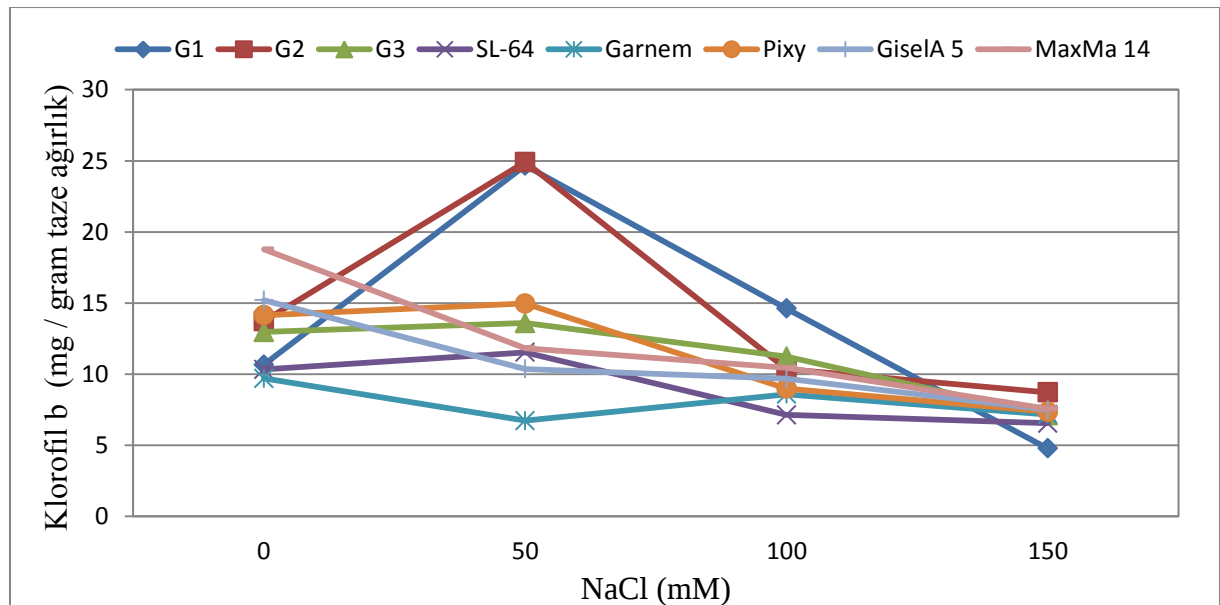
***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuz stresine maruz bırakılan *P. microcarpa* genotipleri ile standart anaçlarda klorofil b miktarındaki değişme oranları Çizelge 4.22 ve Şekil 4.18 de verilmiştir.

Çizelge 4. 22. Tuz uygulaması yapılan genotiplerde toplam klorofil b miktarı (mg/g taze ağırlık) ve 150mM NaCl’ da kontrol gurubuna göre klorofil b miktarında % azalma.

Genotip	0mM NaCl	50mM NaCl	100mM NaCl	150mM NaCl	% azalma
G1	10,66	24,67	14,62	4,78	55,17
G2	13,73	24,91	10,37	8,72	36,49
G3	12,97	13,59	11,23	7,11	45,20
SL-64	10,33	11,53	7,13	6,55	36,56
Garnem	9,70	6,73	8,58	7,17	26,12
Pixy	14,14	14,96	8,99	7,36	47,94
GiselA5	15,20	10,37	9,68	7,50	50,68
MaxMa	18,76	11,82	10,43	7,57	59,65

Tuz stresine tabi tutulan genotiplerin yapraklarındaki klorofil b miktarları kontrol guruplarına göre azalma göstermiştir. Tuz stresinin şiddetiyle birlikte klorofil b miktarında en fazla düşüş %59,65 ile MaxMa 14 standart anacında olmuştur. Bunu sırasıyla %55.17, %50.68, %47.94 ve %45.20 ile G1, GiselA 5, Pixy ve G3 genotipi izlemiştir. Klorofil b miktarındaki en az düşüş ise sırasıyla %26.12 ve %36.49 ile Garnem standart anacı ve G2 genotipinde olmuştur (Çizelge 4.22). G1 ve G2 genotiplerinde 50mM NaCl konsantrasyonunda klorofil b miktarı en yüksek seviyede olmuştur.



Şekil 4. 18. Tuzlulukstresi altında Klorofil b miktarında meydana gelen değişme.

4.7. Tuzluluk Stresinin Lipid Peroksidasyonu [Malondialdehid (MDA) Miktarı] Üzerine Etkisi

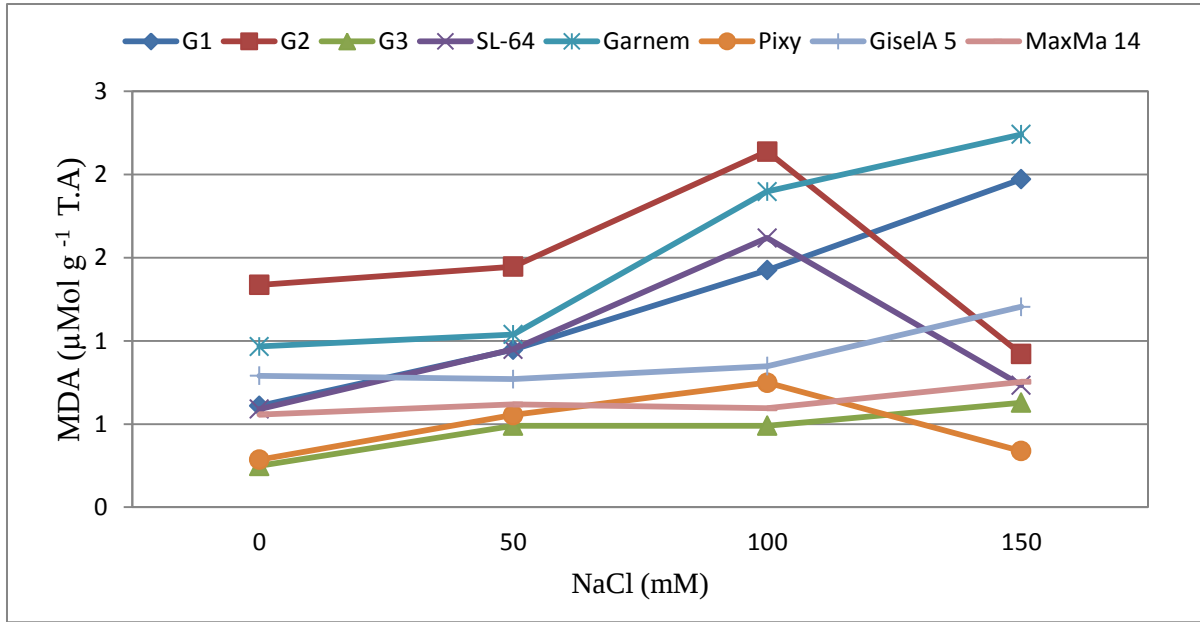
Lipid peroksidasyonu üzerine Genotip, Tuz Konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4. 23).

Çizelge 4. 23 Genotip, Tuz konsantrasyonu, Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun MDA miktarı üzerine varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	8,301	1,186	243,4***
Tuz konsantrasyonu	3	0,805	0,268	55,06***
Genotipx Tuz konsantrasyonu	21	10,65	0,507	104,1***

***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

*Ex vitro*da farklı NaCl konsantrasyonlarının genotiplerin Malondialdehid miktarları üzerine etkisi Şekil 4.19 de verilmiştir. Bazı genotiplerin yaprak dokusunda 150 mM NaCl konsantrasyonuna kadar lipid peroksidasyonu miktarında bir artış gösterirken diğer çeşitlerde 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra MDA miktarında düşüş gözlenmiştir. Ancak genel olarak bakıldığında kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında hem *P. microcarpa* genotiplerinde hem standart anaçlarda MDA miktarında bir artış söz konusu olmuştur (Şekil 4.19). En yüksek MDA miktarı ($2.24 \mu\text{M g}^{-1}$ T.A) 150 mM NaCl konsantrasyonunda Garnem çeşidinde gözlenmiş daha sonra en yüksek MDA 100mM NaCl konsantrasyonunda ($2.14 \mu\text{M g}^{-1}$ T.A) G2 genotipinde gözlenmiştir. G2 genotipi ile SL-64 ve Pixy standart anacında 100mM NaCl konsantrasyonundan sonra MDA miktarında düşüş gözlenmiş, ancak G1, G3 genotipi ile Gisela 5 ve MaxMa 14 standart anaçlarında 150mM NaCl konsantrasyonunda bile MDA miktarında artış gözlenmiştir. Tuzluluk stresi altında MDA miktarındaki artış diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir. Ertürk ve ark. (2007) *in vitro* da Gisela 5 kiraz anacının sürgünlerinde MDA miktarının tuz stresi altında kontrol gurubuna oranla yüksek çıktığını bildirmişlerdir.



Şekil 4. 19. Tuzluluk stresi altında MDA miktarında meydana gelen değişme.

Tuz stresi sonucu bitkinin yeterli su alamaması, hücre bütünlüğünün bozulması, stomaların kapanması, klorofil miktarındaki düşüş ve fotosentetik elektron taşıma sisteminin aksamması sonucu serbest radikaller oraya çıkmaktadır (Demiral, 2005; Yıldız, 2010). Ortaya çıkan serbest radikaller membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu hücre membranının zararlanmasına yol açmaktadır. Yüksek miktardaki reaktif oksijen türleri doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek hücre zarı ve hücre içindeki organeller için hayati önem arz eden membran lipidlerine zarar vermektedir. Lipid peroksidasyonu hücre içerisine besin girişini sağlayan hücre zarının kurumasına ve böylece hücrenin ölmesine sebep olmaktadır. Hücre zarının bozulması, mitokondrideki solunum mekanizmasına zarar vermekte, pigmentleri etkisiz hale getirmekte ve kloroplastlara alınan karbondioksit miktarını azaltmaktadır (Halliwell, 1985; Scandilios., 1993). Bu nedenle Lipid peroksidasyonundaki değişme tuz stresine tepkinin (toleransın) bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Tıprıdır ve Ellialtıoğlu, 1995; Elkahoi ve ark., 2005).

4.8. Tuzluluk Stresinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi

Prolin miktarı üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.24).

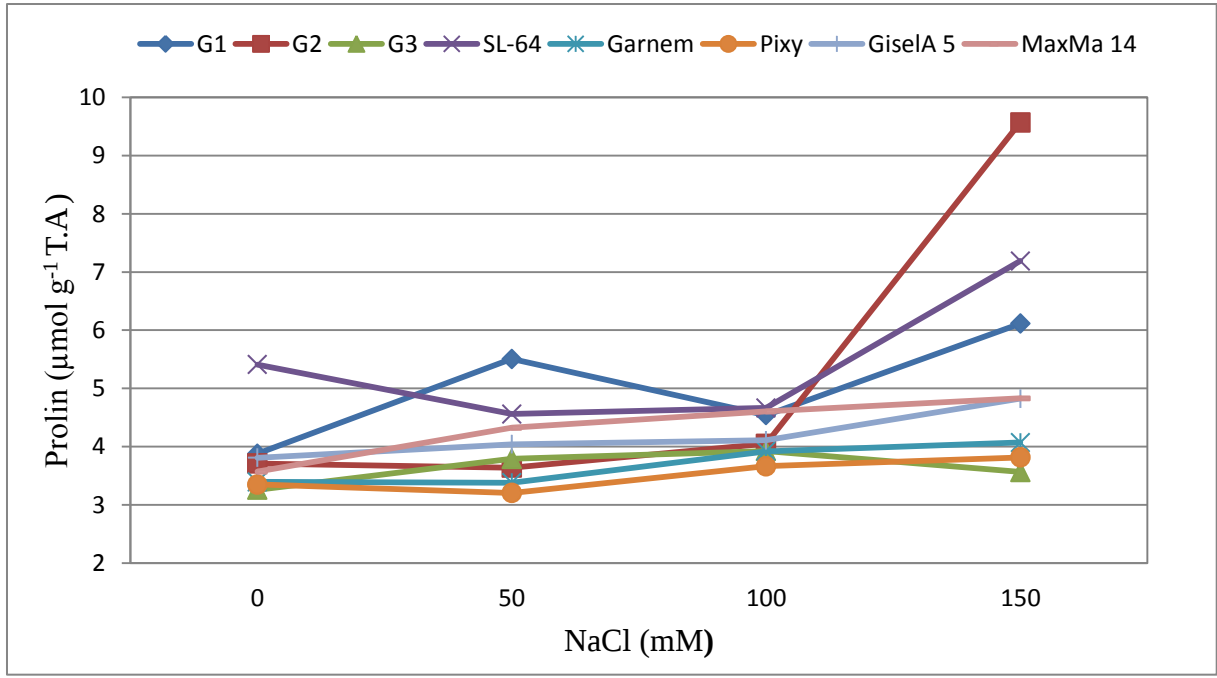
Çizelge 4. 24. Genotip, Tuz konsantrasyonu, Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun Prolin miktarı üzerine varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	8,7	61,3	245,5***
Tuz konsantrasyonu	3	23,8	71,4	667,2***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	13,5	285,01	380,3***

***: ortalamalar arasındaki fark $p \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Artan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak genotiplerin Prolin miktarı artış göstermiştir. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla hem *P. microcarpa* hem standart anaçların genotiplerinin Prolin miktarında artış gözlenmiştir. En yüksek Prolin miktarı ($9.57 \mu\text{Mol g}^{-1}$ T.A) G2 genotipinde 150 mM NaCl konsantrasyonunda gözlenmiştir. Benzer şekilde 150 mM NaCl konsantrasyonunda G1 genotipinin Prolin miktarında artış gözlenmiştir. G3 genotipinde Prolin miktarında 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.20).

Tuzluluk stresi altında Prolin miktarındaki artış sırasıyla en fazla %157.95, %57.60, %35.29 ile G2, G1 genotipleri ile MaxMa 14 standart anacında gözlenmiş, en düşük artış sırasıyla %9.36, %13.88, %19.88 ile G3, Pixy ve Garnem genotiplerinde gözlenmiştir.



Şekil 4.20. Tuzluluk stresi altında Prolin miktarında meydana gelen değişme.

Tuz stresi ile Prolin miktarının artışı hücrenin osmotik dengesini sağlamakta, sitosolik pH'sını dengede tutmakta, karbon ve azot birikimini düzenlemektedir. Ayrıca Protein bütünlüğünün sağlanması ve enzim aktivitelerinin başlatılmasında rol oynamaktadır (Yıldız ve ark., 2010; Bayat ve ark., 2014). Tuza toleranslı bitkilerin büyük bir çoğunluğunun Prolin seviyelerinin tuza duyarlı türlere nazaran daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Osmotik olarak oldukça aktif olan Prolin membran kararlılığına katkıda bulunmakta ve NaCl'ün hücre membranlarına olan olumsuz etkisini azaltmaktadır (Mansour, 1998; Maggio ve ark., 2002; Yıldız ve ark., 2010).

Tuzluluk, kuraklık ve sıcaklık gibi abiyotik strese maruz kalan bitkilerde Prolin miktarının arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Hanson ve Hitz., 1982; Tıprıdımaz ve Karakullukçu., 1993; Hare ve Cress., 1997; Mansour, 2000). Prolin hücre içerisinde stoplazma ve vakuol arasında hücre içi osmatik dengenin sağlanmasında (Delunay ve Verma, 1993) ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasında rol oynar (Mani ve ark., 2002). Ayrıca Prolinin hücre zarının stabilitesini sağlayarak hücre içerisindeki enzimlerin tuzun zararlı etkisinden koruduğu (Lone ve ark., 1987.), stresten sonra büyüme, gelişme ve iyileşme için gerekli olan C ve N depolama işlevini gördüğü bildirilmektedir. (Jain ve ark., 2001). Bitki stres koşullarından uzaklaştırıldığında stress esnasında biriken Prolinin oksitlenmesiyle ortaya çıkan ATP, stresin neden olduğu zararlanmayı azaltır (Hare ve Cress., 1997). Tuz stresi altında tüm bitki dokularında Prolin miktarı artmaktadır (Munns, 2005). Tuzlu ortamlarda

yetişen halofit bitkilerde yüksek miktarda Prolin gözlenmiştir (Kant ve ark., 2006). Eraslan ve ark. (2007) Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*) kiraz anacında, Molassiotis ve ark., (2006) MM-106 elma anacında, Güneş ve ark., (1996) biberde, Zhu ve ark., (2008) hıyarda tuz uygulamasıyla birlikte Prolin miktarının arttığını bildirmişlerdir.

4.9. Tuzluluk Stresinin Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı üzerine Etkisi

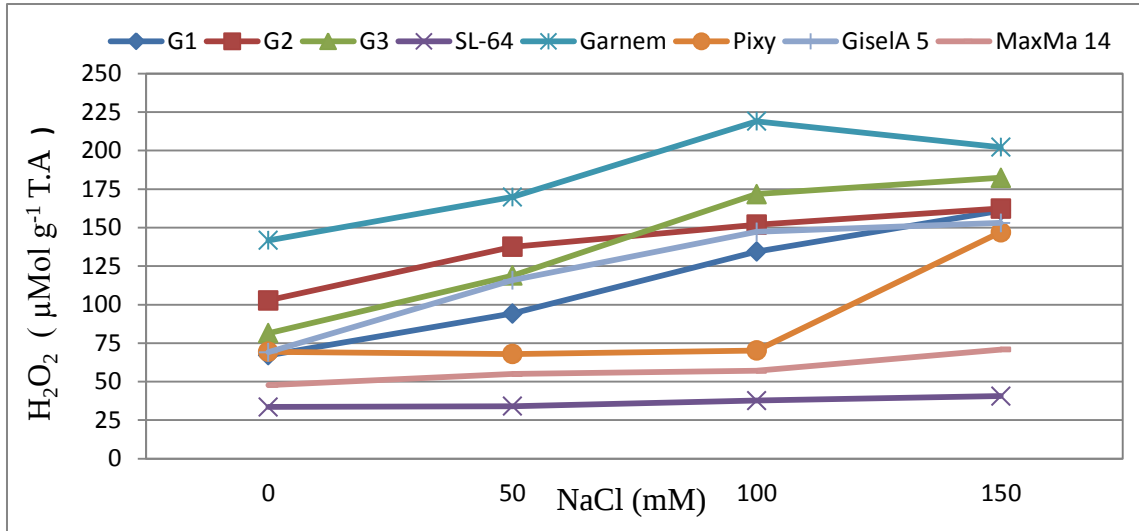
Tuz stresinin denemede kullanılan bitki yapraklarındaki hidrojen peroksit miktarları üzerine olan varyans analizi çizelge 4.19 da verilmiştir. Hidrojen peroksit miktarı üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.25).

Çizelge 4. 25. Genotip, Tuz konsantrasyonu, Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun H₂O₂ miktarı üzerine varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	20341,2	142388,4	2660,14 ^{***}
Tuz konsantrasyonu	3	19078,76	57236,28	2495,05 ^{***}
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	1330,475	27939,97	173,99 ^{***}

***: ortalamalar arasındaki fark p≤0.005 seviyesinde önemli.

Bu çalışmada genel olarak tuz konsantrasyonu arttıkça Hidrojen Peroksit miktarı da artmıştır. En yüksek Hidrojen Peroksit miktarı 150 mM NaCl konsantrasyonunda elde edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında H₂O₂ miktarında en az artış SL- 64 ve Garnem anaçlarında kaydedilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında H₂O₂ miktarında en fazla artış sırasıyla %140.2 ve %124.1 ile G1 ve G3 genotiplerinde gözlenmiştir. Bunları sırasıyla Gisela 5 (%121.6) ve Pixy (%111.9) takip etmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4. 21. Tuzluluk stresi altında H₂O₂ miktarında meydana gelen değişim.

4.9. *Ex vitro* Koşullarda Tuzluluk Stresi Sonucu Antioksidant Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişmeler

Tuzluluk stresi altındaki bitkilerin stresten etkilenme derecelerini inceleme yöntemlerinden birisi de stres koşullarında ortaya çıkan antioksidant enzim aktivitelerinin miktarını ölçmektir. Bu nedenle tuz uygulamasının Süperoksit Dismutaz, Peroksidaz, Katalaz ve Glutasyon Redüktaz antioksidant enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerini belirleyen analiz sonuçlarıyla ilgili bulgular aşağıda verilmiştir.

4.9.1. Tuzluluk stresinin süperoksit dismutaz (SOD) üzerine etkisi

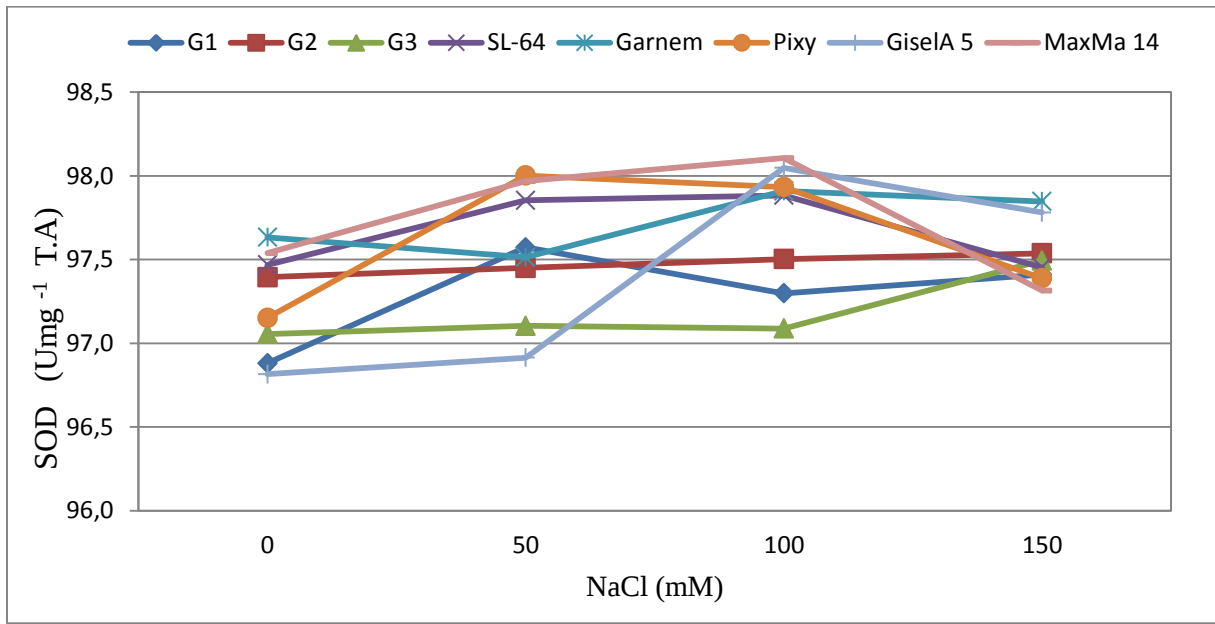
Ex vitro koşullarda SOD miktarı üzerine Genotip ve Tuz konsantrasyonunun etkisi önemsiz, Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Çizelge 4. 26. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun SOD miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	1,766	0,252	0,89 ^{ÖD}
Tuz konsantrasyonu	3	0,442	0,147	0,52 ^{**}
Genotip xTuz konsantrasyonu	21	11,398	0,543	1,9 ^{**}

ÖD, **: ortalamalar arasındaki fark sırasıyla önemli değil, $P \leq 0.05$ seviyesinde önemli.

Tuz konsantrasyonu ile bütün genotiplerin SOD miktarında bir artış olmuş ancak genotipler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. G2 ve G3 genotiplerinde tuz stresinin artmasıyla beraber SOD miktarında düzenli bir artış olmuş (Şekil 4.22). G1 genotipinde en yüksek SOD miktarı 50 mM NaCl’da kaydedilmiş daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında SOD miktarında düşüş gözlenmiştir. Standart anaçlardan Pixy ve SL-64 anacında 50 mM NaCl uygulamasından sonra SOD miktarında düşüş gözlenirken Gisela 5 ve MaxMa 14 anaçlarında SOD miktarında düşüş 100mM NaCl’den sonra başlamıştır. Garnem çeşidinde NaCl’ da SOD miktarında kontrole göre 100 ve 150 mM NaCl de artış olmuştur (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Tuzluluk stresi altında SOD miktarında meydana gelen değişim.

G2 ve G3 genotiplerinde tuz stresi ile birlikte kontrole göre SOD miktarı sürekli bir artış gösterirken standart anaçlarda genel olarak belli bir tuz seviyesinden sonra SOD miktarında düşüş gözlenmiştir. Benzer sonuçlar bu çalışmada *in vitro* şartlarda da elde edilmiştir. *In vitro* çalışmada G2 ve G3 genotiplerinde NaCl konsantrasyonunun artışına bağlı olarak SOD miktarında artış gözlenmiştir.

SOD oksidatif stres sonucu ortaya çıkan reaktif oksijenlerden süperoksit radikalının zararlı etkisini ortadan kaldırmak için süperoksit radikalini Oksijen ve Hidrojen Peroksit'e dönüştürür (Bowler ve ark., 1992). Stres koşullarında SOD miktarının strese tolerant bitkilerde daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Emam ve ark., 2001). Molassiotis ve ark., (2006) tuz uygulamasıyla birlikte MM 106 elma anacında, Ertürk ve ark., (2007) Gisela5

kiraz anacında SOD miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Gosset ve ark., (1994) pamukta, Kuşvuran ve ark., (2007) kavunda, Yaşar ve ark., (2008) karpuzda tuz stresiyle birlikte SOD miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da tuzluluk stresinin şiddetine bağlı olarak bütün genotiplerde özellikle G1, G2 ve Garnem genotiplerinde SOD miktarında düzenli bir artış olduğu gözlenmiştir.

4.9.2. Tuzluluk stresinin katalaz (CAT) üzerine etkisi

Tuzluluk stresinin genotiplerin CAT aktiviteleri üzerine etkisi Çizelge 4.27 de verilmiştir. CAT aktivitesi üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonunu interaksiyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.27).

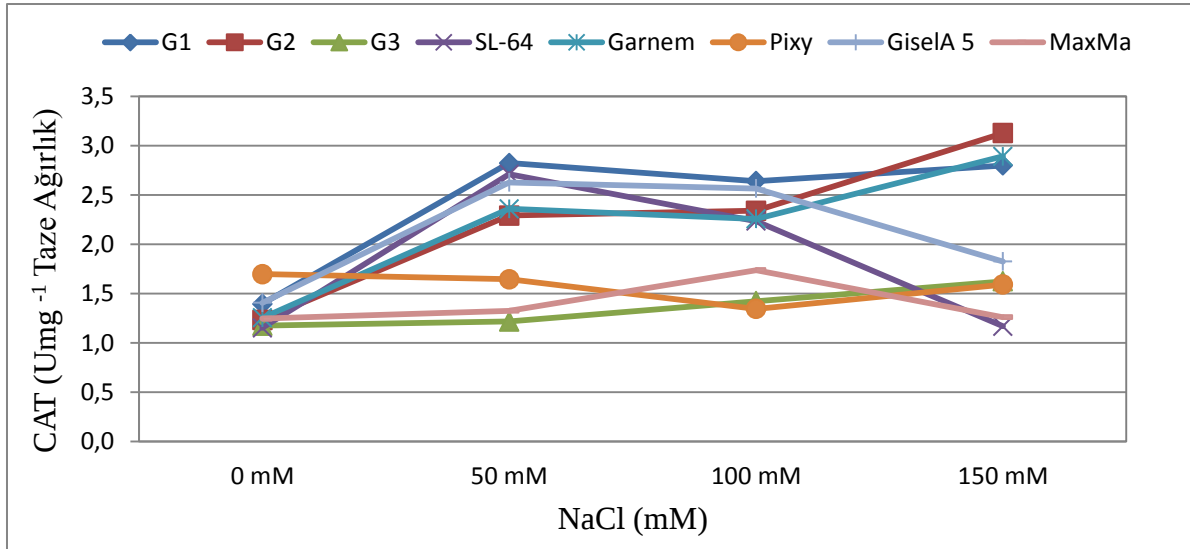
Çizelge 4. 27. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun CAT miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	1,801	0,257	32,4***
Tuz konsantrasyonu	3	0,774	0,258	32,5***
GenotipxTuz konsantrasyonu	21	2,847	0,136	17,08***

***: ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuzluluk stresi ile birlikte bütün genotiplerde belli bir seviyeye kadar CAT aktivitesinde artış gözlenmiştir. Ancak Pixy standart anacında 50 ve 100 mM NaCl ortamında CAT aktivitesi miktarında kontrole göre azalma gözlenmiştir. En yüksek CAT aktivitesi miktarı ($3.126 \text{ Umg}^{-1} \text{ T.A}$) 150 mM NaCl varlığında G2 geotipinde gözlenmiştir. Gisela 5, SL-64 ve MaxMa 14 standart anaçlarında 50 mM NaCl'dan sonra CAT aktivitesi miktarında düşüş gözlenmiştir. Standart anaçlar ile karşılaştırıldığında G2 ve G1 genotiplerinin tuz stresi ile birlikte CAT aktivitesi miktarında sürekli bir artış gözlenmiştir. G3genotipinin CAT aktivitesi miktarı NaCl konsantrasyonunun artışıyla birlikte kontrole oranla düzenli bir artış göstermiştir. Fakat CAT aktivitesindeki bu artış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Katalaz aktivitesi bakımından *P. microcarpa* genotipleri ile standart anaçlar karşılaştırıldığında *P. microcarpa* genotiplerinde tuz stresi ile birlikte düzenli bir artışın olduğu Pixy hariç standart anaçlarda genellikle 50mM NaCl konsantrasyonundan sonra katalaz miktarında düşüş olduğu gözlenmiştir. Bütün NaCl konsantrasyonlarında Pixy anacında Katalaz aktivitesi kontrol gurubuna benzer veya düşük olmuştur (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Tuzluluk stresi altında CAT miktarında meydana gelen değişme.

Katalaz enzimi, Peroksizomda oksidatif stres sonucu oluşan ve hücreye zarar veren Hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türlerini suya çeviren önemli antioksidantlardan birisidir (Fridovich, 1989). Yüksek orandaki Katalaz aktivitesi hücre içerisindeki H_2O_2 miktarını azaltmakta ve hücre zarının stabilitesini koruyarak CO_2 fiksasyonunu dengelemektedir. Çünkü Kelvin çemberinde ve kloroplastlarda bulunan bir çok enzim Hidrojen peroksit (H_2O_2)’den etkilenmektedir. Yüksek orandaki H_2O_2 miktarı CO_2 fiksasyonunu doğrudan azaltmaktadır (Yamazaki ve ark., 2003). Kuşvuran (2010) kavunda tuza dayanıklı genotiplerde antioksidant enzim aktivitelerinin arttığını bildirmektedir. Ertürk ve ark. (2007) Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*) kiraz anacında tuz stresi ile birlikte CAT miktarında artış olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Demiral ve Türkan (2005) prinçte, Yaşar ve ark., (2008) karpuzda, Hayat ve ark. (2012) domates bitkisinde tuz stresinin artmasıyla birlikte Katalaz miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir.

4.9.3. Tuzluluk stresinin peroksidaz (POX) üzerine etkisi

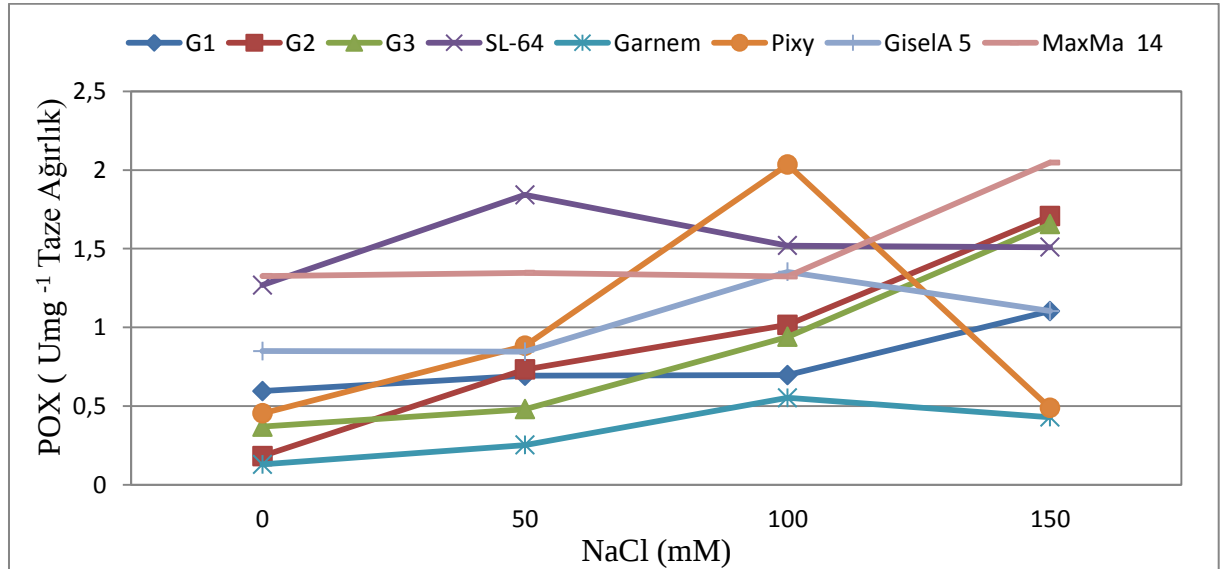
Tuzluluk stresinin genotiplerin POX aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.28 de verilmiştir. Genotip ve Tuz konsantrasyonu etkisinin POX aktivitesi üzerine etkisi önemli bulunmuş, Genotip xTuz konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi ise istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.28).

Çizelge 4. 28. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksiyonunun POX miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	15,826	2,2609	5,94***
Tuz konsantrasyonu	3	3,652	1,2172	3,2***
Genotip xTuz konsantrasyonu	21	6,448	0,3071	0,80 ^{ÖD}

ÖD,***: Ortalamalar arasındaki fark sırasıylaÖnemli değil, $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Tuzluluk stresi ile birlikte *P. microcarpa* genotiplerinin (G1, G2, G3) POX aktivitesi kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında sürekli bir artış göstermiştir. Ancak standart anaçlarda belirli bir NaCl konsantrasyonundan sonra POX aktivitesinde düşüşe neden olmuştur (Şekil 4.24). 150 mM NaCl’de en yüksek POX miktarı (2.0 Umg^{-1} Taze Ağırlık) MaxMa 14 anacında çıkmasına rağmen kontrol ile karşılaştırıldığında en fazla artış (%840.31) G2 genotipinde gözlenmiştir. Bunu sırasıyla %348.52, % 233.85 ve %85.48 ile G3, Garnem ve MaxMa 14 izlemiştir. Pixy anacında 100 mM NaCl’e kadar POX aktivitesi miktarı artmış fakat daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında POX aktivitesinde hızlı bir düşüş olmuş ve 150 mM NaCl ortamında 0.48 Umg^{-1} T.A olarak ölçülmüştür. SL-64 anacında 50 mM’den daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında POX aktivitesinde azalma gözlenmiştir.



Şekil 4. 24. Tuzluluk stresi altında POX miktarında meydana gelen değişme.

Bitkiler biyotik ve abiyotik stres koşullarında kendilerini koruyacak ve zararlanma oranını minimuma indirecek savunma mekanizmalarına başvururlar. Bu amaçla ya daha önce bünyesinde mevcut olan komponentleri aktif hale getirmek veya fenolikler gibi toksik maddeleri veya oksidatif stres sonucu hızlı bir şekilde ortaya çıkan reaktif oksijen türlerini yavaşlatma yoluna giderler. Peroksidaz enzimi yaygın olan bir kısım molekül ve reaktif oksijen türlerinde hidrojen peroksidi (H_2O_2) okside etmekte ayrıca hücre içerisinde lignin sentezi, yaraların iyileştirilmesi ve reaksiyonların korunması gibi bir çok fizyolojik olayda görev almaktadır (Acosta ve ark., 2002). Bor ve ark., (2003) kırk günlük şekerpancarında 12 gün boyunca 150 ve 500 mM tuz uygulamasının POX aktivitesi miktarını arttırdığını bildirmişler. Aynı şekilde Molassiotis ve ark., (2006) MM-106 elma anacında, Ertürk ve ark., (2007) Gisela 5 kiraz anacında tuz stresi ile birlikte POX miktarının arttığını bildirmişlerdir.

4.9.4. Tuzluluk stresinin askorbat peroksidaz (APOX) üzerine etkisi

Askorbat Peroksidaz aktivitesi üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.29).

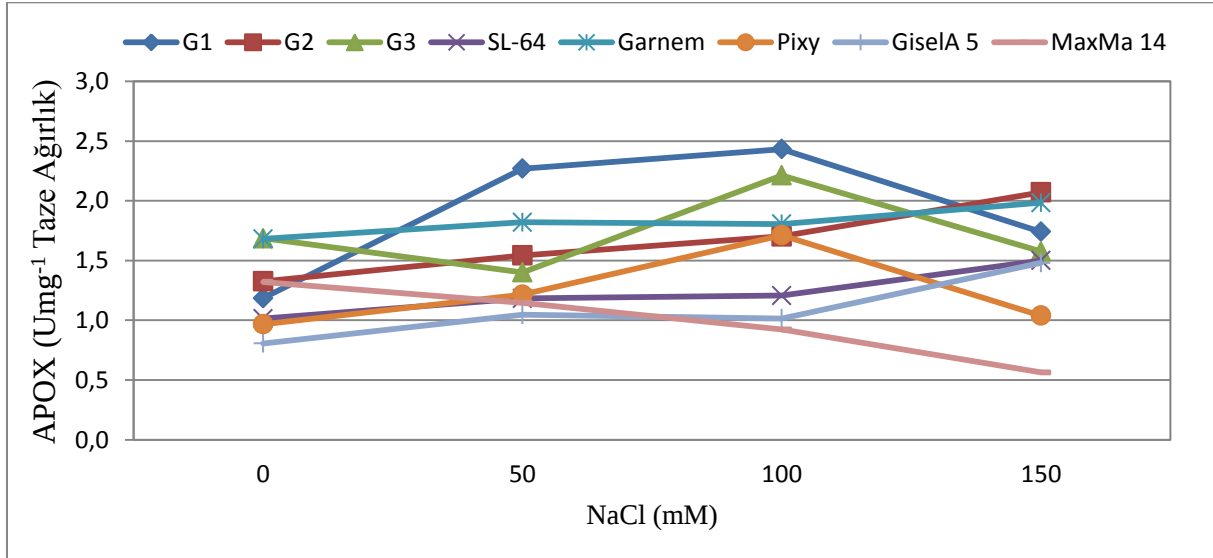
Çizelge 4.29. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun APOX miktarı üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	7,253	1,036	1,036***
Tuz konsantrasyonu	3	1,181	0,394	0,394***
Genotip x Tuz konsantrasyonu	21	4,193	0,200	0,2***

*** : Ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Bitki kloroplastlarında Hidrojen Peroksitin detoksifiye edilmesi için Askorbat Glutasyon döngüsünde anahtar rolü üstlenen Askorbat Peroksidaz tuz stresi ile birlikte MaxMa 14 standart anacı hariç diğer bütün genotiplerde belli bir seviyeye kadar artış göstermiştir. MaxMa14 standart anacında tuz stresi ile birlikte Askorbat Peroksidaz aktivitesinde kontrol grubuna göre azalma olmuştur. Pixy anacı ile G1 ve G3 genotiplerinde 100mM NaCl konsantrasyonundan sonra Askorbat Peroksidaz miktarında düşüş gözlenmiştir. G2 genotipi ile SL-64 ve Gisela 5 standart anacında tuz stresi ile birlikte sürekli artan bir Askorbat Peroksidaz aktivitesi gözlenmiştir. En yüksek Askorbat Peroksidaz miktarı

(2.43 Umg^{-1} T.A) 100 mM NaCl konsantrasyonunda G1 anacında ölçülmüştür. Daha sonra 2.21 Umg^{-1} T.A ile 100 mM NaCl konsantrasyonunda G3 genotipi ve 150 mM NaCl konsantrasyonunda 2.07 Umg^{-1} T.A ile G2 genotipinde ölçülmüştür (Şekil 4.25).



Şekil 4. 25. Tuzluluk stresi altında APOX miktarında meydana gelen değişme.

Askorbat Peroksidaz genellikle bitki hücrelerinin sitosolünde ve kloroplastlarında bulunan Hidrojen Peroksitin uzaklaştırılmasında görev alır. Askorbat Peroksidaz ile Monodehidroaskorbat Redüktaz peroksizomlardaki metabolizma için gerekli olan NAD^+ 'ın NADH 'dan oksidasyonunu ve peroksizomlardan sızabilecek olan H_2O_2 'nin inaktivasyonunda rol alır (Uysal, 2012).

Askorbat peroksidaz miktarı bitki bünyesindeki Askorbatın eksikliğinde değişkenlik göstermektedir. Yüksek orandaki Askorbat miktarı antoksidant sistemini ayarlamakta, kloroplast ve diğer hücre içeriklerini ve oksidatif zararlanmaya karşı korumaktadır (Asada, 1992). Tatlı patatesten yapılan bir çalışmada 450 mM NaCl uygulamasının 24 ve 48 saatin sonunda APOX miktarında tuza tolerant çeşitlerde hassas çeşitlere göre APOX miktarının daha fazla arttığı bildirilmiştir (Lin ve Pu, 2010). Yaşar ve ark., (2006) kavun bitkisinde yaptıkları bir çalışmada tuz stresi ile birlikte APOX aktivitesi miktarında artış ve bu artışın tuza tolerant çeşitlerde hassas çeşitlere göre fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca tuz stresi ile birlikte karpuzda (Yaşar ve ark., 2008), kabakta (Zhu ve ark., 2004), pirinçte (Lee ve ark., 2001) APOX miktarının arttığı bildirilmiştir. Buğday bitkisinin sürgünlerinde APOX miktarının arttığı kök kısmında ise azaldığı Hernandez ve ark., (2000) tarafından

bildirilmiştir. Aynı şekilde marul bitkisinde tuz stresi ile birlikte APOX miktarının arttığı bildirilmiştir (Eraslan ve ark., 2007).

4.9.5. Tuzluluk stresinin glutatyon redüktaz (GR) üzerine etkisi

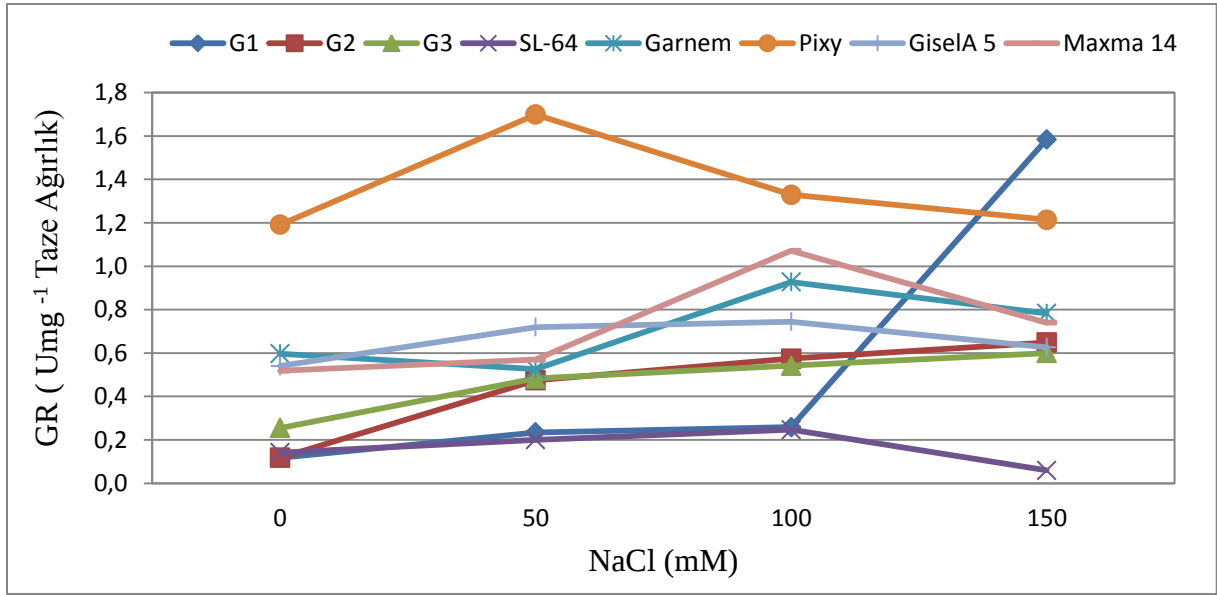
Okidatif stres sonucunda reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu zararlanmanın azaltılmasında serbest radikallerin detoksifikasyonunda rol alan enzimlerden birisi Glutatyon Redüktazdır. GR aktivitesi üzerine Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonunu interaksyonunun etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4. 30).

Çizelge 4. 30. Genotip, Tuz konsantrasyonu ve Genotip x Tuz konsantrasyonu interaksyonunun GR aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	KT	F
Genotip	7	10,628	1,518	24,6***
Tuz konsantrasyonu	3	0,128	0,043	0,69**
Genotip xtuz konsantrasyonu	21	5,12	0,244	3,9***

, *: Ortalamalar arasındaki fark sırasıyla $P \leq 0.05$, $P \leq 0.005$ seviyesinde önemli.

Glutatyon Peroksidaz aracılığıyla hidrojen peroksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan Okside glutatyonu (GSSG) hücre içerisinde NADPH varlığında Glutatyona (GSH) katalizleyen ve hücre içerisinde GSH/GSSG miktarını korumaya çalışmaktadır (Meister, 1988; Saydam ve ark., 1997). Tuz stresi altındaki en yüksek GR miktarı *P. microcarpa* genotipleri ile standart anaçlarda baktığımızda en yüksek GR miktarı ($1.699 \text{ Umg}^{-1}\text{T.A}$) 50 mM NaCl ortamında Pixy anacında gözlenmiştir. Pixy anacının genel olarak GR aktivitesinin diğer bütün çeşitlerden yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak Pixy anacında 50 mM NaCl 'den daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında GR aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. *P. microcarpa* genotiplerinde tuz stresi ile birlikte GR aktivitesinde sürekli bir artış olmasına rağmen standart anaçlarda belli bir tuz seviyesinden sonra GR aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. G3 ve G2 genotiplerinin GR aktiviteleri benzer bir seyir göstermiştir. MaxMa 14, Garnem ve Gisela 5 anaçlarında GR aktivitesi 100 mM NaCl ortamından sonra düşüş göstermiştir. G1 genotipinin GR aktivitesi kontrol gurubuna göre 100 mM NaCl'dan sonra artmaya başlamış ve 150 mM NaCl'de GR aktivitesi çok yüksek çıkmıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Tuzluluk stresi altında GR miktarında meydana gelen değişme.

Okside glutatyonun indirgenmesinde rol alan Glutatyon Redüktazın tuz stresi altında miktarının arttığı diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmektedir (Gossett ve ark., 1996; Lin ve Kao, 2000; Karanlık, 2001). Lechno ve ark., (1997) hıyarda yaptıkları bir çalışmada tuz uygulamasının GR aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Ertürk ve ark., (2007) Gisela 5 kiraz anacında, Azavedo ve ark., (2006) mısırdaki, Wei ve ark., (2009) patlıcanda GR aktivitesinin tuz stresi ile birlikte artış gösterdiği, Gosset ve ark., (1994) pamukta, Hernandez ve ark., (1995), Karanlık (2001) bezelyede ve buğdayda tuzlu koşullarda tuza dayanıklı bitkilerin hassas olanlara göre daha fazla GR aktivitesine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tuzluluk tarım alanlarında karşılaşılan en önemli sorunlardan birisini oluşturmaktadır. Özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde sıcaklığın yüksek olmasından dolayı su evaporasyon ile kaybolurken, evaporasyon sırasında su ile birlikte taşınan tuz toprak yüzeyine yakın kısımlara veya toprak yüzeyine taşınır. Toprak yüzeyinde biriken bu tuzlar özellikle tarım yapılan arazilerin kalitesini düşürmekte ve ürün verimliliğini azaltmaktadır. Ülkemiz topraklarında da tuzluluk tarımda önemli bir sorun teşkil etmektedir.

Tuzlu toprakların ıslahı her zaman ekonomik ve pratik olmadığı için, son yıllarda tuza dayanıklı bitki tür ve çeşitlerinin yetiştirilmesi daha cazip görülmektedir. Tuzlu topraklara dayanıklı bitki türlerinin kullanılması ve ekonomik açıdan bu alanların üretime kazandırılması büyük önem arz etmektedir.

Sert çekirdekli meyveler tuza hassas bitkiler olarak sınıflandırılmaktadır (Greenways ve munns., 1980). Sert çekirdekli meyve fidanlarının üretilmesinde uzun yıllar tohumdan çoğaltılan çöğür veya yozlar anaç olarak kullanılmıştır. Ancak küresel ısınma, değişen iklim şartları ve ekolojik şartlara nispeten uygun olmadıklarından ve heterozigot genetik yapılarından dolayı homojen anaç üretimini sağlamamalarından ve klonal çoğaltımları zor olduğundan bu anaçlar tercih edilmemektedir. Bu sebepten dolayı sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde hastalıklara dayanıklı, bodurluk sağlayan, kurak ve tuzlu topraklara adapte olabilen klonal anaçlara talep artmıştır. Çünkü meyvecilikte öncelik sürdürülebilir, kaliteli ve yüksek verim elde etmektir. Ancak Günümüz şartlarında sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde kullanılan anaçlar bazı özellikleri ile ön plana çıkmış olmalarına rağmen istenmeyen olumsuz özelliklere de sahiptirler ve bu nedenle üstün özelliklere sahip yeni anaçlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada naçlık potansiyelleri bakımından öne çıkan ve Güneydoğu Anadolu'dan seçilmiş olan *Prunus microcarpa*'nın üç genotipinin (G1, G2, G3) tuzluluğa dayanıklılık/tolerans durumları tuzluluğa tolrans bakımından önemli olan bazı kriterler gözönüne alınarak bazı standart anaçlarla (MaxMa 14, Gisela 5, Pixy, SL-64 ve Garnem) ex vitro ve in vitro şartlarda karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Araştırmada in vitroda uygulanan tuzluluk stresinin eksplant başına oluşan sürgün sayısını bütün genotiplerde azalttığı ve genotiplerin tuzluluk stresine karşı gösterdikleri tepkinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Tuz uygulamasında 150 mM NaCl içeren ortamda

en az sürgün G3 genotipine MaxMa14 standart anacında görülmüştür. Tuz stresi ile birlikte sürgün sayısında en fazla düşüş %87 ve %86 ile sırasıyla G2 ve MaxMa 14 te gözlenmiştir. Bunları sırasıyla G3, G1 ve Garnem izlemiştir. SL-64 anacında kontrol gurubunda dahi sürgün sayısı (çoğalma) az olduğundan tuz içeren ortamda sürgün sayısında azalma yüzdesi düşük çıkmıştır (%61.2). Oluşan sürgünler kalitesiz ve kullanışsız olmuştur. Tuz stresi altında sürgün sayısındaki en düşük azalma oranı Pixy anacında olmuştur (%52). *In vitro*da tuz uygulamasının Gisela 5 ve MaxMa 14 kiraz anacı (Ertürk ve ark., 2007), GF-677 ve Nemared şeftali anacı, (Sotiropoulos ve ark., 2006a) ve OHF-333 armut anacının (Sotiropoulos ve ark., 2006b) sürgün sayısını azalttığı bildirilmiştir.

Sürgün uzunluğu bakımından değerlendirildiğinde tuz konsantrasyonuna bağlı olarak bütün genotiplerde ortalama sürgün uzunlukları olumsuz etkilenmiştir. En düşük sürgün uzunluğu değerleri 150 mM NaCl konsantrasyonda elde edilmiştir. Kontrol gurubuna göre 150 mM NaCl içeren ortam üzerinde Gisela 5 %28.5, Pixy %33.3, G2 %43.3, Garnem %43.6, G3 % 48.4 ve G1 de %54.8 MaxMa 14 te %63.8 SL-64 te %65.4 oranında daha kısa sürgünler elde edilmiştir. Tuzluluk stresinin sürgün uzunluğu üzerine olumsuz etkisiyle ilgili benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Tuzluluk stresine maruz bırakılan Colt (Arıcı ve Eraslan., 2012), Gisela 5 (Ertürk ve ark., 2007), CAB-6P (Chatzissavvidis ve ark.,2008) kiraz, armut (Matsumotu ve ark., 2006), BA- 29 ayva anacı (Sotiropoulos ve ark., 2006b) ve MM-106 elma (Bahmani ve ark., 2012) anaçlarının sürgünleri daha kısa kalmıştır.

Araştırmada kullanılan bütün genotiplerin yeşil aksamı tuz stresinden etkilenmiştir. Yeşil aksamda tuz stresi ile birlikte en fazla görsel zararlanma sırasıyla G1, G3, Pixy ve G2' de gözlenmiştir. *P. microcarpa* genotiplerinin yeşil aksamında görülen bu zararlanma *P. microcarpanın* stres koşullarında yapraklarını dökerek stresten kaçma yoluna başvurduğundan kaynaklanıyor olabilir. Çünkü normal şartlarda *Prunus microcarpa* yarı kurak ve kurak yerlerde yetişen ve erken dönemde yaprak döken bir bitkidir. Tuzluluk stresi altında yeşil aksamda meydana gelen zararlanma Turhan ve Eriş., (2007) tarafından çilek (*Fragaria xananassa* cvs. *Camarosa* ve *Chandler*) çeşitleri için, Correia (2010) tarafından genç keçiboynuzu anaçları için bildirilmiştir.

Bitkilerin tuzluluk stresine karşı gösterdikleri tepkilerden birisi de yapraktaki oransal su içeriğinin azalmasıdır (Sivritepe, 2002). Bu çalışmada kullanılan bütün genotiplerde

tuzluluk stresi ile birlikte yapraklardaki oransal su içeriği (RWC) azaldığı görülmüştür. Yaprak oransal su içeriği bakımından en fazla düşüş %53.37 ile G3 genotipinde olmuştur. *P. microcarpa* genotipinin diğer genotiplere oranla büyümeleri yavaş olan ve bu nedenle birim doku başına daha yüksek tuz konsantrasyonuna maruz kalan *P. microcarpa* genotiplerinin hızlı büyüyen diğer genotiplere göre daha fazla zararlanmış olmaları dikkat çekmektedir. Bolat ve ark., (2006) yapmış oldukları bir çalışmada Marianna GF 8-1 ve Myrobolan B anacında tuz stresi ile birlikte yapraktaki oransal su içeriğinin azaldığı ancak Pixy anacında bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir. Aynı şekilde tuz stresi ile birlikte zeytin yapraklarında RWC miktarının azaldığı Chantzoulakis, (2005) tarafından rapor edilmiştir. Yaprakta RWC miktarının fazla olması dokuları toksik etkilere karşı koruma sağlamaktadır (Kozłowski, 2002).

Klorofil a ve klorofil b miktarları hem *in vitro* hem *ex vitro* koşullarda tuz konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak azalmıştır. Hem *in vitro* hem de *ex vitro* koşullarda tuz stresi ile birlikte klorofil a miktarında en fazla düşüş sırasıyla G1 ve G3 genotiplerinde olmuştur. Klorofil b miktarı bakımından en fazla düşüş MaxMa 14, Gisela 5 ve G1 genotiplerinde gözlenmiştir. *Ex vitro* koşullarda 50 mM'lık NaCl konsantrasyonunda G1 ve G2 genotiplerinin klorofil a miktarı kontrol grubuna oranla artmıştır. Gisela 5, Colt ve CAB- 6P kiraz anaçlarında (Ertürk ve ark., 2007; Arıcı ve Eraslan., 2012; Chatzissavvidis, ve ark., 2008). Marianna GF 8-1, Myrobolan B erik anaçlarında (Bolat ve ark., 2006), bademde (Ranjbarfordoei ve ark., 2006) tuz stresi ile birlikte klorofil miktarlarının düştüğü rapor edilmiştir.

Tuzluluk stresi ile birlikte Lipid Peroksidasyonundaki değişiklikler hücre zarlarında meydana gelen zararın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla Lipid Peroksidasyonu da değişme göstermiştir. G1 genotipi ile Garnem anacında *in vitro* koşullarda tuzluluk stresi altında MDA miktarı düşüş gösterirken *ex vitro* koşullarda tuzluluk stresi altında MDA miktarı düzenli bir artış göstermiştir. G2 genotipi, Pixy, MaxMa14, SL-64 ve Gisela 5 anaçlarında *in vitro* koşullarda 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra MDA miktarlarında düşüş olmuştur. Ancak *ex vitro* koşullarda MaxMa14 ve Gisela 5 anacında tuz stresi ile birlikte MDA miktarında sürekli bir artış olmuştur. G3 genotipinde ise hem *in vitro* hem *ex vitro* koşullarda MDA miktarında düzenli bir artış söz konusu olmuştur. Tuzluluk stresi ile birlikte Gisela 5 kiraz anacında MDA miktarının arttığı Ertürk ve ark., (2007) tarafından rapor edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında yapılan *in vitro* ve *ex vitro* denemelerden elde edilen Prolin miktarlarındaki değişme miktarları benzer bulunmuştur. Bütün genotiplerin tuzluluk stresi ile birlikte Prolin miktarında artış olduğu gözlenmiştir. Hem *in vitro* hem *ex vitro*da tuzluluk stresi altında Prolin miktarında en fazla artış G2 [*in vitro* (%276.63) *ex vitro* (% 157.95)] ve G1 [*in vitro* (%319.29, *ex vitro* (%57.60)] genotiplerinde gözlenmiştir. G3 genotipinde hem *in vitro* hem *ex vitro*da tuzluluk stresi altında Prolin miktarı artmış fakat bu artış G1 ve G2’i genotiplerinkinden daha az olmuştur. Prolin miktarı verileri incelendiğinde *in vitro* koşullarda tuzluluk stresi altında Prolin miktarındaki artış *ex vitro* koşullarda tuzluluk stresi altındaki bitkilerinkinden fazla çıkmıştır. Gisela 5 anacında *in vitro* koşullarda tuz stresi ile birlikte 150 mM NaCl konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %216,30 luk bir artış olur iken, *ex vitro* koşullarda bu artış ancak %26.64 olmuştur. Her iki uygulamada da tuzluluk stresi ile birlikte Prolin miktarında en az artış Pixy anacında gözlenmiştir [*in vitro* (%16.38, *ex vitro* (%13.88)]. Ancak Ertürk ve ark.(2007) Gisela 5 kiraz anacı üzerine yaptıkları bir çalışmada 50, 100 ve 150 mM lık tuz uygulamasının sonucunda tuza tepki olarak Prolin birikiminin olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise Gisela 5 anacında Prolin miktarında artış olmuştur ancak bu artış *P. microcarpa* genotiplerinin Prolin miktarlarındaki artış kadar olmamıştır. Khedr ve ark. (2003) Prolinin tuz stresine cevap veren proteinleri teşfik ettiği ve bitkilerin tuza adaptasyon sağlamasında rol aldığını bildirmişlerdir.

Tuz stresine dayanıklı bitkilerde Prolin miktarı genellikle tuz stresine hassas olan bitkilerinkinden daha yüksek bulunmaktadır (Cushman ve ark., 1990; Ashraf ve Foolad., 2007). Tuz stresine hassas ve tuz stresine dayanıklı hıyar çeşitlerinde yapılan çalışmada tuza dayanıklı bitkilerde Prolin miktarı daha fazla çıkmıştır (Zhu ve ark., 2008). Benzer sonuçlar tuza toleran IR 28 ve tuza hassas Pokkari pirinç çeşidinde ve tuza hassas CSF 18 ve tuza toleran CSF 20 sorgum çeşitlerinde de bildirilmiştir (de Lacerda ve ark., 2003; de Lacerda ve ark., 2005; Demiral ve Türkan, 2005). Tuza toleran bitkilerin tuz stresi koşullarında Prolinin dışında iyon homeostasisi, hormonal sistem ve antioksidantlar gibi başka savunma mekanizmaları sayesinde zararlanmayı azalttıkları bildirilmiştir (Zöhr ve ark., 2005; Neto ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2006).

Bitkiler üzerinde normal koşullarda yapılan çalışmalarda üretilen reaktif oksijen türlerinin düşük konsantrasyonlarının belirlendiği (Polle, 2001) ancak tuz, kuraklık ve sıcaklık gibi birçok çevresel stres koşullarında reaktif oksijen türlerinin üretiminin teşfik edildiği bildirilmiştir (Yıldız ve ark., 2010). Stres sonucu oluşan reaktif oksijen türleri bitkilerde

metabolik dengeyi bozmakta, proteinler, lipidler ve nükleikasilere zarar vermektedir (Davies, 1987; Fridovich, 1989).

Bu çalışma kapsamında reaktif oksijen türlerinden Hidrojen Peroksit miktarı incelenmiştir. Hem in vitro hem ex vitro koşullarda tuzluluk stresi altında bütün genotiplerin yapraklarında Hidrojen Peroksit miktarında artış olmuştur. Ancak H₂O₂ miktarındaki artış ex vitro koşullarda in vitroya göredaha fazla olmuştur. Her iki uygulamada da Hidrojen Peroksit miktarında en fazla artış G3, G1 ve Gisela 5 genotiplerinde gözlenmiştir. Tuzluluk stresi altında birlikte Hidrojen Peroksit miktarındaki artış, pirinç (Fadzilla ve ark, 1997) vedut (Harinasut ve ark, 2003) içinde bildirilmiştir.

Bitkiler stres altında oluşan reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini hafifletmek veya ortadan kaldırmak için bir takım antioksidatif savunma mekanizmalarını geliştirmişlerdir. Antioksidatif savunma sistemleri içerisinde SOD,POX, CAT, APOX ve GR gibi antioksidatif enzimler stres altında bitkilerde oluşan reaktif oksijen türlerinin zararlı etkisini ortadan kaldırmada görev alırlar (Noctor ve Foyer, 1998).

Antioksidant savunma sisteminde SOD enzimi stres faktörlerinde oluşan reaktif oksijen türlerinin toksik etkisine karşı ilk tepkiyi veren enzimdir(Gill ve Tuteja., 2010) SOD enzimi O₂⁻ süper oksiti H₂O₂ ve O₂ ye dönüştürür. Bu çalışma kapsamında yapılan tuz uygulamasının *P. micrcarp* genotipleri ile standart sert çekirdekli meyve anaçlarında SOD miktarını hem in vitro hem ex vitro koşullarda değiştirdiği gözlenmiştir. SOD aktivitesi tuz stresi ile birlikte en fazla G2 ve G3 genotiplerinde artmıştır. Sert çekirdekli meyve türleri için kullanılan standartanaçlarda özellikle 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra SOD miktarında düşüş gözlenmiştir. Hem in vitro hem ex vitro koşullarda MaxMa 14 anacında kontrol gurubu ile kıyaslandığında tuz stresi ile birlikte SOD miktarında düşüş gözlenmiştir. SOD miktarlarındaki artış G2 ve G3genotiplerinden sonra en fazla Pixy ve Garnem genotiplerinde gözlenmiştir.

Tuz uygulamasıyla birlikte SOD mikaındaki artış birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir(Liang, 1999; Hernandez ve ark., 1999; Parida ve ark., 2004).Ancak Lechno ve arkadaşları (1997) tuz uygulamasının kabak bitkisinde CAT ve GR miktarını artırmasına rağmen SOD aktivitesini etkilemediğini bildirmişlerdir. Gisela 5 anacı üzerine yapılan bir çalışmada tuz stresi ile birlikte SOD miktarının arttığı bildirilmiştir (Ertürk ve ark, 2007).

Aynı şekilde dutta tuzluluk stresi ile birlikte SOD miktarında artış gözlenmiştir (Harinasut ve ark., 2003).

Antioksidant bir enzim olan Katalaz (CAT) SOD enzimi tarafından parçalanmış O_2^- radikalleri sonucu ortaya çıkan Hidrojen Peroksit (H₂O₂) suya ve moleküler oksijene dönüşmesinde rol almaktadır (Dionisio-see ve Tobita, 1998; Kuşvuran, 2010). Tuzluluk stresi tabi tutulan kavun bitkisinde tuza tolerans bitkilerde CAT birikiminin daha fazla olduğu ve tuzluluğa toleransın belirlenmesinde bir parametre olabileceği bildirilmiştir (Demiral ve Türkan, 2005).

Bu çalışma kapsamında incelenen antioksidant enzim parametrelerinden biri olan CAT aktivitesi (miktarı) tuzluluk stresi ile bütün genotiplerde değişme göstermiştir. G2, G1 ve Garnem genotiplerinde hem in vitro hem ex vitro koşullarda tuzluluk stresi ile birlikte bitkilerde biriken CAT miktarı kontrol grubu bitkilere göre daha yüksek çıkmıştır. Pixy anacında in vitro koşullarda tuzluluk stresi ile birlikte azalan CAT miktarı ex vitro koşullarda yüksek çıkmıştır. Tuzluluk stresi ile birlikte in vitro koşullarda bazı genotiplerde 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra CAT miktarında azalma gözlenirken ex vitro koşullarda bu azalma 50 mM NaCl konsantrasyonundan sonra gözlenmiştir. MaxMa 14 anacında in vitro koşullarda 50 mM NaCl konsantrasyonunda artan CAT enzim miktarı 100 mM dan sonra azalmaya başlamıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada CAT enzim miktarının Gisela 5 kiraz anacında tuz stresi ile birlikte artış gösterdiği bildirilmiştir (Ertürk ve ark., 2007). Ancak pamuk (*Gossypium hirsutum*) bitkisinde, pirinç bitkisinin yapraklarında, *C. maritima* fidelerinde tuzluluk stresinin artışı ile birlikte CAT miktarında azalma olduğu bildirilmiştir (Gosset ve ark., 1994; Lee ve ark., 2001; Amor ve ark., 2007).

Peroksidaz hem köklerde, hem yapraklarda bulunan antioksidant savunma sisteminde görev alan bir enzimdir. Bitki kloroplastlarında Hidrojen Peroksiti uzaklaştıran (parçalayan) başlıca enzimlerden birisidir (Asada ve Takahashi, 1987). Tuza toleranslı bitki türlerinde POX aktivitesindeki artışın tuz stresinin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruma sağladığı gözlenmiştir (Scalet, 1995).

Bu çalışmada Peroksidaz aktivitesi bakımından genotipler arasında farklılıklar bulunmuştur. Özellikle G2 ve G1 genotiplerinde hem in vitro hem ex vitro koşullarda tuzluluk stresi ile birlikte Peroksidaz miktarında artış gözlenmiştir. SL 64 anacında Peroksidaz miktarında hem in vitro hem ex vitro koşullarda 50 mM NaCl konsantrasyonundan sonra azalma başlamıştır. Gisela 5 anacının Peroksidaz miktarı in vitro koşullarda tuz stresi ile birlikte sürekli artarken ex vitro koşullarda 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra

azalmaya başlamıştır. Pixy anacının Peroksidaz miktarında hem in vitro hem ex vitro koşullarda 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra azalmalar kaydedilmiştir. Ertürk ve ark (2007) tuz stresi ile birlikte Gisela 5 kiraz anacında POX miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Askorbat peroksidaz yüksek bitkiler ve bir çok organizmada reaktif oksijen türlerine karşı gerçekleştirilen savunmada önemli rol alan antioksidatif enzimlerden birisidir (Büyük ve ark., 2012) Bitki hücrelerinin çoğunlukla sitosolünde ve kloroplastlarında bulunan stres sonucu oluşan hidrojen peroksiti suya indirger.

Bu çalışmada kullanılan genotiplerin hepsinde tuz stresi ile birlikte APOX miktarı önemli düzeyde etkilenmiştir. MaxMa 14 genotipi hariç bütün genotiplerde 100 mM NaCl konsantrasyonuna kadar APOX miktarlarında bir artış söz konusu olmuştur. Yüz (100) mM NaCl konsantrasyonundan sonra G2, Garnem, SL-64 ve Gisela 5 genotipinde APOX miktarındaki artış 150 mM NaCl ortamında yükselmeye devam etmiştir. Ancak G3, G1 ve Pixy genotiplerinde 100 mM NaCl ortamından sonra APOX miktarlarında azalma gözlenmiştir. MaxMa 14 anacında ise tuz stresi ile birlikte APOX miktarında sürekli bir azalma olmuştur. Daha önce yapılan benzer çalışmalarda tuz stresi ile birlikte APOX miktarında artış olduğu bildirilmiştir. Dut ve Gisela 5 kiraz anacında 50, 100 ve 150 mM tuz uygulamasının yapraklardaki APOX miktarını arttırdığını bildirilmiştir (Harinasut ve ark., 2003; Ertürk ve ark 2007). Yaşar ve ark (2006) kavunda yaptıkları bir çalışmada tuz stresi ile birlikte APOX miktarında artış olduğu ve APOX miktarındaki artışın tuza dayanıklı çeşitlerde tuza hassas olan çeşitlerden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada G2 genotipinde tuzluluk stresi ile birlikte APOX miktarı sürekli bir artış göstermiştir.

Tuzluluk stresine karşı savunma mekanizmasında rol alan antioksidatif enzimlerden birisi de Glutasyon Redüktazdır. Stres koşullarında Okside Glutasyonu, Glutasyon Redüktaz tarafından Glutasyona indirgenir. Glutasyon antioksidantı birçok reaktif oksijen türünü azaltmaktadır. Stres koşullarında Glutasyon redüktaz miktarında artış olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Creissen ve ark., 1994 ; Parida ve ark., 2004).

Tuzluluk stresi altındaki Glutasyon Redüktaz miktarında bu çalışmada kullanılan genotiplerin hepsinde kontrol grubuna göre artışlar olmuştur. Hem in vitro hem ex vitro koşullarda Glutasyon Redüktaz miktarında özellikle 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra azalmalar olmuştur. Ancak G1 ve G3 genotiplerinde hem in vitro hem ex vitro koşullarda daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında bile GR miktarı artmıştır. GR miktarı G2 genotipinde in vitro koşullarda 100 mM NaCl konsantrasyonundan sonra azalırken ex vitro koşullarda artış göstermiştir. Lechno ve ark. (1997) tuz stresinin kabak bitkisinde GR aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Esfandiari ve ark. (2007) Alvand ve Sardary buğday çeşidinde tuz uygulaması

sonucu Sardary buğday çeşidinde 50 mM NaCl uygulamasındakontrol gururubuna göre artış göstermiş, daha yüksek NaCl konsantrasyonlarda(100, 150 ve GR miktarında azalmalar bildirilmiştir. Alvandçeşidinde ise artan NaCl konsantrasyonu ile birlikte (50, 100, 150 ve 200 mM) GR miktarında azalma olduğu rapor edilmiştir.

Sonuçlar toplu olarak incelendiğinde hem in vitro hem ex vitro koşullarda uygulanan tuzluluk stresi,*P. microcarpa* genotipleri ve günümüzde çok kullanılan bazı sert çekirdeklimeyve anaçlarında ciddi hasarlar meydana getirmiştir. Ancak genotipler arasındaki gelişme farklılıkları genotiplerin tuzdan zararlanma oranlarını da etkilemiştir. Özellikle çalimsı formda olan *Prunus microcarpa* genotiplerinin (G1, G2, G3) gelişmeleri diğer standart anaçlardan yavaş olmaktadır. Bu yüzden bu genotiplerde birim doku alanına düşen tuz miktarı fazla olduğundan yeşil aksamda görsel zararlanmanın daha şiddetli olduğu kanaatine varılmıştır. Bir diğer neden *Prunus microcarpa* genotiplerinin stres koşullarında yapraklarını dökerek stresten kaçma mekanizmasına başvurmaları olabilir. Başta antioksidant enzim (SOD, CAT, POX, APOX ve GR) aktiviteleri olmak üzere incelenen bütün parametreler dikkate alındığında tuzluluk stresine tolerans bakımından sırasıyla *P. microcarpa*, Pixy, MaxMa 14, Garnem genotiplerinin öne çıktığı görülmektedir. Çalışma kapsamında kullanılan *P. microcarpa* genotiplerinin çalışma kapsamında kullanılan standart anaçlara göre tuzluluk stresine daha toleranslı veya en az bu anaçlar kadar tuzluluk stresine toleranslı oldukları sonucuna varılmıştır. Özellikle G2 genotipini diğer genotipler ile kıyaslandığında tuz stresine daha toleranslı olduğunu söylemek mümkündür.

Sonuç olarak bu çalışma kapsamında kullanılan ve ülkemiz orijinli olan *P. microcarpa* genotipleri kısmen tuzlu topraklarda veya sulama suyunun kısmen tuzlu olduğu yerlerde en az diğer standart anaçlar kadar rahat bir şekilde kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- Abraham, E., Rigo, G., Szekely, G., Nagy, R.,Koncz, C., Szabados, L., 2003. Light Dependent Induction of Proline Biosynthesis by Absciscic Acid and Salt Stress is Inhibitedby Brassinosteroid in Arabidopsis. *Plant Mol. Biol.* 51: 363–372.
- Acosta, M.,Rodríguez López, J.N.,Pedreño, M.A., 2002.Plant Peroxidases: Biochemistry and Physiology : VI International Plant Peroxidase Symposium Proceedings, Murcia , Spain
- Agastian, P., Kingsley, S.J., Vivekanandan, M., 2000. Effect of Salinity on Photosynthesis and Biochemical Characteristics in Mulberry Genotypes. *Photosynthetica*,38: 287–290.
- Akça, Y.,Samsunlu, E., 2012. The Effect of Salt Stress on Growth, Chlorophyll Content, Proline and Nutrient Accumulation, and K/Na Ratio in Walnut.*Pak. J. Bot.*, 44(5): 1513-1520.
- Aktaş, H., 2002. Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu veKalıtımı. Çukurova. Üni. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, Adana, 105 sayfa.
- Amor, N. B., Jimenez, A., Megdiche, W., Lundqvist, M., Sevilla, F., Abdelly, C., 2007. Kinetics of the Anti-Oxidant Response to Salinity in the Halophyte, *Cakile Maritima*. *J. Integr Plant Biol.* 49 (7): 1-11.
- Aranda, R.R., Syvertsen, J.P., 1996. The Influence of Foliar Applied Urea Nitrogen and Salina Solutions on Net Gas Exchange of Citrus Leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121:501-506.
- Arıcı, E.Ş., 2008. Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü ile Çoğaltılması. *S.D.Ü Ziraat Fak. Dergisi*.3(1):19-23.
- Arıcı, Ş.E., Eraslan, F., 2012. In vitro Koşullarda Colt (*Prunus avium* x *Prunus pseudocerasus*) KirazAnacının Sürgün Gelişimi, Klorofil ve Mineral Madde İçeriğiÜzerine Tuz

- Stresinin Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 7 (2): 41-48.
- Asada, K.,1992. Ascorbate Peroxidase a Hydrogen Peroxide-Scavenging Enzyme in Plants. *Physiol Plantarum* 85: 235-241.
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206–216
- Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Braga De Abreu, C.E., Gomes-Filho, E., 2006. Effect 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.
- Bahmani,R.,Gholami, M., Mozafari, A.A., Alivaisi, R., 2012. Effects of Salinity on *In vitro* Shoot Proliferation and Rooting of Apple Rootstock MM.106. *World Applied Sciences Journal* 17 (3): 292-295.
- Banuls, J., Primo-Millo, E.,1992. Effects of Chloride and Sodium on Gas Exchange Parameters and Water Relations of Citrus Plants. *Physiol. Plant.*, 78: 238-246.
- Bates, L.S.,Waldren, R.P.,Teare, I.D., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Bayat, R.A., Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., Üstün, A.S., 2014. Tuz Stresi Altındaki Genç Kabak (*Cucurbita pepo* L. ve *C. moschata* Poir.) Bitkilerine Uygulanan Prolin'in, Antioksidatif Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 1(1): 25–33.
- Benavides, M.P., Marconi, P.L., Gallego, S.M., Comba, M.E., Tomaro, M.L., 2000. Relationship Between Antioxidant Defence Systems and Salt Tolerance in *Solanum Tuberosum*. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 273–278.
- Bernstein, L., 1980. Salt Tolerance of Fruit Crops.[Http://Www.Ars.USda.Gov/Sp2](http://www.Ars.USda.Gov/Sp2).
- Blum, A.,1986. “Breeding Crop Varieties for Stress Environments”, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2: 199-237.

- Bolat, I., Kaya, C., Almaca, A., Timucin, S., 2006. Calcium Sulfate Improves Salinity Tolerance in Rootstocks of Plum. *Journal of Plant Nutrition*. 29: 553–564.
- Bor, M., Özdemir, F., Türkan, I., 2003. The Effect of Salt Stress on Lipid Peroxidation and Antioxidants in Leaves of *Sugar Beet Beta Vulgaris L.* and *Wild Beet Beta Maritima L.* *Plant Science* 164: 77- 84.
- Bowler, M., Montagu, V., Inze, D., 1992. Superoxide Dismutase and Stress Tolerance, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 43:83-116.
- Büyük, İ., Aydın, S.S., Aras, S., 2012. Bitkilerin Stres Koşullarına Verdiği Moleküler Cevaplar. *Türk Hijyen Den Biyol Derg*, 69(2): 97-110.
- Charles, S.A., Halliwell B., 1980. Effect of Hydrogen Peroxide on Spinach (*SpiNaCl oleraceae*) Chloroplast Fructose Biphosphatase, *Biochem. J*, 189: 373-376.
- Chartzoulakis, K.S., 2005. Salinity and Olive: Growth, Salt Tolerance, Photosynthesis and Yield. *Agricultural Water Management* 78: 108–121.
- Chatzissavvidis, G.V., Papadakis, I., Therios, I., 2008. Effect of NaCl and CaCl₂ on the Antioxidant Mechanism of Leaves and Stems of The Rootstock CAB-6P (*Prunus cerasus L.*) under In vitro Conditions. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 95:37–45
- Creissen, G.P., Edwards, E.A., Mullineaux, P.M., 1994. Glutathione Reductase and Ascorbate Peroxidase. In: Foyer CH. Mullineaux PM eds. *Causes of PhotoOxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants*. Boca Raton: CRC Press, 34: 1-364.
- Correia, P.J., Gama, F., Pestana, M., Martins-Loução, M.A., 2010. Tolerance of young (*Ceratonia siliqua L.*) Carob Rootstock to NaCl *Agricultural Water Management* 97: 910-916.
- Corwin, D.L., Lesch, S.M., 2005. Apparent Soil Electrical Conductivity Measurements in Agriculture *Computers and Electronics in Agriculture*, 46: 11-43.
- Cushman, J. C., Derocher, E. J., Bohnert, H. J., 1990. Gene Expression During Adaptation to Salt Stress, *Environmental Injury to Plants*. Academic Press Inc., San Diego, California, 137-171.

- Çakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Bean Leaves. *Plant Physiol.* 98: 1222-1227.
- Çakmak, I., 1994. Activity of Ascorbate-Dependent H₂O₂ Scavenging Enzymes and Leaf Chlorosis are Enhanced in Magnesium and Potassium Deficient Leaves, But not in Phosphorus - Deficient Leaves. *J. Exp. Bot.*, 45:1259- 1266.
- Callesen, O., 1998. Recent Developments in Cherry Rootstock Research. *Acta hort.* 468:219-228.
- Chaabounia, C.A., Mosbah, B.A., Maalej, M., Gargouri, K., Bouzid, G.R., Drira, N., 2010. In vitro Salinity Tolerance of Two Pistachio Rootstocks: *Pistacia Vera L.* and *P. Atlantica Desf.* *Environmental and Experimental Botany* 69: 302–312
- Çırak, C., Esenal, E., 2006. Soyada Kuraklık Stresi. *Omü Zir. Fak. Dergisi*, 21(2): 231-237.
- de Lacerda, C.F., Cambraia, J., Oliva, M.A., Ruiz, H.A., 2005. Changes in Growth and in Solute Concentrations in Sorghum Leaves and Roots During Salt Stress Recovery. *Environ. Exp. Bot.*, 54:69-76.
- de Lacerda, C.F., Cambraia, J., Oliva, M.A., Ruiz, H.A., Prisco, J.T., 2003. Solute Accumulation and Distribution During Shoot and Leaf Development in two Sorghum Genotypes under Salt Stress. *Environ. Exp. Bot.*, 49: 107-120.
- Dasgan, H.Y., Aktas., K, Abak., I, Çakmak., 2002. Determination of Screening Techniques to Salinity Tolerance in Tomatoes and Investigation of Genotype Responses. *Plant Sci.*, 163: 695-703.
- Davies, K.J.A., 1987. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals. I. General aspects *J. Biol. Chem.*, 262: 9895-9901.
- Değer, Ö., 2010. Biber Fidelerinde Yapraktan ve Toprakta Yapılan Glisinbetain (Gb) Uygulamalarıyla Tuz Stresine Karşı Toleransın Arttırılması. Yüksek Lisans Tezi, K.Maraş, 96s

- Dejampour, J., Grigorianc, V., Aliasgarzadb, N., Majidid, E., 2012. Salt tolerance Comparison of Four Interspecific Prunus Hybrids. 966(6):81-86.
- Delauney, A.J., Verma, D.P.S., 1993. Proline Biosynthesis and Osmoregulation in Plants. Plant J., 4: 215-223.
- Demiral, M.A., 2005. Comparative Response of two Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars to Salinity. Turk J. Agric For 29: 267-274.
- Demiral, T., Türkan, I., 2005. Comparative Lipid Peroxidation, Antioxidant Defense Systems and Proline Content in Roots of two Rice Cultivars Differing in Salt Tolerance. Environ. Exp. Bot. 53: 247–257.
- Dionisio-Sese, M.L., Tobita, S., 1998. Antioxidant Responses of Rice Seedling to Salinity Stress. J. Plant Sci., 135: 1-9.
- Dolatabadian, A., Sanavyi, S.A.M.M., Chashmi, N.A., 2008. The Effects of Foliar Application of Ascorbic Acid (Vitamin C) on Antioxidant Enzymes Activities, Lipid Peroxidation and Proline Accumulation of Canola (*Brassica Napus* L.) under Conditions of Salt Stres. J. Agronomy and Crop Science, 194: 206-213.
- DPT, 2007. Dokuzuncu Kalkınma Planı: Toprak ve Su Kaynaklarının Kullanımı ve Yönetimi. T.C Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Yayın No: DPT 2718- ÖİK:671.
- Dubey, R.S., Sharma, K.N., 1990. Behaviours of Phosphatases in Germinating Rice in Relation to Salt Tolerance. Plant Physiol. Biochem. 28: 17–26.
- Ekmekçi, E., Apan., M., Kara, T., 2005. Tuzluluğun Bitki Gelişimine Etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(3):118-125.
- Elkahoui, S., Hernandez, J.A., Abdelly, C., Ghrir, R., Limam, F., 2005. Effects of Salt on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities of *Catharanthus Roseus* Suspension Cells, Plant Sci, 168: 607-613.
- Elstner, E.F., 1987. Metabolism of Activated Oxygen Species. In: Davies, D.D. (Ed.), The Biochemistry of Plants. vol. II, Biochemistry of Metabolism. Academic Press, San Diego, CA, pp. 252-315

- Emam, S.M.S.J., Alizadeh, B., Zaefizadeh, M., Zakarya, R.A., Khayatnezhad, M., 2001. Superoxide Dismutase (SOD) Activity in NaCl Stress in Salt-Sensitive and Salt-Tolerance Genotypes of Colza (*Brassica napus* L.) Middle-East Journal of Scientific Research 7 (1): 07-11.
- Eraslan, F., Inal, A., Savasturk, O., Gunes, A., 2007. Changes in Antioxidative System and Membrane Damage of Lettuce in Response to Salinity and Boron Toxicity. Scientia Horticulturae, 114: 5–10.
- Eraslan, F., Arıcı, Ş.E., Erdal, İ., Aşkın, M.A., 2009. Kiraz Anaçlarının *in vitro* Koşullarda Bor ve Tuz Stresine Tolerans Mekanizmalarının Fizyolojik Parametreler ve Antioksidan Enzim İzofomları ile Belirlenmesi. Tübitak Tövag Proje NO: 108O250: 1-56.
- Ergene, A., 1982. Toprak Bilgisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:267, Ders Kitapları Serisi No:42, Erzurum.
- Eriş, A., 1990. Bahçe Bitkileri Fizyolojisi, U.Ü.Z.F. Yay. Ders Notları No: 11, Bursa.
- Ertürk, U., Sivritepe, N., Yerlikaya C., Bor, M., Özdemir, F., Turkan, I., 2007. Responses of the Cherry Rootstock to Salinity *in Vitro* . Biol Plant 51 (3): 597-600.
- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F., Esfandiari, M., 2007. The Effect of Salt Stress on Antioxidant Enzymes Activity and Lipid Peroxidation on The Wheat Seedling. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 35 (1): 48-56.
- Esin, F., 2007. Bazı Çilek Çeşitlerinde NaCl Uygulamasının Bitki Gelişimi ve İyon İçeriği Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Van, 31s.
- Exadaktylou, E., Thomidis, T., 2005. Susceptibility of Gisela 5 and MaxMa 14 Cherry Rootstocks to Four Phytophthora Species. Sci. Hortic. 106: 125-128.
- Fadzilla, N.M., Finch, R.P., Burdon, R.H., 1997. Salinity Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Shoot Cultures of Rice, J Exp Bot, 48:325–331.
- FAO, 2012. Food and Agriculture Organization of United Nations. URL(erişim tarihi: 12.04.2014) www.fao.org.

- Flowers, T.J., Yeo, A.R., 1995. Breeding for Salinity Resistance in Crop Plants: Where next? *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 875–884.
- Fougere, F., Le-Rudulier, D., Streeter, J.G., 1991. Effects of Salt Stress on Amino Acid, Organic Acid, and Carbohydrate Composition of Roots, Bacteroids, and Cytosol of Alfa alfa (*Medicago Sativa* L.). *Plant Physiol.* 96: 1228–1236.
- Foyer, C.H., Halliwell, B., 1976. Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: a Proposed Role on Ascorbic Acid Metabolism. *Planta* 133, 21–25
- Fridovich, I., 1989. Superoxide Dismutases: an Adaptation to a Paramagnetic Gas, *The Journal of Biological Chemistry*, 264: 7761-7764.
- Ghaleb, W.S., Akash, M.W., Al-Abdallat, A.M., 2010. *In vitro* Response of two Citrus Rootstocks to Salt Stress. *International Journal of Fruit Science* 10: 40-53.
- Gossett, D.R., Millhollon, E.P. ve Lucas, M.C., 1994. Antioxidant Responses to NaCl Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Cultivars of Cotton. *Crop Sci.* 34: 706–714.
- Gossett, D.R., Banks, S.W., Millhollon, E.P., Lucas, C., 1996. Antioxidant Response to NaCl Stress in a Control and NaCl Tolerant Cotton Cell line Grown in the Presence of Paraquat, Buthionine, Sulfoximine, and Exogenous Glutathione. *Plant Physiol.*, 112: 803-809.
- Greenway, H., R, Munns., 1980. Mechanism of Salt Tolerance in Non- Halophytes, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31:141–190.
- Gupta, N.K., Meena, S.K., Gupta, S., Khandelwal, S.K., 2002. Gas Exchange, Membrane Permeability, and Ion uptake in two Species of Indian Jujube Differing in Salt Tolerance. *Hotosynthetica* 40: 535–539.
- Güneş, A., Inal, A., Alpaslan, M., 1996. Effect of Salinity on Stomatal Resistance, Proline and Mineral Composition of Pepper. *J. Plant Nutrition* 19(2): 389-396.
- Güneş, A., İnal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bağcı, E.G., Cicek, N., 2007. Salicylic Acid Induced Changes on Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative

- Stress and Mineral Nutrition in Maize (*Zea Mays* L.) Grown under Salinity. J. Plant Physiol., 164: 724-736.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1985. Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford.
- Hare, P.D., Cress, W.A., 1997. Metabolic Implications of Stress-induced Proline Accumulation in Plants, Plant Growth Regulation, 21(2): 79-102.
- Harinasut, P., Poonsopaa, D., Roengmongkol, K., Charoensataporn, R., 2003. Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar R. Science Asia 29 :109-113.
- Hanson, A.D., Hitz, W.D., 1982. Metabolic Responses of Mesophytes of Plant Water Deficits. Annual Review of Plant Physiology, 33: 163-203 pp.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, A.V., 1986. Cellular Mechanisms of Salinity Tolerance. Hort sci., 21:1317-1324.
- Hayat, S., Yadav, S., Wani, A.S., Irfan, M., Alyemini, M.N., Ahmad, A., 2012. Impact of Sodium Nitroprusside on Nitrate Reductase, Proline Content, and Antioxidant System in Tomato under Salinity Stress. Hort. Environ. Biotechnol. 53(5):362-367.
- Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F., Del Rio, I.A., 1995. Salt-Induced Oxidative Stress in Chloroplasts of Pea Plants. Plant Sci., 105:151-167.
- Hernandez, J.A., Campillo, A., Jimenez, A., Alacon, J.J., Sevilla, F., 1999. Response of Antioxidant Systems and Leaf Water Relations to NaCl Stress in Pea Plants. New Phytol. 141: 241–251.
- Hernandez, J.A., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F., 2000. Tolerance of Pea (*Pisum sativum* L.) to Long-term salt Stress is Associated with Induction of Anti-oxidant defenses. Plant Cell Environ. 23: 853–862.
- Holmberg, N., Bülow, L., 1998. Improving Stress Tolerance in Plants by Gene Transfer, Trends in Plant Science, 3 (2): 61-66.

- Hsu, S.Y., Hsu, Y.T., Kao, C.H., 2003. The Effect of Polyethyleneglycol on Proline Accumulation in Rice Leaves. *Biol. Plant.* 46: 73–78.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S., Sarin, N., 2001. Ameliorative Effects of Proline on Salt Stress-Induced Lipid Peroxidation in Cell Lines of Ground Nut (*Arachis hypogaea* L.), *Plant Cell Reports*, 20(5): 463-468.
- Kaçar, B., 1972. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 453. Uygulama Kılavuzu:155. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 646s.
- Kahn, N.A., 2003. NaCl–Inhibited Chlorophyll Synthesis and Associated Changes in Ethylene Evolution and Antioxidative Enzyme Activities in Wheat. *Biol. Plant.* 47: 437–440.
- Kanber, R., Çullu, M.A., Kendirli, B., Antepli, S., Yılmaz, N., 2005. Sulama, Drenaj veTuzluluk.www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/013ri_zakanber.pdf.
- Karakuş, M., 2009. Farklı Tuz (NaCl) Stresi Koşullarında Prolin Uygulamalarının Patateste Fizyolojik ve Morfolojik Özelliklere Etkileri. Harran Üniversitesi, Doktora Tezi, Şanlıurfa.
- Karanlık, S., 2001. Değişik Buğday Genotiplerinde Tuz Stresine Dayanıklılık ve Dayanıklılığın Fizyolojik Nedenlerinin Araştırılması. Doktora Tezi ÇukurovaÜniversitesi Fen BilimleriEnstitüsü, Adana, 125 s.
- Khavalti, M.A.,2001. Bazı Mısır Çeşitlerinin Erken Gelişme Döneminde Tuza Dayanıklılıkları Üzerinde Araştırmalar, (Yüksek lisans Tezi) Ege Üniv Ziraat Fakültesi.
- Khedr, A.H.A., Abbas., M.A, Wahid, A.A.A., Quick, W.P., Abogadallah, G.M ., 2003. Proline Induces the Expression of Salt-Stress-Responsive Proteins and May Improve the Adaptation of *Pancreaticum Maritimum* L. to Salt-Stress. *J Exp Bot* 54:2553–2562.
- Kare, M., Balati, W., Tao, H.J., Ali,K., 2005. Effects of Salt Stress on Soluble Protein and Proline Content of Almond Rootstocks. *Jornal of Xingjian Agricultural university.* 208 (1):1-5.

- Kant, S., Kant, P., Raveh, E., Barak, S., 2006. Evidence that Differential Gene Expression Between the Halophyte, *Thellungiella Halophila*, and *Arabidopsis Thaliana* is Responsible for Higher Levels of the Compatible Osmolyte Proline and Tight Control of Na⁺ Uptake in *T.Halophila*. *Plant Cell Environ.* 29: 1220–1234.
- Kara, T., 2002. Irrigation Scheduling to Present Soil Salinization from a Shallow Water Table, *Acta Horticulture*. 573: 139-151.
- Kavi Kishore, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N., 2005. Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stress Tolerance. *Curr. Sci.* 88: 424–438.
- Kaya, C., AK, B.E., Higgs, D., 2003. Response of Salt-Stressed Strawberry Plants to Supplementary Calcium Nitrate and/or Potassium Nitrate. *J. Plant Nutr.* 26:543-560.
- Khalvati, M.A., Avcıoğlu, R., 2001. Bazı Mısır Çeşitlerinin Erken Gelişme Döneminde Tuza Dayanıklılıkları Üzerinde Araştırmalar, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 86s
- Khavarinejad, R.A., Mostofi, Y., 1998. Effects of NaCl on Photo-Synthetic Pigments, Saccharides, and Chloroplast Ultra Structure in Leaves of Tomato Cultivars. *Photosynthetica* 35: 151–154.
- Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., Türkan, İ., 2007; The Effect of Salt Stress on Lipid Peroxidation, Antioxidative Enzymes and Proline Content of Sesame Cultivars. *Environ. Exp. Bot.*, 60: 344-351pp.
- Korkmaz A., 2002. Amelioration of Chilling Injuries in Watermelon Seedlings by Abscissic Acid. *Turk. J. Agr. Forestry*. 26: 17-20.
- Kozlowski, T.T., Pallardy, S.G., 1997. *Physiology of Woody Plants*, Academic Press, San Diego.
- Kozlowski, T. T., Pallardy, S.G., 2002. Acclimation and Adaptive Responses of Woody Plants to Environmental Stresses. *The Botanical Review* 68 (2) :270-334.

- Köşkeröğlu, S., 2006. Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkisinde (*Zea Mays* L.) Prolin Birikme Düzeyleri ve Stres Parametrelerinin Araştırılması. Muğla Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi,
- Kumar, A.P., Bandhu, A. D., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review Ecotoxicology and Environmental Safety 60:324–349.
- Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., Yaşar, F., Abak, K., 2007. Effects of Salt Stress on Ion Accumulations and Some of the Antioxidant Enzymes Activities in Melon (*Cucumis melo* L.), International Journal of Food, Agriculture and Environment, 2(5): 351-354.
- Kuşvuran, Ş., 2010. Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar. Çukurova Üniversitesi, Doktora tezi.
- Kwiatowsky, J., 1998. Salinity Classification, Mapping and Managment in Alberta.<http://www.agric.gov.ab.ca/sustain/soil/salinity>.
- Lechno, S., Zamski, E., Tel-Or, E., 1997. Salt Stress Induced Responses in Cucumber Plants. J. Plant Physiol, 150:206-211.
- Lee, D.H., Kim, Y.S., Lee, C.B., 2001. The Inductive Responses of the Antioxidant Enzymes by Salt Stress in the Rice (*Oryza sativa* L.). J. Plant Physiol. 158: 737–745.
- Leigh, R.A., Ahmad, N., Wyn Jones, R.G., 1981. Assessment of Glycinebetaine and Prolin Compartmentation by Analysis of Isolated Beet Vacuoles. Planta, 153: 34-41.
- Letey, J., K. Knapp., K. Solomon., 1990. Crop-Production Functions under Saline Conditions. Pp. 305-326. In K. K. Tanji (Ed.) Agricultural Salinity Assessment AndManagement. ASCE Manuals and Reports No. 71, ASCE, New York, NY, USA.
- Lezzoni, A., Schmidt, H., Albertini, A., 1991. Cherries (*Prunus*). Acta Hort, 290 (3):111-173.
- Liang, Y.C., 1999. Effects of Silicon on Enzyme Activity and Sodium, Potassium and Calcium Concentration in Barley under Salt Stress. Plant. Soil 209: 217–224.
- Lin, C.C.,Kao, C.H., 2000. Effect of NaCl Stress on H₂O₂ Metabolism in Rice Leaves. Plant Growth Regul., 30: 151-155.

- Lin, K.H, Pu, S.F., 2010. Tissue-and Genotype-Specific Ascorbate Peroxidase Expression in Sweet Potato in Response to Salt Stress. *Biol Plantarum* 54:664-670.
- Liu, J.H., Inoue, H., Moriguchi, T., 2008. Salt Stress-Mediated Changes in Free Polyamine Titters and Expression of Genes Responsible for Polyamine Biosynthesis of Apple *in vitro* Shoots. *Environmental and Experimental Botany*, 62 (1): 28-35.
- Maas, E.V., Francois, L.E., 1982. Sprinkler-Induced Foliar Injury to Pepper Plants: Effects of Irrigation Frequency, Duration and Water Composition. *Irrig. Sci.* 3: 101–109.
- Mahajan S., Tuteja N., 2005. Cold, Salinity and Drought Stresses: an Overview, *Arch. Biochem. Biophys.* 444: 139–158.
- Mandhania, S., Madan S., Sawhney, V., 2006. Antioxidant Defense Mechanism under Salt Stress in Wheat Seedlings. *Biologia Plantarum*, 50 (2): 227-231.
- Mansour, M.M.F., 1998. Protection of Plasma Membrane of Anion Epidermal Cells by Glycine Betaine and Proline Against NaCl Stress. *Plant Physiol. Biochem.* 36: 767–772.
- Mansour, M.M.F., 2000. Nitrogen Containing Compounds and Adaptation of Plants to Salinity Stress. *Biol. Plant.* 43: 491–500.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, 657-680.
- Massai, R., Gucci, R., Tattini, M., 1998. Salinity Tolerance in Four Different Rootstocks for Peach. *Acta Horticultura* 465: 363-369.
- Matsumoto, K., Chun, J.P., Tamura, F., Kamamoto, Y., Tanabe, K., 2006. Salt Tolerance in *Pyrus* Species is Linked to Levels of Na and Cl Translocation From Roots to Leaves. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*(75)5: 385-391
- Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H.G., Foyer, C.H., 1996. Ascorbate is the Natural Substrate for Plant Peroxidases. *FEBS Lett* 378: 203-206.

- Meiri, A., 1984. Plant Response to Salinity: Experimental Methodology and Application to The Field. Pp. 284-297. In Soil Salinity under Irrigation: I. Shainberg and J. Shalhevet, Eds. Springer-Verlag, New York, NY, USA. 284- 297
- Meister, A., 1988. Glutathione Metabolism and Its Selective Modification Journal of Biological Chemistry. 263(33): 17205-17208.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., 2004. Reactive Oxygen Gene Network of Plants. Trends Plant Science 9: 490–498
- Molassiotis, A.N., Sotiropoulos, T.E., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G., Therios, I., 2006. Antioxidant and Anatomical Responses in Shoot Culture of the Apple Rootstock MM 106 Treated With NaCl, KCl, Mannitol or Sorbitol. *Biologia Plantarum* 50 (1): 61-68.
- Mohammad, M., Shibli, R., Ajouni, M., Nimri, L., 1998. Tomato Root and Shoot Responses to Salt Stress under Different Levels of Phosphorus Nutrition. *J. Plant Nutr.* 21: 1667- 1680.
- Munns, R., 2002. Salinity, Growth and Phytohormones. Springer link. Salinity: Environment–Plants – Molecules. 13:271-290.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59, 651–681.
- Nas, M.N., Read, P., 2004. Improved Rooting and Acclimatization of Micropropagated Hazelnut Shoots. *HortScience*, 39 (7): 1688-1690
- Nas, M.N., Bölek, Y., Sevgin, N., 2010. The Effects of Explant and Cytokinin Type on Regeneration of *Prunus Microcarpa*. *Scientia Horticulturae*, 126: 88-94.
- Nas, M.N., Bölek, Y., 2012. Güneydoğu Anadolu'da Doğal Yayılış Gösteren Ticari Potansiyele Sahip Bazı Yabani Kiraz (*Cerasus microcarpa* (C. A. MEYER) BOISS. subsp. *tortuosa* (BOISS. ETHAUSSKN.) BROWICZ) populasyonlarında Genetik Çeşitliliğin AFLP ve SSR Markörlerle Karakterizasyonu, in vivo ve in vitro Çoğaltımları ve Anaçlık Potansiyellerinin Araştırılması. Tübitak Proje No: 105O554

- Nas, M.N., Gokbunar, L., Sevgin, N., Aydemir, M., Dagli, M., Susluoglu, Z., 2012. Micropropagation of Mature *Crataegus Aronia L.*, a Medicinal and Ornamental Plant With Rootstock Potential for Pome Fruit. *Plant Growth Regul* (67:57–63
- Neto, A.D.A., J.T. Prisco, J. Enéas-Filho., C.E.B. de Abreu., E. Gomes-Filho., 2006. Effect of Salt Stress on Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Leaves and Roots of Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Maize Genotypes. *Environ. Exp. Bot.*, 56: 87-94.
- Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249–279.
- Özçagırın, S., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaroglu, M., 2003. Ilıman İklim Meyve Türleri (Sert Çekirdekli Meyveler) Cilt-I, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Bornova/İzmir.
- Özden, M., Demirel, U., Kahraman, A., 2009. Effects of Proline on Antioxidant System in Leaves of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Exposed to Oxidative Stress by H₂O₂. *Scientia Horticulturae*, 119: 163-168.
- Öztürk, L., Demir, Y., 2002. *In vivo and In vitro* Protective Role of Proline. *Plant Growth Regul.* 38: 259–264.
- Quiles, M.J., López, N.I., 2004. Photoinhibition of Photosystems I and II Induced by Exposure to High Light Intensity During Oat Plant Growth: Effects on the Chloroplastic NADH Dehydrogenase Complex. *Plant Sci.* 166, 815–823
- Parida, A.K., Das, A.B., Mohanty, P., 2004. Defense Potentials to NaCl in a Mangrove, *Bruguiera Parviflora*: Differential Changes of Isoforms of Some Antioxidative Enzymes. *J. Plant Physiol.* 161: 531–542.
- Pastori, G.M., Foyer, C.H., 2002. Common Components, Networks, and Pathways of Cross Tolerance to Stress. The Central Role of ‘Redox’ and Abscissic Acid-Mediated Controls *Plant Physiol.* 129: 460–468.
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., Tovar, J.C., Botía, P., 2009. Response to Drought and Salt Stress of Lemon ‘Fino 49’ under Field Conditions: Water Relations, Osmotic Adjustment and Gas Exchange. *Scientia Horticulturae* 122: 83–90.

- Petrusa, L.M., Winicov, I., 1997. Proline Status in Salt Tolerant and Salt Sensitive Alfaalfa Cell Lines and Plants in Response to NaCl. *Plant Physiol. Biochem.* 35: 303–310.
- Polle, A., 2001. Dissecting the Superoxide Dismutase-Ascorbate-Glutathione-Pathway in Chloroplasts by Metabolic Modeling. *Plant Physiol* 126, 445-462
- Ranjbar, A., Lemeur, R., Damme, P.V., 2001. Ecophysiological Characteristics of two Pistachio Species (*Pistacia khinjuk* and *Pistacia mutica*) in Response to Salinity. *Cahiers Options Méditerranéennes*. 56: 179-187.
- Ranjbarfordoei, A., Samson, R., Damme, P., 2006. Chlorophyll Fluorescence Performance of Sweet Almond [*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb] in Response to Salinity Stress Induced by NaCl. *Photosynthetica* 44 (4): 513-522.
- Saadatmand, A.R., Banihashemi, Z., Maftoun, M., Sepaskhah, A.R., 1997. Interactive Effect of Soil Salinity and Water Stress on Growth and Chemical Compositions of Pistachio Nut Tree. *Journal of Plant Nutrition*, 30: 2037-2050.
- Saydam, N., Kirb, A., Demir, Ö., Hazan, E., Oto, Ö., Saydam, O., Güner, G.. 1997. Determination of Glutathione, Glutathione Reductase, Glutathione Peroxidase and Glutathione S-transferase Levels in Human Lung Cancer Tissues. *Cancer Letters* 119: 13-19.
- Scalet, M., Federico, R., Guido, MC., Manes, F., 1995. Peroxidase Activity and Polyamine Changes in Response to Ozone and Simulated Acid Rain in Aleppo Pine Needles, *Environmental and Experimental Botany*. 35 :417– 425.
- Scandalios. G.J., 1993. Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. *Plant. Physiol.* 101:7-12
- Sgherri, C.L.M.I., Liggini, B., Puliga, S., Navario-Izzo, F., 1994. “Antioxidant System in *Sporobolus Stapfianus*: Changes in Response to Dessicationand Rehydration” *Phytochem.* 35(3): 561-565.
- Sivritepe, N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F., 2008. Response of The Cherry Rootstock to Water Stress Induced *in vitro*. *Biologia Plantarum*. 52 (3): 573-576.

- Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V., Khodambashi, M., Sofo, A., 2011. Salt Stress Induction of Some Key Antioxidant Enzymes and Metabolites in Eight Iranian Wild Almond Species. *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 203-213.
- Sotiropoulos, T.E., Fotopoulos, S., Dimassi, K.N., Tsirakoglou, V., Therios, I.N., 2006a. Responses of Two *Prunus* Rootstocks to KCl Induced Salinity *in vitro*. *Biologia Plantarum* 50 (3): 477-480.
- Sotiropoulos, T.E., Fotopoulos, S., Dimassi, K.N., Tsirakoglou, V., Therios, I.N., 2006b. Response of The Pear Rootstock to Boron and Salinity *in vitro*. *Biologia Plantarum* 50 (4): 779-781.
- Sotiropoulos, T. E., Molassiotis, A.N., Almaliotis, D., Mouhtaridou, G., Dimassi, K., Therios, I., Diamantidis, G., 2006. Nutritional Status, Chlorophyll Content, and Antioxidant Responses of the Apple Rootstock MM 111 Shoots Cultured under High Boron Concentrations *in vitro*. *Journal of Plant Nutrition* 29:575-583.
- Sotiropoulos, T. E., 2007. Effect of NaCl and CaCl₂ on Growth and Contents of Minerals, Chlorophyll, Proline and Sugars in the Apple Rootstock M 4 Cultured *in vitro*. *Biol. Plant* 51 (1): 177-180.
- Sotiropoulos, T. E., Therios, I.N., Tsirakoglou, V., Dimassi, K.N., 2007. Response of the Quince Genotypes BA 29 and EMA Used as Pear Rootstocks to Boron and Salinity. *International Journal of Fruit Science* volume 6 (4): 93-101.
- Söylemezoglu, A., Demir, K., Inal, B., Gunes, A., 2009. Effect of Silicon on Antioxidant and Stomatal Response of two Grapevine (*Vitis Vinifera* L.) Rootstocks Grown in Boron Toxic, Saline and Boron Toxic-Saline Soil. *Scientia Hort.*, 123:240–246.
- Spychalla, J.P., Desborough, S.L., 1990. Superoxide Dismutase, Catalase, and Alpha-Tocopherol Content of Stored Potato Tubers. *Plant Physiol.* 94: 1214–1218.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U., Weschke, W., 2000. Differential Response of Antioxidant Compounds to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Seedling of Fox-Tail Millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant.*, 109: 435-442

- Srivastava, T. P., Gupta, S.C., Lal, P., Muralia, P.N., Kumar, A.,1998. Effect of Salt Stress on Physiological and Biochemical Parameters of Wheat. *Annals in Arid Zone* 27: 197–204.
- Sykes, S.R., 1992. The Inheritance of Salt Exclusion in Woody Perennial Fruit Species. *Plant Soil* 146: 123–129.
- Tıprıdamaz, R., Karakullukçu, Ş., 1993. Prolin ve Glisinbetain'in Tuzlu Koşullarda Kültüre Alınmış Domates Embriyolarının Gelişmesi ve Bazı İçsel Madde Değişimleri Üzerinde Bir Araştırma. *Doğa Tu Botanik* 17 (2): 57-64.
- Uysal, B., 2012. Ispanakta Kadmiyum Toksisitesine Bağlı Oksidatif Stresi üzerine Potasyum Beslenmesinin Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş., 1994. Domates Genotiplerinde Tuza Dayanıklılığın Belirlenmesinde Değişik Tekniklerin Kullanımı. Ankara Üniv. Ziraat Fak Yayınları Yayın No: 1358, Bilimsel Ar. ve İnc:752, 21s.
- Troncoso, A., Matte,C., Cantos, M., Lavee, S., 1999. Evaluation of Salt Tolerance of *In vitro*-Grown Grapevine Rootstock Varieties. *Vitis* 38: 55-60.
- Turhan, E., Eriş A., 2007. Growth and Stomatal Behaviour of two Strawberry Cultivars under Long-Term Salinity Stress. *Turk. J. Agr. Forestry*. 31: 55-61.
- TÜİK., 2013. Türkiye İstatistik Kurumu URL (erişim tarihi: 12.04.2014) ([Http://Www.Tuik.Gov.Tr](http://www.tuik.gov.tr)).
- Wang, S.Y., Jiao, H., Faust, M., 1991. “Changes in Ascorbate, Glutathione and Related Enzyme Activities During Thiodiazuron-Induced Bud Break of Apple”. *Plant Physiology*. 82:231-236.
- Wertheim, S.J., Groene, J.M., 1998. Fpo- Trial With Summer Cuttings. *Gisela 5 is Easy to Propagate*. *Fruiteelt Den Haag*, 87 (46): 14-21.
- Wei, G.P., Yang, L.F., Zhu, Y.L., Chen, G., 2009. Changes in Oxidative Damage, Antioxidant Enzyme Activites and Polyamine Contents in Leaves of Grafted and

- Non- Grafted Eggplant Seedling under Stress by Excess of Calcium Nitrate. *Scientia Horticulturae*, 12: 443-451.
- Wise, R.R., Naylor, A.W., 1987. Chilling-Enhanced Photooxidation: Evidence for the Role of Singlet Oxygen and Endogenous Antioxidants. *Plant Physiol.* 83: 278–282.
- Wright, F., Hughes, H.G.,1993. Hydroponic Screening of Strawberry for Salt Tolerance: Correlation with *In vitro* Evaluations. *Acta Hort* 348: 384–388
- Wu, L., Guo, X., Harivandi, A., 2001. Salt Tolerance and Salt Accumulation of Landscape Plants Irrigated by Sprinkler and Drip Irrigation Systems. *J. Plant Nut.* 24: 1473–1490.
- Yamazaki, J., Ohashi, A., Hashimoto,Y., Negishi, E., Kumagai, S., Kubo, T., Oikawa, T., Maruta, E., Kamimura, Y., 2003. Effects of High Light and Low Temperature During Harsh Winter on Needle Photodamage of *Abiesmariesii* Growing at The Forest Limit on Mt. Norikura in Central Japan, *Plant Science*, 165: 257-264.
- Yaşar, F., Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., 2006. Determination of Antioxidant Activities in Soma Melon (*Cucumis melo* L.) Varieties and Cultivars under Salt Stress. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 81 (4): 627-630.
- Yaşar, F., Ellialtıoğlu, Ş., Özpaya, T., Uzal, Ö., 2008. Tuz Stresinin Karpuzda (*Citrullus lanatus*(Thunb.) Mansf.) Antioksidatif Enzim(SOD,CAT,APOX ve GR) Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Der.(J.Agric.Sci.)*18(1):51-55.
- Yıldız, M., Terzi, H., Cenkci, S., Arıkan-Terzi, E.S., Uruşak, B., 2010. Bitkilerde Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik ve Biyokimyasal Markörleri. *Anadolu University Journal of Science and Technology , Life Sciences and Biotechnology*, 1: 1-33.
- Yılmaz, E., Levent, A., Bürün, B., 2011.Bitkilerin Tuz Stresi Etkilerine Karşı Geliştirdikleri Tolerans Stratejileri. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi* 7(1): 47-66.
- Zhang, J.H., Huang, W.D., Liu, Y.P., Pan, Q.H., 2005. Effects of Temperature Acclimation Pretreatment on The Ultrastructure of Mesophyll Cells in Young Grape Plants (*Vitis*

Vinifera L. Cv. *Jingxiu*) Under Cross-Temperature Stresses. *J. Integ. Plant Biol.*, 47: 959-970.

Zhang, J., Jia, W., Yang, J., Ismail, M.A., 2006. Role of ABA in Integrating Plant Responses to Drought and Salt Stresses. *Field Crops Res.*, 97: 111-119.

Zhu, Z.J., Wei, G.Q., Li, J., Qian, Q. Q., Yu, J.Q., 2004. Silicon Alleviates Salt Stress and Increases Antioxidant Enzymes Activity in Leaves of Salt-Stressed Cucumber (*Cucumis Sativus* L.). *Plant Sci.* 167 :527 – 533.

Zhu, J., Bie, Z., Li, Y., 2008. Physiological and Growth Responses of two Different Salt-Sensitive Cucumber Cultivars to NaCl Stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, 54: 400–407.

Zörb, C., Noll, A., Karl, S., Leib, K., Yan, F., 2005. Molecular Characterization of Na⁺/H⁺ antiporters (*ZmNHX*) of Maize (*Zea mays* L.) and Their Expression under Salt Stress. *J. Plant Physiol.*, 162: 55-66.

ÖZ GEÇMİŞ

Ad-Soyad : Nevzat SEVGİN
Uyruğu : T.C
Doğum Yılı : 1985
Telefon : 0344 280 18 76
Faks : 0344 280 18 81
e-posta : nsevgin@ksu.edu.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	KSU / Ziraat Fakültesi / Bahçe Bitkileri Bölümü	2014-
Y. Lisans	KSU/ Ziraat Fakültesi / Bahçe Bitkileri Bölümü	2010
Lisans	KSU/ Fen Edebiyat Fakültesi / Biyoloji	2007

İş deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2009-2010	KSÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	Ar.Gör. (Yüksek Lisans)
2011-2012	KSÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	Ar.Gör. (Doktora)
2012-	KSÜ, Andırın Meslek Yüksek Okulu	Uzman

Yayınlar

SCI kapsamındaki dergilerde yayınlanan makaleler

1. Nas MN, Bolek Y, Sevgin N. 2010. The effects of explant and cytokinin type on regeneration of *Prunus microcarpa*. *Scientia Horticulturae* 126: 88 - 94.
2. Nas MN, Gokbunar L, Sevgin N, Aydemir M, Dagli M, Susluoglu Z. 2012. Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pomefruit. *Plant Growth Regul.* 67:57 -63.
3. Nas MN, Bolek Y, Sevgin N. 2013, Short cut to long-distance developing of a tissue culture medium: micropropagation of mature almond cultivars as a case study. *Turkish Journal of Botany* 37:1134-1144

Diğer Yayınlar

1. Nas MN, Bolek Y, Sevgin N. *Cerasus microcarpa* ‘ümit var bir klonal kayısı anacı’ Çankırı Tarım Sempozyumu (Selahattin İPTAŞ Anısına) Sözlü Bildiri, Çankırı, Nisan/2011
2. Nas MN, Sevgin N, Sayınbaş A, Aydemir M, Dağlı M. Urmu Dutu (*Morus nigra*)’nun Ticari Klonal Mikroçoğaltımı IV. Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Poster, Antalya, Ekim/2012