



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI FİZYOLOJİK STRES KOŞULLARI VE
EKSOJEN POLİAMİNLERİN (SPERMİN, SPERMİDİN,
PUTRESİN) *Isatis tinctoria* L. BİTKİSİNİN
YAPRAKLARINDAKİ İNDİGO MİKTARI ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

SEMRA ARIKAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2015

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI FİZYOLOJİK STRES KOŞULLARI VE
EKSOJEN POLİAMİNLERİN (SPERMİN, SPERMİDİN,
PUTRESİN) *Isatis tinctoria* L. BİTKİSİNİN
YAPRAKLARINDAKİ İNDİGO MİKTARI ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

SEMRA ARIKAN

**Bu tez,
Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.**

KAHRAMANMARAŞ 2015

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Semra ARIKAN tarafından hazırlanan “Bazı Fizyolojik Stres Koşulları ve Eksojen Poliaminlerin (Spermin, Spermidin, Putresin) *Isatis tinctoria* Bitkisinin Yapraklarındaki İndigo Miktarı Üzerine Etkisinin Araştırılması ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 15 / 12 / 2015 tarihinde oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Yrd.Doç. Nazan ÇÖMLEKCİOĞLU (DANIŞMAN)
Biyoloji ABD
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Şengül KARAMAN (ÜYE)
Biyoloji ABD
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Lale EFE (ÜYE)
Tarla Bitkileri ABD
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa ŞEKKELİ
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, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

(İmza)

Semra ARIKAN

Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 2014/2-2YLS

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.

**BAZI FİZYOLOJİK STRES KOŞULLARI VE EKSOJEN POLİAMİNLERİN
(SPERMIN, SPEMİDİN, PUTRESİN) *Isatis tinctoria* L. BİTKİSİNİN
YAPRAKLARINDAKİ İNDİGO MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Semra ARIKAN

ÖZET

Bu çalışmada kontrollü koşullarda büyütülen *I. tinctoria* (çivitotu) bitkisinin çevresel stres koşullarına toleransı ve dışsal poliaminlere tepkisi araştırılmıştır. Çalışma kuraklık ve tuz streslerine maruz bırakma, farklı konsantrasyonlarda foliar püskürtme yöntemiyle poliaminlerin (putresin, spermin ve spermidin) uygulanması, poliamin+tuz stresi ve poliamin+kuraklık stresi uygulamaları olmak üzere beş basamaktan oluşmaktadır. Uygulamaları takiben *I. tinctoria* fidelerinde kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, oransal su içeriği, hasar indeksi, hayatta kalma oranı ve taze yapraklardaki indigo içeriği gibi özellikler incelenmiştir.

Çalışmada ilk olarak bitkiler üç farklı tuz derişimindeki (50, 100 ve 200 mM) NaCl çözeltisi ile sulanarak tuz stresine maruz bırakılmıştır. Bitkiler genelde 50 ve 100 mM tuz uygulamalarını tolere ederken, 200 mM'lık tuz konsantrasyonundan etkilenmiş ve verim düşmüştür. İkinci aşama olarak fideler kuraklık stresine maruz bırakılmış ve 3., 7. ve 10. günde kuraklığın etkileri incelenmiştir. Uygulamanın sonucunda en düşük değerler 10. gündeki verilerden elde edilmiştir. Artan stres faktörü kontrol uygulamasına göre incelenen özellikleri olumsuz etkilemiş, daha düşük değerler elde edilmiştir. Üçüncü aşama olan poliamin uygulamasında spermin, spermidin ve putresin poliaminleri üç farklı konsantrasyonda (0.1, 1 ve 2 mM) yapraktan uygulanmıştır. Uygulamada en etkili sonuç spermin poliamininin 1 mM konsantrasyonundan elde edilmiştir. Dördüncü aşamada poliamin+tuz stresi uygulamasında bitkiler poliamin tatbikinden sonra tuz stresine maruz bırakılmış ve sonuçta yüksek indigo değeri için tuzluluğa tolerans seviyesini artıran poliamin putresin ve konsantrasyonu 0.1 mM tespit edilmiştir. Beşinci aşamada ise bitkiler poliamin+kuraklık stresine maruz bırakılmış ve uygulama sonucunda en etkili poliaminin spermin olduğu ve konsantrasyonun ise 1 mM olduğu görülmüştür. Bitkiler stresten küçük

nekrotik alan dışında görsel bir zarar belirtisi göstermemişler ve her uygulama sonucunda yaşamlarına devam etmişlerdir.

Anahtar Kelimeler: *Isatis tinctoria*, indigo, poliamin (spermin, spermidin, putresin), kuraklık stresi, tuz stresi.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, Aralık / 2015

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nazan mlekciglu

Sayfa sayısı: 83

**THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME PHYSIOLOGICAL STRESS
CONDITIONS AND EXOGENOUS POLIAMINES (SPERMINE, SPERMIDINE,
PUTRESCINE) ON INDIGO AMOUNTS OF *Isatis tinctoria* L. LEAVES**

(MASTER THESIS)

Semra ARIKAN

ABSTRACT

In this study, *I. tinctoria* (woad) plant cultivated under controlled conditions was investigated for its tolerance to environmental stress conditions and its response to external polyamines. The study consisted of five stages: exposure to salinity stress, exposure to drought stress, applying different concentrations of polyamines (putrescine, spermine and spermidine) by foliar spraying method, treatment of poliamine+salinity stress and treatment of poliamine+drought stress. Following these treatments, *I. tinctoria* seedlings were examined for their characteristics in terms of fresh root weight, dry root weight, fresh stem weight, dry stem weight, relative water content, damage index, survival rate and indigo content present in fresh leaves etc.

At the beginning of the study, the plants were exposed to salinity stress by irrigating the soil with three different concentrations (50, 100 and 200 mM) of NaCl solution. In general, the plants could tolerate 50 and 100 mM salt treatments, however they were affected at 200 mM salt concentration and the yield was reduced. At the second stage of the study, the seedlings were submitted to a drought stress period and the effects of the drought were analyzed on days 3, 7 and 10. As a result of the treatment, the lowest values were obtained from the data collected on day 10. The increased stress factor adversely affected the characteristics analyzed as per the control treatment and lower values were obtained. At the third stage of the study which consisted of poliamine application; polyamines of spermine, spermidine and putrescine were applied at three different concentrations (0.1, 1 and 2 mM) on the leaves of the plant. In practice, application of spermine at the concentration of 1 mM gave the most effective result. At the fourth stage, the plants were exposed to salinity stress after being treated with poliamines and the results revealed that the poliamine which increased the salinity tolerance level in favor of indigo values was putrescine and its concentration was 0.1

mM. Finally, at the fifth stage the plants were treated by polyamines and then exposed to drought stress, and at the end of this treatment it was observed that the most effective polyamine was spermine at a concentration of 1 mM. The plants did not show any visible signs of damage caused by stress except for small necrotic areas and they survived each treatment.

Key Words: *Isatis tinctoria*, indigo, polyamine (spermine, spermidine, putrescine), drought stress, salinity stress.

Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Biology December / 2015

Supervisor: Assist. Prof. Nazan Çömlekcioglu

Number of page: 83

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarımın her aşamasında hiçbir desteğini benden esirgemeyen tez danışmanım ve çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nazan ÇÖMLEKCİOĞLU'na en derin saygılarımla teşekkür ediyorum ve saygılarımı sunuyorum.

Değerli zamanlarını bana ayıran, tecrübelerinden istifade ettiğim tez danışmanı jüri üyelerim Prof. Dr. Şengül KARAMAN ve Prof. Dr. Lale EFE hocalarıma;

Bana yardımlarını esirgemeyen bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Uğur ÇÖMLEKCİOĞLU'na ve Doç. Dr. Ashabil AYGAN'a, ayrıca istatistiksel analizleri yaparak yardımcı olan Prof. Dr. Ercan EFE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince her türlü laboratuvar imkânı sağlayan Biyoteknoloji Laboratuvar'ına ve laboratuvar çalışmalarında beni yalnız bırakmayıp her konuda bana desteklerini sunan Arş. Gör. Dilek ÖZGÜN EKİZ'e, Arş. Gör. Özlem DEĞER'e, Mehtap KUTLU'ya, Sevtap SARITÜRK'e, İlhami KENGER'e, H. Seda DENİZ'e ve Sabiha ALAN'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmama finansal destek sağlayan KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yanımda olup her zaman her konuda maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen canım aileme beni yalnız bırakmadıklarından dolayı en derin saygı ve sevgilerimle teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2015
KAHRAMANMARAŞ

Semra ARIKAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Doğal Boyamacılık.....	1
1.1.1. Bitkisel boyaların önemi.....	1
1.1.2. Boya- Boyarmadde.....	3
1.1.2.1. Boyarmadde çeşitleri.....	4
1.1.2.2. Boyama yöntemleri.....	5
1.1.3. <i>Isatis Tinctoria</i> (Çivitotu) ve önemi.....	6
1.1.4. İndigo.....	7
1.2. Bitki Gelişim Düzenleyiciler (Bitkisel Hormonlar).....	9
1.2.1. Oksinler.....	11
1.2.2. Giberellinler.....	11
1.2.3. Sitokininler.....	12
1.2.4. Etilen.....	12
1.2.5. Absisik Asit.....	12
1.2.6. Jasmonatlar (JA).....	13
1.2.7. Brassionosteroidler (BR).....	13
1.2.8. Poliaminler (PA).....	13
1.3. Stres ve Stres Kaynakları.....	14
1.3.1. Sıcaklık stresi.....	15
1.3.2. Düşük sıcaklık stresi.....	15
1.3.3. Tuz stresi.....	16

1.3.4.	Su eksikliği (kuraklık) stresi.....	17
1.3.5.	Su baskını stresi.....	18
1.3.6.	Bitkilerde stres tepkileri.....	18
2.	ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	21
2.1.	Doğal Boyamacılık ve <i>I. tinctoria</i> (Çivitotu) ile İlgili Önceki Çalışmalar.....	21
2.2.	Kuraklık ve Tuz Stresi ile İlgili Önceki Çalışmalar.....	25
2.3.	Poliaminler ile İlgili Önceki Çalışmalar.....	29
3.	MATERYAL ve METOD.....	33
3.1.	Materyal.....	33
3.1.1.	Deneme materyali.....	33
3.1.2.	Deneme yeri ve yılı.....	33
3.1.3.	Farklı koşullarda bitkinin yetiştirilmesi.....	34
3.2.	Metod.....	34
3.2.1.	Bitki gelişimi ve yapılan uygulamalar.....	34
3.2.1.1.	Tuz stresi uygulaması.....	35
3.2.1.2.	Kuraklık stresi uygulaması.....	35
3.2.1.3.	Poliamin uygulaması.....	36
3.2.1.4.	Poliamin+Tuz stresi uygulaması.....	37
3.2.1.5.	Poliamin + Kuraklık stresi uygulaması.....	37
3.2.2.	Stres ve poliamin uygulamalarından sonra bitkiler üzerinde yapılacak ölçüm ve analizler.....	37
3.2.2.1.	Oransal su içeriğinin belirlenmesi (%).....	37
3.2.2.2.	Hayatta kalma oranı (%).....	38
3.2.2.3.	Hasar indeksi.....	39
3.2.2.4.	Yaprak ağırlığı (g).....	39
3.2.2.5.	Kök ağırlığı (g).....	39
3.2.2.6.	İndigo miktarının spektrofotometrik analizi.....	39
3.3.	Verilerin İstatiksel Analizi.....	42
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA.....	43

4.1.	Tuz Stresi Uygulaması Sonuçları.....	43
4.1.1.	Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği.....	43
4.1.2.	Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği.....	44
4.1.3.	Tuz stresi uygulamasının indigo üzerine etkisi.....	45
4.2.	Kuraklık Stresi Uygulaması Sonuçları.....	48
4.2.1.	Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği.....	48
4.2.2.	Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği.....	49
4.2.3.	Kuraklık stresi uygulamasının indigo üzerine etkisi.....	50
4.3.	Poliamin Uygulaması Sonuçları.....	54
4.3.1.	Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği.....	54
4.3.2.	Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği.....	55
4.3.3.	Poliamin uygulamasının indigo üzerine etkisi.....	57
4.4.	Poliamin + Tuz Stresi Uygulaması Sonuçları.....	59
4.4.1.	Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği.....	59
4.4.2.	Yaprak Yaş Ağırlığı, Yaprak Kuru Ağırlığı, Yaprak Oransal Su İçeriği.....	60
4.4.3.	Poliamin + Tuz Stresi Uygulamasının İndigo Üzerine Etkisi.....	62
4.5.	Poliamin + Kuraklık Stresi Uygulaması Sonuçları.....	65
4.5.1.	Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği.....	65
4.5.2.	Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği.....	66

4.5.3. Poliamin + Kuraklık stresi uygulamasının indigo üzerine etkisi.....	67
4.6. Hayatta Kalma Oranına Ait Sonuçlar.....	70
4.7. Hasar İndeksine Ait Sonuçlar.....	70
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	: Avrupa Birliği
ABA	: Absisik Asit
ark.	: Arkadaşları
BBD	: Bitki büyüme düzenleyicisi
BGD	: Bitki gelişim düzenleyiciler
BL	: Brassinolid
BR	: Brassinosteroidler
°C	: Santigrat derece
C₂H₄	: Etilen
CaOH	: Kalsiyum hidroksit
Cad.	: Kadaverin
cm³	: Santimetre küp
CuSO₄·5H₂O	: Bakır göz taşı
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FeSO₄·7H₂O	: Saçıkıbrıs
g	: Gram
GA₃	: Gibberellic acid
H₂O	: Su
HPLC	: Sıvı kromatografisi
JA	: Jasmonat
K	: Potasyum
K₂Cr₂O₇	: Potasyum dikromat
KAl(SO₄)₂·12H₂O	: Şap
KHC₄H₄O₆	: Krem tartar
Kg	: Kilogram
K₂O	: Potasyum oksit
MeJA	: Metil jasmonate
µg	: Mikrogram
µg/g	: mikrogram/gram
µl	: Mikrolitre

μM	: Mikromolar
mg	: Miligram
mg/g	: Miligram/gram
mg/ml	: Miligram/mililitre
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
M.Ö.	: Milattan Önce
MS	: Mass Spectrometry
M.S.	: Milattan Sonra
Na	: Sodyum
NaCl	: Tuz
nm	: Nanometre
OP	: Ozmotik potansiyelin
PA	: Poliaminler
ppm	: Milyonda bir birim
Put.	: Putresin
Spd.	: Spermidin
SPINDIGO	: The Sustainable Production of Plant-Derived Indigo
Spm.	: Spermin
SPME-GC / MS	: Gaz kromatografisi / Kütle spektrometresi
sp.	: Tür
spp.	: Türler
subsp.	: Subspecies (Alt tür)
var.	: Varyete
24-epiBL	: 24-epibrassinolid
28-homoBL	: 28-homobrassinolid
%	: Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. İndigonun yapısı.....	8
Şekil 1.2. Isatan B'nin indigoya ve indigonun lökoindigoya dönüşümü.....	8
Şekil 1.3. Bitki gelişiminde ve çevresel uyaranlara yanıtta sinyal iletimi.....	19
Şekil 3.1. <i>I. tinctoria</i> 'ya ait tohum(A) ve tek bitki (B) görüntüleri	33
Şekil 3.2. Şekil 3.2. <i>I. tinctoria</i> bitkisine tuzlu su verilmesi	35
Şekil 3.3. Şekil 3.3. <i>I. tinctoria</i> bitkisine poliamin uygulanması	36
Şekil 3.4. <i>I. tinctoria</i> 'ya ait bitki yaş kök ve yaprak (A), kurutma işleminin uygulandığı etüv (B), bitki kök ve yaprak kurutulurken (C) ve bitki kuru kök ve yaprak görüntüleri.....	38
Şekil 3.5. Sentetik indigo kullanılarak hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltilerinin UV/Vis spektrofotometrede 600 nm'de okutulması ile elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	40
Şekil 3.6. <i>I. tinctoria</i> 'ya ait toplanan yaprakların kaynatılmasına (A), süzülmesine (B), etil asetat ile ekstrakte edilmesine (C), spektrofotometre ile okunmasına (D) ait görüntüler.....	41
Şekil 3.7. Süzülen bitki ekstraktı (A), ekstrakta baz ilavesi (B), B'deki çözeltiye asit ilavesine (C), C'deki çözeltinin etil asetat ile muamelesine ait görüntüler (D)	41
Şekil 3.8. İndigo elde edilirken önceki (A) ve sonraki (B) görüntüler.....	42
Şekil 4.1. <i>I. tinctoria</i> bitkisine farklı NaCl konsantrasyon uygulamalarında yapraktan elde edilen indigo içeriğinin değişimi.....	46
Şekil 4.2. <i>I. tinctoria</i> bitkisine farklı gün için kuraklık stresi uygulamalarında yapraktan elde edilen indigo içeriğinin değişimi.....	51

Şekil 4.3.	<i>I. tinctoria</i> bitkisine farklı poliamin ve poliaminlere ait farklı konsantrasyon uygulamalarında yapraktan elde edilen indigo içeriğinin değişimi.....	58
Şekil 4.4.	Poliamin+tuz stresi uygulanan bitkilerin indigo miktarına ait grafik.....	63
Şekil 4.5.	Poliamin+kuraklık stresi uygulaması sonucunda <i>I. tinctoria</i> 'ya ait indigo miktarları.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1. Farklı tuz konsantrasyonlarının <i>I. tinctoria</i> bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriğine ait ortalama değerleri üzerine etkisi ve oluşan gruplar.....	43
Çizelge 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarının <i>I. tinctoria</i> bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriğine ait ortalama değerleri üzerine etkisi ve oluşan gruplar	44
Çizelge 4.3. Farklı NaCl konsantrasyonları uygulanan <i>I. tinctoria</i> bitkisinin indigo içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar	45
Çizelge 4.4. Kuraklık stresine maruz bırakılan <i>I. tinctoria</i> bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar.....	48
Çizelge 4.5. Kuraklık stresine maruz bırakılan <i>I. tinctoria</i> bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar.....	49
Çizelge 4.6. Kuraklık stresine maruz bırakılan <i>I. tinctoria</i> bitkisinin indigo içeriğine ait ortalama değerleri	50
Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan poliaminlerin <i>I. tinctoria</i> bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği etkisi ve oluşan gruplar	54
Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan poliaminlerin <i>I. tinctoria</i> bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar	56

Çizelge 4.9.	Dışsal poliamin uygulanan <i>I. tinctoria</i> bitkisinin indigo içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar	57
Çizelge 4.10.	Poliamin + tuz uygulamasının <i>I. tinctoria</i> bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlık ve oransal su içeriği üzerine poliaminlerin etkisi ve oluşan gruplar	59
Çizelge 4.11.	Poliamin + tuz uygulamasının <i>I. tinctoria</i> bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve oransal su içeriği üzerine poliaminlerin etkisine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar.....	61
Çizelge 4.12.	Poliamin + tuz stresi uygulamasının <i>I. tinctoria</i> 'daki indigo içeriğine etkisi ve oluşan gruplar	62
Çizelge 4.13.	Poliamin + kuraklık stresi uygulamasının <i>I. tinctoria</i> bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği etkisine ait ortalama değerler ve oluşan gruplar.....	65
Çizelge 4.14.	Poliamin + kuraklık stresi uygulanan <i>I. tinctoria</i> bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriği etkisine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar	66
Çizelge 4.15.	Poliamin + kuraklık stresi uygulamasının <i>I. tinctoria</i> bitkisinin indigo içeriğine etkisine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar.....	68

1. GİRİŞ

1.1. Doğal Boyamacılık

1.1.1. Bitkisel boyaların önemi

Genel olarak bitkisel boyacılık tarihi incelendiğinde; bitkilerden boya elde edilmesinin ve yüzeylerin bu şekilde renklendirilmesinin, tarihin çok eski dönemlerinden beri bilinen bir uğraş olduğu ortaya çıkmaktadır. Ancak M.Ö. 2000'de Çinlilerin bitkisel indigoyu bulduğu ve kullandığı, ayrıca ilk defa Hindistan'da tahta kalıplar oyularak batık ve basma boyacılığın yapıldığı bilgileri ise bitkisel boyamacılık tarihi açısından tüm otoritelerce önemli bulgular olarak kabul görmektedir. Mısır'da yapılan mumya kazılarında bulunan renkli kumaşların bitkisel indigo ve çeşitli mordanlar kullanılarak boyandığının anlaşılması, bu bilgilerin Mısırlılar tarafından da kullanıldığını göstermekte ve bitkisel boyacılığın çeşitli medeniyetler vasıtası ile doğudan batıya, Yunanlılara ve Romalılara aktarıldığı anlaşılmaktadır. Ayrıca Afrika'daki yerli halkın günlük yaşamlarında çeşitli renkli eşyalar kullandıkları ve bu eşyaları doğadan elde ettikleri maddelerle renklendirdikleri belirtilmektedir (Akan, 2007).

Doğal boyamacılık Türklerde de köklü bir geleneğe sahiptir. Orta Asya'da halı sanatı ile birlikte başlamış gelişmiş ve yine halı sanatı ile birlikte yaşanan göç sonucunda Anadolu'ya taşınmıştır. Anadolu'nun zengin bitki kaynaklarına sahip olması avantajını da kullanarak, burada daha önce yaşamış uygarlıkların bilgi, gelenek ve görenekleri ile sentezlenerek güçlü bir Türk Doğal Boyacılık kültürü oluşmuştur (Etikan, 2011). Türkler; doğal boyaların boyama tekniklerini başarılı bir şekilde kullanmış ve dünyaya tanıtmıştır. 1715 yılında Fransızlar Türklerden doğal kök boya ile pamuk boyamayı öğrenmiştir. Doğal boyaların kullanıldığı halı ve kilimler iç ve dış pazarda tatmin edici fiyatlarla alıcı bulmuştur (Kırıcı ve ark., 2002).

Doğada yetişen bitkilerden boya elde etme ve pek çok alanda faydalanmayı çok eski zamanlarda öğrenmiş olan insanoğlu, 19. yüzyıldaki sanayileşme hareketleri ile bu yüzyılın son çeyreğinde bulunan kimyasal boyaların etkisiyle doğal boyamacılık geleneğini yavaş yavaş terk etmiştir. Bu kapsamda tekstil ürünlerinin renklendirilmesinde 19. yüzyılın ortalarına kadar bitki, böcek ve minerallerden elde edilen doğal boyalar ve pigmentler kullanılırken 1856 yılında William Henry Perkin'in ilk sentetik boyayı keşfetmesiyle yeni bir endüstri doğmuş, sentetik boya üretimi başlamıştır (Gönen, 2008).

Bitkisel boyaların üretimlerinin az olması ve aynı renk tonunun tekrarlanma zorluğu gibi dezavantajlar olsa da (Tutak ve Benli, 2008) doğal boyarmaddelerinin birçoğunun günümüzde bitkisel ilaçların etken maddeleri olmaları ve antioksidan maddeler içermelerinden dolayı toksik, kanserojen olmaması ve çevre kirliliğine yol açmaması avantajlar arasındadır. Birçok doğal boyarmaddenin antimikrobiyal özellik göstermeleri nedeni ile günümüzdeki önemi gittikçe artmaktadır. Petrol ve petrol ürünleri türevi olmayan bu boyarmadde kaynaklarının birçoğu doğada hiçbir emek harcanmadan kendiliğinden oluşmakta, istendiğinde de tarımı yapılabilmektedir (Genç, 2014).

Gelişen çevre bilincinin de etkisiyle, doğal boyaların popülaritesi artmış ve bu durum da unutulmaya yüz tutmuş bilgilerin tekrar gün yüzüne çıkarılması konusunda bir çabaya dönüşmüştür. Ayrıca, ülkemizin doğal bitki örtüsü içinde var olan bitkilerin değerlendirilip tarımının yapılması ve bu alanda açılacak yeni iş sahalarına boş insan gücü kazandırmasının yanı sıra ve kültürümüzün yaşatılması bakımından da önemlidir. Son yıllarda doğal boyarmaddelerin kullanımı; gıda, farmasötik, kozmetik ve tekstil boyama endüstrisi alanında ivme kazanmıştır. Günümüzde doğal boyarmaddelerin kullanımını desteklemek adına birçok doğal boya projeleri başlamış ve sayıları gün geçtikçe artmaktadır (Deveoğlu ve Karadağ, 2011).

Günümüzde otantik karakterli halıların rağbet görmesi, bitkisel boyalar ile iplikleri boyanmış olan halı ve kilimlere talebin artması, ülkemizde bulunan boya bitkilerinin bol ve çok çeşitli olması, bitkilerin kolay elde edilmesi, bir sonraki boyamaya kadar muhafazalarının zahmetsiz olması, bitkiler ile boyama yaparken fazla bir ekipmana ihtiyaç duyulmaması ve enerji ihtiyacının az olması gibi nedenlerle bitkisel boyacılık yeniden yapılmakta ve kaybettiği önemini kazanmaktadır (Şanlı ve Arlı, 2007).

Bu bitkiler üretim desenine alındığında ekonomik olarak önemli katma değer sağlayacaktır. Doğa turizmi çerçevesinde kültürel unsurlarımız kaynaşarak ülke tanıtımına katkı sağlanacak, turist olarak ülkemize- yöremize gelen insanlara çok uzun zamanda oluşturulan bu güzellikler-farklılıklar sunularak iki taraflı kazanç sağlanmış olacaktır (Akyürek, 2012).

Türkiye tekstil sektöründe Dünyada önde gelen ülkeler arasında bulunmaktadır. Buna rağmen sektör bünyesinde kullandıkları boyarmaddelerin üreticisi değildir. Bu durumda boyamada kullanılan boyarmaddelerin yaklaşık olarak %95'i ithal edilmektedir. Bunların tamamına yakını sentetik esaslı boyarmadde grubuna aittir. Her yıl binlerce dolar

ülke ekonomisine yük teşkil etmektedir. Tekstil sektörü olarak halen kullanılmakta oldukları sentetik boyalara alternatif olarak doğal esaslı boyarmaddeler kullanılmak suretiyle yeni bir açılım sağlanabilir (Benli ve Kalender, 2008).

Bu konuya yeni çözüm yolları getirilmesine gerek duyulmaktadır. Bu çözüm yollarından ilki ülkemizde gittikçe azalan ve doğal boyamacılıkta önem taşıyan bazı boya bitkilerinin tekrar yetiştiriciliğinin yapılmasıdır. İkinci yol; ülkemiz coğrafyasında bol miktarda yer alan dünyada bu alanda kullanımı bilinen fakat ülkemizde bu güne kadar doğal boyamacılıkta kullanılmamış bazı bitkilerin tespit edilip, bu boyar madde potansiyelinin değerlendirilmesidir (Gönüz ve ark., 2006).

Bu çalışmamızda ilk çözüm yolu olan ülkemizde doğal boyamacılıkta önem taşıyan boyama bitkilerinden *I. tinctoria*'nın tekrar kültürünün yapılması ele alınmıştır. Bunun için önce doğal boyamacılık ile ilgili bilginin tekrar gün yüzüne çıkarılması doğal boya piyasasının canlandırılması gerekir. Piyasanın canlanması için; doğal boyanın sentetik boyalarla yarışabilmesi, bu yarışta bende varım diyebilmesi için hammaddenin bol ve ucuz olması gerekir. Hammaddenin bolluğu için günümüz şartlarında uygun yetiştirme koşullarının bilinmesi, bitkisel materyalden az alandan bol verim alınması gerekir. Önemli olan bir diğer faktör ise bitkideki etken maddenin artırılmasıdır. Bitkisel boyanın piyasada var olması ancak ucuza mal edilmesi ve sentetik boyalarla yarışacak düzeyde fiyatının uygun olması ile mümkündür. Tüm bu sebeplerden yola çıkarak *I. tinctoria* bitkisinin sekonder maddesi olan indigo miktarını artırmak ve günümüz piyasasında önemli bir yer almasını sağlamak amaçlanmıştır. Bu yüzden *I. tinctoria* bitkisi kontrollü şartlar altında yetiştirilmiş, bitki çeşitli stres faktörlerine tabi tutulmuş, diğer taraftan hormon verilmiş son olarak da hem stres hem hormon birlikte uygulanarak bitkinin indigo üretim miktarı ölçülmüştür. Tez çalışması kapsamındaki konu ile ilgili bilgiler bundan sonraki kısımlarda kısaca sıralanmaktadır.

1.1.2. Boya-Boyarmadde

Cisimlerin yüzeyinin ya dış etkilere korunması, ya da güzel bir görünüm kazanması için renkli hale getirilmesinde kullanılan maddelere “boya” denir. Boyalar bir bağlayıcı ile karışmış fakat çözünmemiş karışımlardır. Boya sürme işlemi gerçekte bir boyama değil, bir kapatmadır (Akan, 2007).

Cisimlerin kendilerini renkli hale getirmede uygulanan maddelere ise “boyarmadde” denir. Her renk veren veya renkli olan madde boyarmadde değildir. Bütün boyarmaddeler

organik bileşiklerdir. Genellikle çözeltiler veya süspansiyonlar halinde çeşitli boyama yöntemleriyle uygulanırlar. Boyanacak cisimler boyarmadde ile devamlı ve dayanıklı bir şekilde birleşerek cismin yüzeyini yapı bakımından değiştirirler (Akan,2007).

1.1.2.1. Boyarmadde çeşitleri

Boyama işlemi, çeşitli maddelerden doğal veya sentetik yolla elde edilen boyarmaddelerin elyaf üzerine kimyasal bağ oluşumu ile tespit edilmesidir. Doğal boyarmaddeler 3 gruba ayrılır.

Hayvansal kökenli doğal boyarmaddeler

Hayvansal doğal boyarmaddeler doğada mevcut olan koşnil, kermes, murex gibi böceklerden elde edilir. İlk çağlardan beri bilinen ve kullanılan ilk doğal boyarmaddelerdendir. Özellikle kırmızı renk gibi ana renklerin elde edilmesinde böcekler kullanılmıştır. Çünkü hayvansal boyarmaddelerden elde edilen renkler daha parlak ve canlıdır (Akar, 2006).

Mineral boyarmaddeler

Çözünürlüğü olmayan anorganik pigmentlerin doğal şekilde oluşumu ile elde edilen maddelerdir. Madenler, Prusya mavisi, krom sarısı, mineral haki, manganez kahve ve demir kahverengisi gibi boyarmaddelerin kaynağını oluşturur (Kırıcı, 1998).

Bitkisel kökenli doğal boyarmaddeler

Bitkisel kökenli doğal boyarmaddeler pek çok bitkinin kabuk, kök, tohum, meyve, yaprak ve çekirdek gibi kısımlarından elde edilen doğal boyarmaddelerdir (Akar, 2006).

Ülkemizde bitkisel boya kaynağı olarak kullanılabilen 400 kadar bitki türü mevcuttur. En yaygın bilinen boya bitkilerinin başında çivit otu (*I. tinctoria*), kökboya (*Rubia tinctoria*), papatya (*Anthemis tinctoria*), muhabbet çiçeği (*Reseda luteola*) gibi bitkiler gelmektedir. Bu bitkilerin ülkemiz ekolojisinde yetiştirilmeleri açısından kısıtlayıcı herhangi bir durum bulunmamaktadır (Genç, 2014).

Doğada bitkilerin meyve, çiçek ve yaprak aksamlarından basit bir prosedürle elde edilebilen doğal boyalar kırmızıdan mora kadar çeşitli renkler içerir (Hao ve ark., 2006). Boyarmadde içeren ve boyamada kullanılan bitkilerin sayısı çoktur. Boyarmadde bu bitkilerin kök, kabuk, yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarında bulunabilir. Liken ve

yosunların bazıları da boyama yeteneğine sahiptirler. Bitkisel boyarmaddelerin çoğunun haslığı, yani yıkama ve güneş ışığına karşı dayanıklılığı oldukça yüksektir (Bener, 2009).

1.1.2.2. Boyama yöntemleri

Doğal boyalarla boyamada kullanılan bitkinin içerdiği boyarmaddenin kimyasal yapısına bağlı olarak uygulanan 3 farklı yöntem vardır. Bunlar direk, mordanlı ve küp boyamadır.

Direk boyama

Bitkilerin içerdikleri boyarmaddenin doğrudan sıcaklık ve zamana bağlı olarak elyafa aktarılması şeklinde gerçekleştirilen bir boyama yöntemidir. Bu yöntemde yardımcı mordan maddelerine ihtiyaç yoktur. Örneğin, cevizin kabuğunda bulunan juglon yünü doğrudan doğruya boyayan bir tür boyarmaddedir (Karadağ, 2007).

Mordanlı boyama

Doğal boyarmaddelerin birçoğu mordan boyarmaddelerden oluşmaktadır. Bu tür boyarmaddeler yün lifleriyle doğrudan bağlanamazlar, bağlansalar da iyi sonuç vermezler. Bu boyarmaddelerin bağlanmasını sağlamak, boya etkisini güçlendirmek amacıyla kullanılan maddelere ‘mordan’ adı verilir. Asit özellikteki boyarmaddeler için bazik esaslı mordanlama, bazik özellikteki boyarmaddeler içinse asidik esaslı mordanlama gereklidir (Gönen, 2008).

Doğal mordanlar; meşe palamutu, koruk suyu, sütleğen, sirke, odun külü, idrar, kireç taşı, kil, yosunlar, ekşi erik, yoğurt suyudur. En yaygın olan kimyasal mordanlar ise başta şap [$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$] ile saçı kıbrıs [$FeSO_4 \cdot 7H_2O$] olmak üzere, krom ($K_2Cr_2O_7$), bakır göz taşı ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), sodyum sülfat (Na_2SO_4) ve kalay klorür ($SnCl_2$) ve krem tartar ($KHC_4H_4O_6$)’dır (Çömlekçioğlu, 2011).

Bitkisel boyamacılık için kullanılan bitki örnekleri kurutularak veya taze olarak kullanıldığı gibi belirli mordan maddeleri kullanılarak da bir ön işlemden geçirilebilir. Mordan maddelerinin kullanımının amacı, boyaların sabitleşmesini ve değişik renk tonlarının eldesini sağlamaktır (Demir ve ark., 2010). Aynı bitkiden, değişik mordan ve oranları kullanılarak yüzlerce renk spektrumu elde etmek mümkündür. Boyarmadde ile mordan arasındaki kompleks oluşum, elyaf içerisinde meydana geldiği için, mordanlama genellikle renklerin ışık ve yıkama haslığını arttırmaktadır (Kırıcı, 1998).

Küp boyama

Küp boyarmaddeler suda çözünmezler. Bu boyarmaddelerin elyaf üzerinde sabitleşebilmeleri için suda çözünür duruma getirilmeleri gerekmektedir. Bu işlem, boyarmaddenin bir çözelti içinde indirgenmesi yoluyla olmaktadır.

İndigo, bir küp boyarmaddedir. İndigo' nun indirgenmesi için daha önceleri esas bileşeni üre olan karmaşık bileşimdeki çözeltiler kullanılmaktadır. Bu çözeltiler yardımıyla önce indigo indirgenerek çözünür duruma getirilmekte ve sarı bir renk almaktadır. Daha sonra bu sarı çözeltiye elyaf batırılmaktadır. İndirgenme ürünü hava oksijeni tarafından yeniden İndigo'ya yükseltgenir. Bu sırada oluşan ve çözünmeyen indigo, elyafa tutunarak elyafı maviye boyamış olmaktadır (Enez, 1987).

Mavi renk ve tonları indigo veya indigonun türevi olan sulfon asidi ile elde edilmektedir. Sözü edilen boyarmadde dünyada özellikle Hindistan da tarımı yapılan ve Anadolu'da da kolay ulaşılabilen çivit otu (*I. tinctoria*) 'nda bulunmaktadır. Mavi rengi elde etmek için çiviotunun uzun bir fermantasyon sonunda mavinin çeşitli tonlarını sağlayan bir boya verdiği eski çağlarda bilinmektedir. Çivit otu Anadolu'nun pek çok bölgesinde yetişmekte ve boyacılıkta yapraklarında bulunan indican adlı glikozidin kullanıldığı bilinmektedir (Akan, 2007).

1.1.3. *Isatis tinctoria* (çiviotu) ve önemi

Brassicaceae familyasına ait *I. tinctoria*'nın dünyada yaklaşık 79, Anadolu'da ise 25 türü bulunmaktadır. Akdeniz bölgesi, Doğu ve Orta Asya'ya has bir bitkidir. Bu türlerin neredeyse % 90'ına yakın kısmı İran-Turan fitocoğrafik bölgesinde yayılış gösterir (Moazzeni ve ark., 2007). Çivit otu olarak bilinen *I. tinctoria* L. (Brassicaceae), Güneydoğu Asyaya özgü olup Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika genelinde yaygındır. Çiviotu, Akdeniz ülkelerinde tarih öncesi çağlardan beri insanlığın en önemli mavi boya maddesi olan indigo üretilmek için yüzyıllar boyunca yetiştirilmiştir (Verzera ve ark, 2010). Eskiden Anadolu' da tarımı da yapılmış olan çiviotu bitkisi günümüzde Orta ve Batı Anadolu' da yabani olarak yetişmektedir (Deveoğlu ve Karadağ, 2011).

I. tinctoria bitkisinin ilk yıl oluşan yapraklarından elde edilen boya değişik amaçlar için kullanılmaktadır. Geçmişte, yapraklarından elde edilen çivit renkli boyasıyla, çok yaygın olarak halıcılıkta kullanılmıştır. Günümüzde, çevreye zarar vermeden tehlikesizce kullanılabilmesi ve doğada parçalanma özelliğine sahip olması nedeniyle Almanya' da ahşapların bozulmasının önlenmesinde, İngiltere'de yazıcı mürekkeplerinin imalatında

kullanılmaktadır. *Isatis* yapraklarında bulunan glucobrassicin maddesi Çin'de kanser önleyici olarak kullanılmaktadır (Özel, 2007).

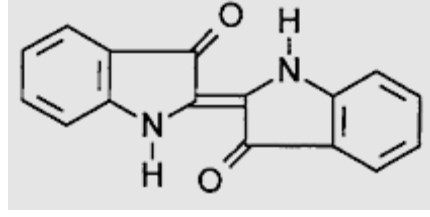
Tarihte renkler daima insan dünyasında önemli bir rol oynamıştır. *I. tinctoria*'da bir boya bitkisi olarak neolitik çağlardan beri ününü korumuştur. Çivit otu bitkisi, eski çağlarda çok kıymetli bir boya bitkisi olarak mavi rengin elde edilmesinde kullanılmaktaydı. İngiltere de polis üniformalarında boyama materyali olarak I. Elizabeth döneminde kullanılmıştır (Tansı ve Karaman, 2005).

Son yıllarda Avrupa Birliği, sentetik olarak üretilen indigoya alternatif bir kaynak sağlamak için çivitotunun Avrupa tarımına tekrar girmesine yönelik çalışmalara fon sağlamaktadır (Gilbert ve ark., 2004). Mesela Avrupa Birliği, 2001 yılında Philip John'un koordinatörlüğünü yaptığı SPINDIGO (The Sustainable Production of Plant-Derived Indigo) Projesine yaklaşık 3.500.000 euro fon sağlamıştır. Ayrıca, AB Finlandiya'da 2000-2005 yılları arasında *Isatis* ve *Polygonum*'un yetiştirilmesi, indigonun ekstraksiyonu ve tekstil sanayinde uygulanmasıyla ilgili bir projeyi de desteklemiştir (Çömlekcioglu, 2011).

1.1.4. İndigo

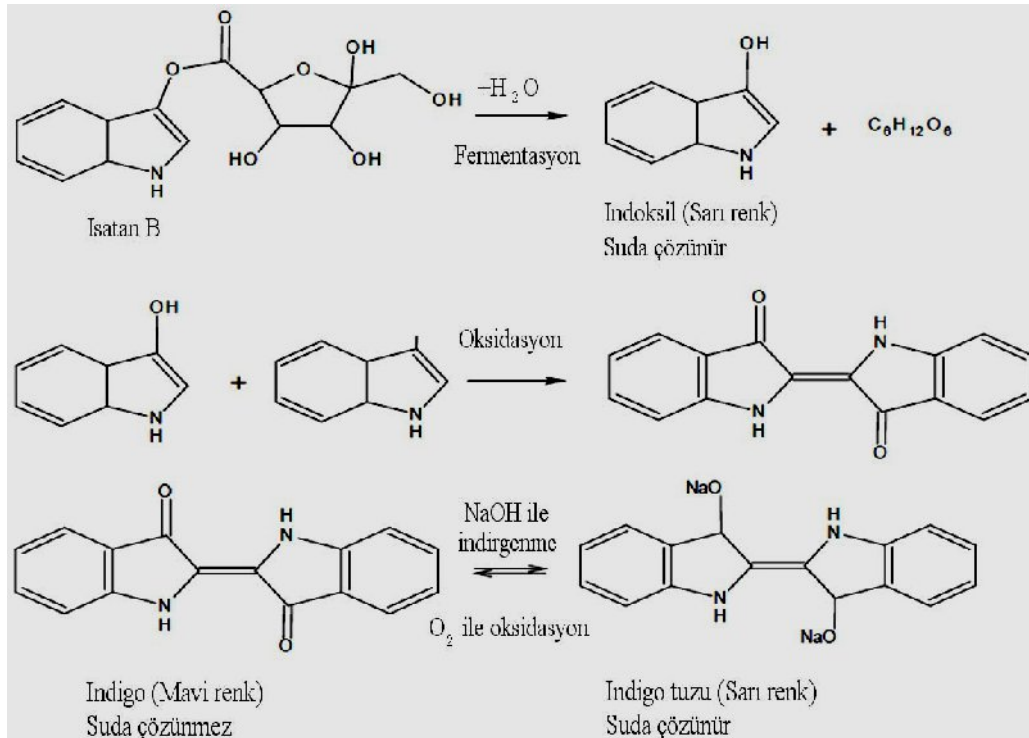
Boya bitkileri ile yapılan boyacılık sanatı çok eski dönemlere dayanmaktadır. Milattan 3000 yıl önce Çinlilerin, bitkisel indigo ve Çin yeşili denilen boyalarla ipek dokumaları boyadıkları bildirilmiştir. Mısır'da yapılan kazılarda bulunan kumaşlardan indigoyu ve mordanları aynı devirde Mısırlıların da kullandıkları anlaşılmaktadır. M.S. 1500 yıllarında boya bilgisi ve denemeleri doğudan batıya ve Akdeniz sahillerine geçerek gelişmeye başlamış, İtalya'da ve Venedik'te ilk büyük boya kitabı çıkarılmıştır.

Bugünkü Pakistan sınırları içerisinde bulunan ve MÖ 3500 yıllarına tarihlendirilen, bu arkeolojik yerleşimde bulunmuş olan indigo boyarmaddesi, günümüze kadar ulaşan en eski ve en önemli veridir. Bu bölgenin o dönem Hindistan'a ait olduğu düşünülürse, indigonun ilk kullanıldığı yerin büyük bir olasılıkla Hindistan olduğu varsayılabilir (Karadağ, 2007). Isaac Newton, XVII. Yüzyıl sonunda güneş ışığının spektrumunu elde ettiğinde yedi renkten birine indigo adını vermiştir (Angelini ve ark., 2003).



Şekil 1.1. İndigo'nun yapısı (Angelini ve ark., 2003).

İndigo iki indoksil molekülünün 7. pozisyonunda birleşmesiyle oluşan aromatik bir bileşiktir ve sulu çözeltilerde çözünür değildir (Şekil 1.1). Suda çözünmeyen indigo, ipler tarafından tutulmadığı için boya olarak kullanılamaz. Ayrıca indigo yaprak dokusunda oluştuğunda, yapraktan elde edilmesi neredeyse imkânsızdır. Bu yüzden işlemi başlatmak için çözünebilir öncüller çıkarılmalı, yaprak dokusundan ayrılmalı ve indigoya çevrilmelidir. Öncülleri indigoya çevirmeden elde etmek için ya hidrolaz aktivitesi uygulanmalı ya da elde etme işlemi anaerobik koşullarda yapılmalıdır. Öncüller ekstraktan izole edilip hidrolizlendiği zaman, indigo oluşturmak için oksitlenmelidirler (Gilbert ve ark., 2000). Bu ara basamaklarda çok dikkatli olunması ve doğru materyal kullanılması gerekmekte olup, aksi takdirde farklı renk oluşumları gözlenmektedir.



Şekil 1.2. Isatan B'nin indigoya ve indigonun lökoindigoya dönüşümü (Gilbert ve ark., 2000)

Yaprakların fermentasyonu sonucu hidrolizlenen indikandan oluşan indoksil havadaki oksijen tarafından indigoya yükseltgenir. Oluşan indigo fermentasyon

ortamındaki indirgenler tarafından açık sarı renkli leuco-indigoya indirgenir. Alkali ortamda çözünen açık sarı renkli bu bileşik tüm bitkisel lifleri doğrudan boyar. Daha sonra lifler üzerine tutunmuş olan sarı renkli indirgenme ürünü, hava oksijeni tarafından hızla mavi renkli indigoya yükseltgenir (Şekil 1.2.) (Kızıl, 2000; Çömlekciöglü, 2011).

En eski boyalardan biri mavi rengi veren indigodur. Günümüzde tropikal ve subtropikal ülkelerde doğal yollarla az miktarda indigo çeşitli indigo üreten bitkilerden elde edilmektedir. İndigo ikincil bir metabolizma ürünüdür ve bitkide yerel bir ürün olarak bulunur (Akar, 2006).

Küp boyama da doğal mavi boya bitkilerinin özütünü elde etme ve saklama işlemleri yapılırken elde edilen boya özütünün boyama özelliği, kullanılan boya bitkisinin türüne, yaprakların yapısına, bitki üzerinde gelişen bakterilere ya da yapraklarda var olan enzimlere ve öncüllerin konsantrasyonuna, özelliklerine ve kimyasına bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir (Batur, 2011). İndigo üretimini arttırmak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Kullanılan anahtarlar yaprak ağırlığı ve yaprak ağırlığı başına indigo ürünlerinin parametreleridir. Yine indigo ürünleri ve hava sıcaklığı, küresel radyasyon, gün uzunluğu, yağış miktarı gibi başlıca çevresel parametrelerle arasındaki ilişki analiz edilmektedir (Akar, 2006). Bu çalışmada bitkilerin dış ortamda sıklıkla maruz kalabileceği bazı stres faktörlerinin ve bazı hormonların indigo miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır.

1.2. Bitki Gelişim Düzenleyiciler (Bitkisel Hormonlar)

Bitki Gelişim Düzenleyiciler 'in (BGD) varlığına ilişkin ilk bilgiler 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Bu dönemde, 40-50 yıllık süre içinde, bitki fizyolojisi konularında yapılan çalışmalar, BGD'lerin bitki büyüme ve gelişmesindeki rollerini ortaya koymuştur. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, BGD'lerin bitkisel üretimde kullanılması verimi artırmakta, üründe kaliteyi yükseltmekte, bitkilerin hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığını arttırmakta ve daha iyi depolama imkanları sağlayarak, ürünlerin ihracat şansını artırmaktadır. Bu nedenle BGD'ler ülkemizde ve tüm dünya ülkelerinde kullanılmaktadır (Karakuş ve Köker, 2007).

BGD'ler sentetik fitohormonlar olarak da adlandırılır. Fitohormon bitki gelişimi ile diğer fizyolojik fonksiyonları kontrol eden, doğal olarak bitki içerisinde üretilen organik maddelerdir. Bu maddeler yüksek bitkilerin çeşitli organlarından ve bir kısım mantarlardan

elde edilmektedirler. Bitki içerisinde kimyasal mesaj iletici olarak görev alırlar. Belirli hücrelerde üretilen hormonlar diğer hücelere transfer edilerek bitki gelişimi kontrol edilir (Morsümbül ve ark., 2010).

Bitki büyüme düzenleyicisi (BBD) bir bitkideki bir veya daha fazla fizyolojik olayı kontrol veya modifiye eden, doğal ya da sentetik organik bir bileşiktir. Bazı hormonlar, fizyolojik tepkiler oluşturacağı bir dokuda üretilip diğerlerine transfer edilirken, bazıları ise aynı dokuda üretilip orada fonksiyon gösterirler. Bir kısım hormonlar bitkilerde teşvik edici etkide bulunurken, diğer bir kısmı ise engelleyici etkide bulunurlar. Bu nedenle, hormonları sadece “teşvik edici kimyasallar” olarak değerlendirmekten ziyade, “kimyasal düzenleyiciler” olarak adlandırmak daha doğrudur. Aynı hormon, bir bitkinin farklı dokularında değişik tepkiler verebilir veya aynı dokunun farklı gelişme devrelerinde etkili olabilirler (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

Söz konusu maddeler bitkilerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunmakta ve bitkilerde önemli görevler üstlenmektedirler. Bu miktar dışarıdan ilave edilmek suretiyle biraz artırılırsa enteresan neticeler alınmaktadır. Sonradan bu hormonlar çeşitli yollarla üretilmiş ve kullanıma sunulmuşlardır. Ayrıca yapıları bitkilerde bulunan doğal hormonlara benzeyen sentetik düzenleyiciler üretilmiş ve hormon isminin elde edilen maddeleri tam tanımlamamasından hareketle bunlara büyüme ve gelişme düzenleyiciler (BGD) denmesi daha uygun bulunmuştur. Elde edilen maddelerin bir kısmı büyümeyi teşvik ederken diğer bir kısmı da engellemektedir. Hatta aynı düzenleyici farklı zaman ve konsantrasyonlarda uygulanırsa dahi farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu sebeple BGD’lerin kullanılmasında istenilen netice alınması için uygulama zamanının ve konsantrasyonlarının iyi ayarlanması gerekir. Bir diğer yönden düşük konsantrasyonlarda büyümeyi artırabilen bir BGD konsantrasyon artırıldıkça büyümeyi engelleyebilmektedir (Güleryüz, 1982).

Bitki hormonları protein yapısında olmayan organik asit maddelerdir. Pek çok yönleriyle memeli hormonlarından ayrılırlar. Bitki hormonlarının birden çok görevi vardır ve etki oluşturmak için genelde birden fazlasının bir arada olması gerekir. Günümüzde pek çok BGD, kalite ve verimi artırmak için tarım ürünlerinde kullanılmaktadır. Bitki hormonları oksinler, gibberellinler, sitokininler, etilen, absisik asit ve jasmonatlar olarak sıralanabilir. Bunların içerisinde dünyada en fazla kullanım alanına sahip olan etilendir, bunu sırasıyla oksin ve giberellinler takip eder. Sitokininler ise daha az bir kullanım oranına sahiptir (Çetinkaya ve Baydan, 2006).

BGD'ler günümüzde bazı alanlarda muhtelif amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçlar arasında çiçek ve meyve seyreltilmesi, çelik köklendirilmesi, çimlenme, meyve tutumu ve partenokarpi, dinlenme mekanizmasını etkileme, cinsiyet oluşumu, çiçeklenme, meyve kalitesini artırma, hasat öncesi dökülmeleri azaltma, yaşlanmayı geciktirme, muhafaza, doku ve meristem kültürleri ve hastalık ve yabancı ot mücadelesi sayılabilir (Barut, 1995).

Bitki steroidleri, böcek, hayvan ve insan steroid hormonları ile yapısal benzerlik gösteren 70'ten fazla bileşiği kapsamaktadır. Yeni bir bitki hormon sınıfı olan brassinosteroidler (BR), bitkilerde sıklıkla rastlanan bitki steroidlerinin spesifik bir grubudur (Surgun ve ark., 2012). Son yıllarda, büyüme düzenleyici maddeler grubuna Poliamin (PA) olarak adlandırılan bir grup eklenmiştir. PA'ler tüm canlılarda doğal olarak bulunan ve yaşam için gerekli olan, çok fonksiyonlu, bir veya daha fazla amin grubu taşıyan bileşiklerdir. Yukarıda açıklamaları yapılan bitki büyüme düzenleyicileri şu şekilde sıralanabilir.

1.2.1. Oksinler

Oksinler, bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi etkileyen en önemli gruptur. Bitki kökünde doğal olarak az bulunmaktadır. Kimyasal aktiviteyi, odun teşekkülünü (bitki gövdesinde dayanıklı sert yapının oluşumunu), meyve bölünmesini teşvik etmektedir ve peritonakarpik (çekirdeksiz) meyve oluşumuna katkı sağlamaktadır. Bitkinin en önemli metabolik olaylarından olan solunumu hızlandırmakta ve hücresel bölünmeyi gerçekleştirmektedir (Morsümbül ve ark., 2010).

Oksin sürgün ucunda sentezlenir ve alttaki dokulara bazipetal olarak taşınır. Gövde veya koleoptil ucunun hemen altındaki bölgeye oksinin sürekli sağlanması bu hücrelerde uzamanın sürekliliği için gereklidir. Normal sağlıklı bir bitkinin uzama bölgesindeki içsel oksin düzeyi büyüme için neredeyse optimum düzeyde olduğundan, bitkiye dışarıdan oksin püskürtülmesi, büyümede kısa süreli teşvik edici olabilir (Taiz ve Zeiger, 2008).

1.2.2. Giberellinler

1950'li yıllarda karakterize edilen giberellinler 80'den fazla bileşiğin bulunduğu bir gruptur. Giberellinlerin esas etkisi, bitkilerin boyuna büyümesini sağlamaktır. Böylece uzun bir bitki gövdesi aktif giberellinleri, cüce bir bitki gövdesinden daha fazla ihtiva eder. Giberellinlerin sentezi ve kontrolü genetik kontrol altındadır (URL1). Giberellinler hücre bölünmesi ve uzamasını, tohumda uyku halinin kırılmasını ve hızlı çimlenmeyi teşvik eder.

Yaygın kullanımı olan Gibberellik asit (GA3) bazı bitkilerde meyve tutumunu, meyve iriliğini artırmada kullanılmaktadır (Karakuş ve Köker, 2007).

1.2.3. Sitokininler

Bitki dokularında özellikle hücre bölünmeleri esnasında ortaya çıkan, diğer hormonların aksine, hem bitkilerde, hem de hayvanlarda bulunan kinin yapısındaki organik maddelerdir. Yapraklardaki sararmanın (klorofil kaybının) geciktirilmesi de sitokinin uygulamasıyla mümkündür (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

1.2.4. Etilen

Basit bir hidrokarbon gaz olan etilenin (C₂H₄), bir bitki hormonu olarak benimsenmesi 1960'lı yıllarda gerçekleşmiştir. Etilen bitkide bulunan gaz halindeki tek hormondur. Özellikle muz, narenciye, kavun, armut, domates, ananas, hurma gibi meyvelerin sarartılıp olgunlaştırılmasında etilen salgılatıcı olarak kullanılır. Ülkemizde Tarım Bakanlığınca ruhsatlandırılmış, etilen türevli ethephon ve ethephoncyclanilid karışımı etkin madde ihtiva eden ürünler bulunmaktadır (Çetinkaya ve Baydan, 2006).

1.2.5. Absisik asit

Bitki gelişiminin düzenlenmesinde doğal büyüme düzenleyici maddelerin yanında aksi yönde etki eden engelleyici doğal maddelerde bulunmaktadır. Bunların en önemlisi absisik asit'tir. Büyüme ve gelişme ancak büyümeyi teşvik edicilerle ABA'nın uygun oranlarda bulunmaları ile belli boyutlara ulaşabilir. Büyüme ve gelişme döneminde büyümeyi teşvik eden maddeler bitkide hakim iken olgunlaşma veya büyümenin sonuna doğru absisik asit hakim duruma geçmekte ve büyüme kontrol altına alınmaktadır (URL2).

Yapraklardaki absisik asit konsantrasyonu kuraklık koşullarında 50 kat artabilir. Bu artış, çevresel bir sinyale yanıt olarak herhangi bir hormon için bildirilen en dramatik değişimdir. Absisik asit biyosentezi ya da eşit olmayan dağılımı stomaların kapanmasında çok etkilidir. Stres altındaki yapraklarda absisik asitin birikimi, su stresi koşullarında transpirasyon ile yitirilen su kaybının azaltılmasında önemli rol oynar (Taiz ve Zeiger, 2008).

1.2.6. Jasmonatlar (JA)

Jasmonatlar α -linolenik asitten sentezlenir. Yaklaşık 20 yıl kadar önce JA ve onun kokulu esteri olan MeJA (metil jasmonate)'in bitki büyümesini engelleyici rolü belirlenmiştir. Çiçeklerden (örneğin yasemin, *Jasminum grandiflorum* L. Ve *Rosmarinus officianalis* L.) ve çeşitli meyvelerden elde edilen kokulu bir bileşiktir. Eğrelti otu, yosun, bazı mantar ve alglerle birlikte yaklaşık 206 bitki türünde jasmonik asite rastlanmıştır. Son zamanlarda MeJA'in bitki genlerindeki sinyal moleküllerinde önemli olduğu belirlenmiş, özellikle bazı spesifik bitki genlerinin tezahürünü belirgin olarak artırdığı tespit edilmiştir. Özellikle stres anında bitkiye gelen bir zarar durumunda ortaya çıkan tepki genlerinin oluşmasında etkilidir (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

1.2.7. Brassinosteroidler (BR)

Brassinosteroidler dikkate değer biçimde büyümeyi teşvik edici aktiviteye sahip olan yeni bir grup bitki hormonlarıdır. Bitkilerde BR'lerin fizyolojik etkileri büyümenin teşviki, döllenenin arttırılması, vejetatif gelişim periyodunun kısaltılması, meyve kalitesi ve boyutunun arttırılması, meyve kalitesi ve besinsel komponentlerin içeriğini etkileme, uygun olmayan çevresel faktörler, stres ve hastalıklara dayanıklılığının arttırılması, ürün verimliliğinin arttırılması olarak sıralanabilir. Brassinolid (BL), 24-epibrassinolid (24-epiBL) ve 28-homobrassinolid (28-homoBL) fizyolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan biyolojik aktif brassinosteroidlerdir (Surgun ve ark., 2012). Bitkilerde pek çok steroid tanımlanmıştır, ancak sadece brassinosteroidler olarak adlandırılan bir steroid sınıfı, bitkiler aleminde geniş bir dağılıma ve eksojen (dışsal) olarak uygulandıkları zaman büyümeyi teşvik edici aktiviteye sahiptir. Ayrıca, gövde uzaması, yaprak gelişimi, ksilem farklılaşması, polen tüpü büyümesi, epinasti ve senesens gibi bitki büyümesi, farklılaşması ve gelişiminde çok geniş fizyolojik görevleri olduğu da bilinmektedir (Çingil, 2005).

1.2.8. Poliaminler (PA)

Poliaminler 300 yıldan beri bilinmelerine karşın, fizyolojik etkileri ancak son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Bir amino asit türevidir olan poliaminlerin putresin, kadaverin, spermidin ve Spermin olmak üzere başlıca 4 tipi bilinmektedir. Endojen poliaminlerin ışık, hormon, polinasyon, stres ve senesens gibi uyarılara verdiği cevapları, taşınımları ve eksojen uygulama sonucundaki etkileri nedeniyle bitkilerde düzenleyici rol oynadığı ifade edilmektedir (Bozcuk ve Tekin, 1996).

Amino asitlerin dekarboksilasyonu ile oluşan yan ürünlerin birbirleri ile birleşmeleri sonucu oluşan ve çok sayıda amino grubu içeren katyonik bileşiklere poliamin adı verilir. Poliaminlerin başlıca görevi nükleik asitlerin hücre içi konformasyonlarını stabilize etmek ve hücre döngüsünü düzenlemektir. Poliaminler somatik embriyogenez de dahil olmak üzere sap veya gövde kalınlaşmasını, çiçeklenmeyi, kök büyümesi ve gelişmesini, yumru gelişimini, meyve olgunlaşmasını düzenlemektedirler (Kireçci, 2006). Poliaminler büyümeyi teşvik, hücre bölünmesi, DNA replikasyonu ve hücre farklılaşması gibi düzenleyici işlemlerde geniş rol oynarlar. Poliaminler, tuz stresi de dahil çeşitli abiyotik streslerle karşılaştıklarında çok yıllık bitkilerin stres toleransında artış gösterir (Mutlu ve Bozcuk, 2013). Poliaminlerin dışarıdan uygulamaları abiyotik streslere karşı çeşitli bitkilerin toleransını artırabilir (Kreczmer ve ark., 2013).

Bazı araştırmacılar çeşitli koşulların çimlenme ve büyüme üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkinin poliamin grubu maddelerle ortadan kaldırılabileceğini belirtmişlerdir. Bu nedenle bu çalışmada, *I. tinctoria*'nın yapraklarına uygulanan spermin, spermidin ve putresin hormonlarının, kurak ve tuzluluk stresinde karşısında indigo verimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

1.3. Stres ve Stres Kaynakları

Biyolojik olarak stres; bitkinin normal gelişimini azaltan veya olumsuz yönde değiştiren, çevre şartlarındaki herhangi bir değişiklik olarak tanımlanmaktadır. Yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, düşük sıcaklık ve diğer faktörler yer kürenin büyük kısmında bitkilere negatif etki yapmakta, bitki örtüsünün azalmasına neden olmaktadır. Doğal ve tarımsal şartlar altında bitkiler sürekli strese maruz kalmaktadır. Bazı çevresel faktörler birkaç dakika içinde stres oluştururken bazıları günler haftalar alabilir. Hatta besin elementleri gibi diğer bazı faktörler ise aylar yıllar sonra stres oluşturabilirler (Binici, 2005).

Tarımda gelişmiş ülkelerde son yıllarda bitki büyümesinin matematiksel modellerle ifade edilmesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Çevre şartlarının (ışık, sıcaklık, su ve toprak sıcaklığı vb.) etkisi ile bitki büyümesindeki değişiklikler bitki büyüme modelleri (ürün modeli) ile ifade edilmeye çalışılmakta ve bitki büyümesi ile verim arasındaki ilişkileri ortaya koymak amaçlanmaktadır. Son yirmi yıldan beri çevre şartlarının bitkilerin büyüme ve verimleri üzerine olan etkisinin tamamen açıklığa kavuşturulması amacıyla yoğun araştırmalar yürütülmektedir (Kandemir, 2005).

Bitkilerin en önemli özellikleri tomurcuk ve kök ucunda bulunan apikal meristemlerin sürekli aktif olması sayesinde yaşamları boyunca büyüme özelliğine sahip olmalarıdır. Bitkilerdeki büyüme ve gelişme, içsel ve dışsal faktörlerin kontrolü altındadır. Büyüme gelişme ancak uygun çevresel koşullar altında normal seyirinde gerçekleşebilir. Çevresel koşullarda meydana gelen her değişim, bitki büyüme ve gelişimini de belirli oranda etkilemekte ve stres kavramını ortaya çıkarmaktadır (Eyidoğan ve ark., 2007).

Stres kavramı, elverişsiz çevredeki bitki zindeliğini ifade eden stres direnciyle yakından alakalandırılır. Bir bitki için çok stresli olan bir çevre, diğeri için olmayabilir. Doğal ve tarımsal şartlar altında, bitkiler strese korunmasız kalır. Bazı çevresel faktörler (hava sıcaklığı gibi) birkaç dakika içinde çok stresli hale gelirken, diğeri günler, haftalar (topraktaki su), hatta aylar (bazı mineral gıdalar) sonra çok stresli hale gelir. Stres çeşitlerinin bazılarını ve bitkiler üzerindeki etkilerini şu şekilde sıralayabiliriz.

1.3.1. Sıcaklık stresi

Bitkiler fotosentez, solunum, net asimilasyon ve transpirasyon gibi temel fizyolojik olayların gerçekleşmesi ve bu olaylarla ilgili olarak büyüme ve gelişme olaylarını yönlendiren enzimlerin, hormonların ve renk pigmentlerinin oluşumu için sıcaklık ve ışığa ihtiyaç duyarlar. Yüksek sıcaklık stresi, özellikle optimum büyüme sıcaklığındaki 1.5-6°C'lik artış ile fotosentezin engellenmesine, hücre membranlarının zararına ve senesense bağlı hücre ölümüne neden olarak büyüme ve gelişmeyi sınırlayan abiyotik stres koşullarından biridir. Bununla birlikte, hayat döngülerinin bazı evrelerinde birçok tarımsal ürün yüksek sıcaklık stresine maruz kalmaktadır. Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal işlemlere zarar vererek büyüme, ürün ve kalitede azalmaya neden olmaktadır (Kandemir, 2005).

1.3.2. Düşük sıcaklık stresi

Düşük sıcaklık, birçok kültür bitkisinin büyüme ve verimini sınırlayan ve önemli ekonomik kayıplara yol açan bir stres faktörüdür (Çınar ve ark., 2002). Üşüme hasarı normal gelişim için sıcaklıklar düşük olduğunda hassas türlerde oluşur. Soğuk stresi genelde 0°C ile yaklaşık 15°C arasında değişen sıcaklıklarda görülür. Soğuk stresinde bitkilerde zarar alma derecesi soğukun şiddetine soğukta kalma sürelerine ve ortam sıcaklığının soğuktan sığa dönüşmesindeki süreye bağlıdır (Korkmaz, 2008).

1.3.3. Tuz stresi

Dünyada işlenen toprakların yaklaşık 1/3'ü kurak ve yarı kurak topraklardır. Bu toprakların önemli bir kısmı tuzluluk ve alkalilik problemi ile karşı karşıyadır. FAO ve UNESCO'nun tahminlerine göre dünya sulanan alanlarının yarısı veya daha fazlası tuzlulaşma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Her yıl yaklaşık olarak on milyon hektar alan tuzluluk veya alkalilik problemi nedeni ile tarımda kullanılmaz hale gelmekte ve terk edilmektedir. Bitkilerin yaşam sürecini ve verimini kısıtlayan en önemli faktörler biyotik ve abiyotik stres faktörleridir. Uzun süredir üzerinde yoğun olarak çalışılan ve başarılı sonuçlar alınan biyotik stres faktörleri, son dönemde yerini abiyotik stres faktörleri üzerinde çalışmalara bırakmıştır (Binici, 2005).

Tuz stresi problemi, topraklarımızın hiç de küçümsenmeyecek kısmında sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Halen üzerinde tarım yapılabilen ve verim gücü yüksek olan topraklarımız içinde her geçen gün tuzlanma ve dolayısı ile çoraklaşma tehlikesi artmaktadır. Ekonomik potansiyeli daha çok tarıma dayalı olan ülkemizde, daha ekonomik yöntemlerle, tuzlu toprakları da kullanarak ekim alanlarının genişletilmesi ve ekilen sahalardan mümkün olan yüksek verimin alınması zorunluluğu vardır (Çavuşoğlu, 2006). Tuzluluk ve bor toksisitesi gibi abiotik stres koşulları bitkilerde gelişimi ve verimliliği kısıtlayan en önemli etkenlerin basında gelmektedir (Söylemezoğlu ve ark., 2010).

Kültür bitkileri tuza çok hassastır. Günümüzde tuzlanma 20 milyon hektardan fazla alanda verimli tarımı kısıtlamaktadır. Bu nedenle stres koşullarına dirençli bitkilerin geliştirilmesi bitki biyoteknolojisinin en çok çalışılmakta olan konularının arasında yer almaktadır (Öktem ve ark., 2005). Tuzlu topraklarda ve tuzlu su kaynaklarının kullanılması gerektiği yerlerde verim kayıplarını en aza indirmek için tuzluluğa dayanıklı bitkiler yetiştirilmelidir. Yüksek oranda çözülebilen tuz içeren ortamlarda bitkilerin büyüebilme ve kabul edilebilir düzeyde verim vererek hayat devresini tamamlayabilme kabiliyeti şeklinde tanımlayabileceğimiz tuz toleransı, bitkide farklı şekillerde kendini göstermektedir. Her bitkinin tuzluluğa gösterdiği tepki farklıdır. Ancak bütün kültür bitkilerinde, bitki türüne göre değişmekle birlikte belirli bir tuzluluk düzeyinden sonra verimde kararlı bir azalma görülür. Her bitki bir eşik tuzluluk düzeyine kadar verim kaybetmez iken söz konusu eşik değeri aşıldıktan sonra birim tuzluluk artışına paralel olarak verimde doğrusal bir azalma göstermektedir (Safi ve ark., 2013).

Tuza duyarlı bitkiler, tuzlu ortamlarda kontrolsüz bir iyon alımı yapmaktadır. Tuzu içleyen bitkilerde ozmotik düzenleme tuzların bitkinin belirli kısımlarında akümülyasyonu ile sağlanır. Sodyum seven bitkilerde Na, K'un vakuollerdeki ozmotik rolünü ve bazı spesifik fonksiyonlarını üstlenmektedir (Güneş ve ark., 2009).

Diğer bir tuzluluk stresi de kök bölgesinde olmaktadır. Tuza duyarlı bitkiler yüksek konsantrasyonlarda tuz ile karşılaştıklarında köklerin gelişimi engellenir ve aynı zamanda tuz toksisitesinden etkilenir; fakat büyümedeki sınırlamalar ve toksitite belirtileri daha çok sürgünlerde görülmektedir. Böylelikle tuzluluk stresi bitkilerde iç ve dış bölümlerin birlikte etkileri sonucu kendisini gösterir (Lauchi ve Epstein, 1984).

1.3.4. Su eksikliği (kuraklık) stresi

Bitkiler geliştikleri doğal çevrelerinde oluşan ekstrem şartlara karşı geliştirdikleri zararı en aza indirirler. Su bütün canlı organizmalarda biyokimyasal ve fizyolojik olayların gerçekleşebilmesi için gerekli bir ortamdır. Ayrıca bitki hücrelerinin turgor basıncının sürdürülmesi ve hücre genişlemesinin sağlanması için de önemli bir maddedir. Bitki çevresinde meydana gelen önemli seviyedeki su azalması ozmotik strese neden olur ve bunun sonucunda bitki gelişmesini olumsuz etkileyerek, aşırı derecede strese sebep olur. Bunun sonucunda, verim düşüşüne ve neticede ölüme yol açabilir (Battal ve ark., 2007).

Küresel ısınma ve kuraklık nedeniyle önemi gittikçe artan su kaynaklarının etkin kullanımı, suyun en fazla tüketildiği alan olan tarımda da kendini yeni teknolojilerin ve yöntemlerin kullanımıyla göstermektedir. Türkiye'de mevcut su kaynaklarının yüzde 75'i tarımda kullanılmaktadır. Dolayısıyla, tarımda kullanılan sudan tasarruf edilmesi ülke kaynaklarının doğru kullanımı açısından son derece önemlidir. Tarımda su yönetimi konusu son yıllarda giderek artan önemle üzerinde durulan konulardan biri haline gelmiştir (Yazar ve ark., 2007).

Sulama suyu kaynaklarının kısıtlı olması, son yıllarda su tasarrufuna yönelik çalışmalara ağırlık verilmesini gerektirmiştir. Sulama suyu ihtiyacı fazla olan bitkilerin sulanmasında yapılabilecek kısıntı miktarlarının verime olan etkilerini araştıran projeler uygulanmaktadır. Su kaynağının sınırlı ya da maliyetinin yüksek olduğu durumlarda tam sulama yerine, birim sudan en fazla üretimi sağlayan kısıntılı sulama programlarının uygulanması gerekir. Aynı zamanda fazla su, toprakta tuzlanma, çoraklaşma ve toprak erozyonuna neden olacağından, kısıntılı sulama ile bu olumsuzluklar da belli oranlarda

azaltılabilir. Bir kısıtlı sulama işletmeciliği, uygulanan su ile verim arasındaki ilişkileri ortaya koyan verim fonksiyonlarına dayanır (Güneş ve ark., 2008).

Dünyada ciddi bir iklim değişikliği yaşanmakta ve iklim bilimciler ülkemizin de içinde bulunduğu geniş alanlarda kuraklık tehlikesine işaret etmektedir. Türkiye’de 4,5-5 milyon ha kadar tarım arazisine yıllık 400 mm’nin altında yağış düşmektedir. Türkiye’de yenilenebilir su kaynaklarının tamamı geliştirilerek sulamada kullanılsa bile tarım alanlarının tamamının sulanmasına yetmemektedir. Bundan dolayı tarım alanlarımızın önemli bir kısmında kuru tarımın yapılması zorunludur. Ayrıca dünyada ve ülkemizde zaman zaman kurak periyotlar yaşanmakta ve bu dönemlerde tarımsal üretimde önemli oranda verim kayıpları oluşmaktadır. Bu nedenle kurak dönemlerde ve kurak alanlarda kuraklığa dayanıklı bitkilerin kullanılması kuraklığa karşı alınacak önlemler arasında bulunmaktadır (Safi ve ark.,2013).

1.3.5. Su baskını stresi

Bitkiler su noksanlığında olduğu gibi su fazlalığında da strese girerler. Tarım topraklarının geçici olarak suyla kaplanması durumunda; su altındaki topraklarda O₂ noksanlığı ve CO₂ toksitesi ortaya çıkar. Su baskınları dünyanın birçok yerinde tarımsal üretimi kısıtlamaktadır. Dünyada her yıl yaklaşık 10 milyon hektar alan su baskınlarından etkilenmektedir. Aşırı yağış, topografya ve yetersiz toprak drenajı yüzünden meydana gelen su baskınları Türkiye’de bazı ürünlerin üretimini azaltmaktadır (Kılınç ve ark., 2007).

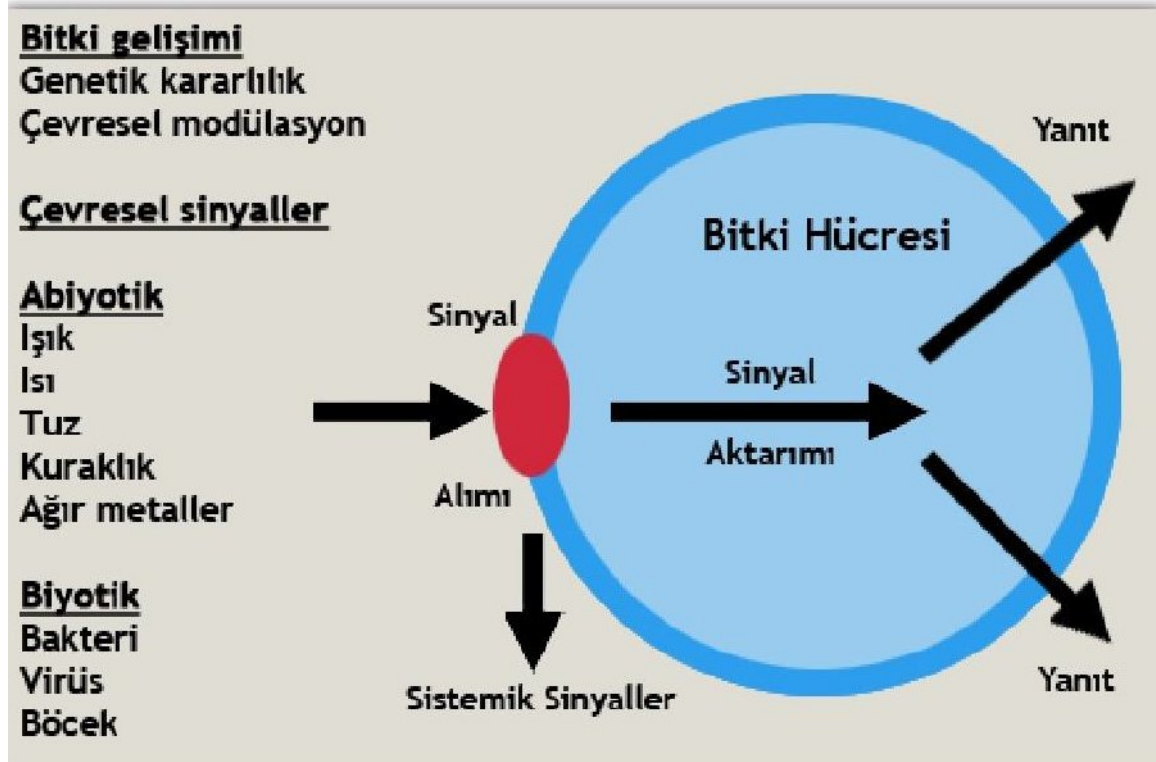
1.3.6. Bitkilerde stres tepkileri

Bitkilerin karşılaştıkları bir stres faktörüne karşı verdiği tepkiler iki ana başlık altında toplanabilir.

Kaçınma: Stres faktörlerinin bitki dokularına girişinin önlenmesi veya azaltılmasını ifade eder.

Tolerans: Stres faktörlerin etkisini elimine etme, azaltma veya tamir etme mekanizmalarıdır. Bu tepki tipi, doku seviyesindeki değişiklikleri, hücresel seviyedeki değişiklikleri ve moleküler seviyedeki değişiklikleri kapsamaktadır. Birçok bitki türünün coğrafi olarak dağılımında ve hayatlarını başarı ile sürdürmelerinde bitkilerin değişik abiyotik stres koşullarına karşı koyabilme yetenekleri başrolü oynamaktadır. Bitkiler strese

karşı koyarken çeşitli bileşikler ve maddeler salgırlar. Bu maddeler bitkinin strese karşı tepki vermeye başlamasını sağlamaktadır (Uzunlu, 2006).



Şekil 1.3. Bitki gelişiminde ve çevresel uyarılara yanıtta sinyal iletimi (Bülbül, 2013)

Modern tarımda ürün kalitesi, verim ve ekonomik değer ön planda tutulduğu için; stres faktörlerinin yarattığı olumsuz etkilerin elimine edilmesi gerekmektedir. Bunun için; uygun ve doğru gübre uygulamaları, toprakta tuzluluk yaratan etkilerin ortadan kaldırılması, genetik olarak strese dayanıklı türlerin ıslah edilmesi gereklidir.

Bitkisel üretimde bitkilerin stres koşullarına karşı toleransını arttırmak çok önemli ve arzulanan bir olaydır. Fakat şu ana kadar yan etkisi olmadan birçok stres faktörüne karşı bitkilerin toleransının artırılmasını sağlayacak basit bir yöntem bulunamamıştır. Bu çalışma için *I. tinctoria* bitkisinin yaprak ve indigo veriminin yüksek olması, ticari bir tür olması ayrıca çimlenme ve çıkış probleminin olmaması göz önüne alınmıştır. Tüm bu nedenlerden dolayı bu çalışmada özellikle yaşam süreleri boyunca en hassas oldukları fide aşamasında bir veya birden fazla stres faktörüne maruz kalmaları neredeyse kesin olan ve ülkemizde doğal boyamacılıkta yetiştiriciliği yapılan *I. tinctoria* bitkisi üzerinde durulmuş olup daha iyi şekilde nasıl verim elde edilebilir sorusuna yanıt aranmıştır. Tekrar gündeme gelen, çeşitli özellikleri yoğun bir şekilde araştırılan *I. tinctoria* bitkisinin indikan üretimi üzerine farklı uygulamaların etkisi incelenmiştir. Yapılan literatür taramasında bitkide

varlığı bilinmeyen maddelerin açığa çıkarılmasına yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, indikan üretimini arttırmaya yönelik çalışmalara pek rastlanmamıştır. Fakat eğer bu bitkiden elde edilen indigonun büyük çaplı kullanılması ve ticari hale getirilmesi isteniyorsa, indigo öncülü olan indikan miktarını arttırmak öncelikli hedeflerden birisi olmalıdır. Sonuç olarak, doğal indigonun indigo piyasasında pazar payı elde etmesi ve ticarileşmesinin yolu daha ucuz olması ve üretiminin daha fazla olmasından geçmektedir. Bu yüzden bu çalışmada, çeşitli fizyolojik uygulamalara tabi tutarak bitki yaprağındaki indikan miktarını ve dolayısıyla indigo verimini arttırmak için çalışılmıştır.

Bu çalışmada, yapraklarından mavi boya (indigo) üretilen ve tıbbi açıdan önemli bir bitki olan *I. tinctoria* bazı fizyolojik stres koşullarındaki indigo üretimi tepkisi araştırılmıştır. Kontrollü koşullarda yetiştirilen *I.tinctoria* fidelerine 1. Aşamada poliamin hormon uygulamaları yapılarak, 2. Aşamada bitkiler kuraklık ve tuz stresine maruz bırakılarak bitkilerin indigo üretim tepkileri ölçülmüştür. Son olarak hormon uygulanmış olan çiviotu fidelerinin hormonlara stres koşullarındaki indigo üretim potansiyeli araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Doğal Boyamacılık ve *I. tinctoria* (Çivitotu) ile İlgili Önceki Çalışmalar

Kırıcı ve ark. (2002), Adana ve çevresinde, doğal florada bulunan kilim ve halı dokumasında kullanılan boya bitkilerini belirlemişlerdir. Adanaya bağlı üç ilçede yaptıkları arazi çalışmalarında bitkisel boya olarak kullanılan ve kullanılabilecek olan 19 familyada, 37 bitki türü tespit etmişlerdir. Topladıkları bitkilerde saptadıkları toplam boyar madde oranlarını % 1.5-10 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Topladıkları bitkilerin bazılarıyla çeşitli mordan kullanılarak yaptıkları boyama çalışmaları sonucunda ışık haslıklarını çok iyi olduğunu saptamışlardır. Bu bitkilerden 15 tanesini Boya Bitkileri Çeşit Bahçesi'ne aktarmışlar, içinde *Isatis*'in de bulunduğu bazı bitkiler ile tarla denemesi kurmuşlardır.

Tansı ve Karaman (2005), *Isatis* Brassicaceae familyasından çok yıllık bir bitki olduğunu, tıpta ilaç olarak ve boya sanayinde kullanıldığını belirtmişlerdir. Çalışmalarında, Çukurova bölgesinde doğal olarak bulunan bazı *Isatis* türleri ilk kez kültüre alındığını, IPK ve 5 farklı lokasyondan temin edilen *Isatis* türleri ile yürütülen denemede morfolojik özelliklerin yanı sıra boyama özellikleri incelendiğini vurgulamışlardır. Yün iplikler çivitotu bitkileriyle ve farklı mordanlarla boyandığını; kimyon, kirli saman, açık toprak, kemik rengi, koyu kimyon, kahverengi, koyu bej, kırmızı bej, açık füme, füme ve koyu füme renkleri elde edildiğini açıklamışlardır. İncelenen *Isatis* türleri arasında en iyi performansı *I. tinctoria* gösterdiğini vurgulamışlardır.

Akar (2006), *I. glauca* subs. *glauca* Boiss, *I. candolleana* Boiss ile *I. tinctoria* Linne bitkisinin ait tohumları deneme bahçesinde yetiştirerek, morfolojik özelliklerini incelemiş ve boyama özelliklerini ve taze yapraklardaki indikan içeriğini araştırmıştır. *Isatis* türlerinin kültüre alınması üzerine doğadan toplanan *I. candolleana* ve *I. glauca* subs. *glauca*' da bazı morfolojik özellikler (bitki boyu, gövde ağırlığı, dallanma sayısı, kuru yaprak ağırlığı, meyve boyu, meyve eni, yaprak boyu, yaprak eni ve meyve bindane ağırlığı) doğal ortamda kültür ortamından daha yüksek bulmuştur. Bu türlerin doğal ortamdaki yayılışlarının daha yüksek rakımlarda olması, vejetasyon dönemlerinin daha uzun olmasına bu da bazı bitkisel özelliklerinin daha düşük rakımda yetiştirilen kültür formundan daha yüksek olmasına sebep olduğunu vurgulamıştır.

Campeol ve ark. (2006), İtalya'da indigo üretiminde uygun yeni ürün belirlemek için, indigo öncülerinin verimliliğinde mevsimsel çeşitliliği, ılıman iklim altında İtalya'nın

merkezinde büyüyen çiviotu (Cruciferae ailesinden) ve boyayıcı madımak ile (Polygonaceae ailesinden) çalışmışlardır. İndigo öncülü olan indoksil 3-ketoglukonat (isatan B) ve indoksil - β -d-glukozid (indikan) indigo miktarı *I. tinctoria* ve *Polygonum tinctorium* bitkilerinin yaprakları kullanılarak HPLC ile ölçmüşler ve stokiometrik hesaplamalar ile indigo miktarı belirlemişler. *I. tinctoria* *P. tinctorium*'dan daha düşük indigo potansiyelini göstermiş, indigo miktarını yaprak ağırlığı başına veya bitki başına değerlendirmişlerdir. Fakat su stresi koşullarında ise, *I. tinctoria* kuraklık toleransına *P. tinctorium*'ın zıttına çok hassas olduğunu ortaya çıkarmışlar. Aslında, Temmuz ve Ağustos aylarında orta ve güney İtalyayı karakterize etmişler, su stresi koşullarında yaprak verimini karşılaştırdıklarında *I. tinctoria*'da yaklaşık % 30 bulurken *P. tinctorium*'da % 50 üzerinde azalma bulmuşlardır.

Akan (2007), belirlediği 15 bitkiyi yün halı iplikleriyle 60 dk süresince kaynatmıştır. İplikler boyanmadan önce literatürde geçen mordanları kullanarak ön mordanlama yöntemi ile 45 dk süresince mordanlamıştır. Boyanmış ipliklerden elde edilen renkleri subjektif ve objektif (kalorimetri cihazı kullanılarak) yöntemlerle değerlendirmiştir. Elde edilen renkler sarı ve tonları, kahverengi ve tonları, yeşil ve tonları, krem, bej ve tonlarından kırmızıya kadar değiştiğini tespit etmiştir. Bu renkler üzerinde ışık ve sürtünme haslıklarını incelemiştir. İncelediği haslık değerlerinde bitki çeşitliliğini ve mordanlara bağlı olarak farklılıklarını tespit etmiştir. Beyaz ve boyanmış yün ipliklerin kopma mukavemetlerini ve % uzama değerlerini instron cihazı kullanarak bulmuştur. Boyasız iplik ile boyanmış iplik arasındaki mukavemet değerlerini karşılaştırmış ve boyama sonucu mukavemet kaybına ya da artışına neden olduğunu düşündüğü bitki ve mordanları tespit etmiştir. Bu bitki ve mordanları kullanarak elde edilmesini planladığı renk üzerinden mukavemet artışını sağlayacak boyama formülleri önermiştir.

Birinci (2008), araştırmasında, Doğu Karadeniz Bölgesi florasında doğal olarak bulunan tıbbi, aromatik ve diğer faydalı bitkiler ile ilgili literatürü tarayarak, botanik ve yöresel adlarını, botanik özelliklerini, bileşimlerini, etki ve kullanım alanlarını araştırmıştır. Ayrıca aktarlarda satılan bitkiler ile insanların doğadan toplayarak farklı amaçlarla kullandıkları bitkilerin envanteri çıkarmıştır. Bölgede yaptığı inceleme gezileri ve literatür çalışmaları sonucunda Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak bulunan, tıbbi, aromatik ve diğer amaçlarla kullanılan 117 farklı bitkinin bulunduğunu saptamıştır. 117 bitkinin tamamından ilaç olarak yararlanılmakta olduğunu ayrıca 10'undan boya bitkisi, 4'ünden insektisit, 6'sından hayvan hastalıklarında, 28'inden yemek olarak, 14'ünün uçucu

ve sabit yağından, 8'inin reçine ve zamkından yararlanıldığını belirtmiştir. Aktarlarda kuru ya da taze herba, çiçek ve yağı çıkarılmış halde 222 adet bitki türünün satıldığını tespit etmiştir. Ayrıca yaptığı gezi ve doğal yayılış alanlarının incelemesi sonucu *Capparis*, *Origanum*, *Astragalus*, *Allium*, *Hypericum*, *Ranunculus*, *Thymbra* ve *Mentha* türlerinin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yoğunluk gösterdiğini gözlemiştir.

Gönen (2008), Van ilinin ilçe ve köyleri gezerek doğal boyamacılık hakkında genel bilgiler toplamıştır. Doğal bitkisel boyalarla yapılmış kilimleri incelemiş, bu doğrultuda yörede bitkisel boyamacılıkta kullanılan bitkileri esas almıştır. Yörede boyama için kullanılan bitkilere baktığında fazla bir değişikliğin olmadığını, çoğunun hemen hemen aynı şekilde uygulandığını, bunun yanı sıra bölgenin coğrafyasına özgü daha değişik bitkilerin de kullanıldığını görmüştür. Bilgilerin tümünü, yöre halkının yaşlılarından ve zamanında boyamacılıkla uğraşmış olan kişilerden elde etmiştir. Yörede 50 yaş altındaki kişilerin ne bitkileri tanıdıklarını ne de boyama tekniklerinden haberlerinin olmadığını anlamıştır. Yörede dokunan kilimlerin önemini daha fazla yitirmemesi ve kilim sektörünün ayakta kalabilmesi amacıyla doğal boyalı iplik ihtiyacı son derece zor koşullar altında ve değişik ticari kuruluşlardan temin edildiğini tespit etmiştir.

Verzera ve ark. (2010), çivit otunun (Brassicaceae) kök uçucu bileşenleri GC-FID, katı fazlı mikroekstraksiyon ve gaz kromatografisi / kütle spektrometresi (SPME-GC / MS) ile incelemişlerdir. Otuz bileşen kütle spektrumları, lineer tutma dizinleri ve standartların enjeksiyonu ile tamamen karakterize etmişlerdir, ortalama bileşimi (ppm) tek bileşenleri ve maddenin sınıfları olarak bildirilmişlerdir. *I. tinctoria* kök uçucu kısmının analizi sonucunda, toplam ekstraktın yaklaşık % 82 sini 3-butenil izotiyosiyanatın oluştuğunu belirtmişlerdir.

Batur (2011), yaptığı çalışma ile mavi renk boyamalarda köklü bir geleneğe sahip, *Indigofera tinctoria* ve *I. tinctoria* bitkilerinin doğal boyama yöntemleri kullanarak ipliği boyasız, düz dokuma kumaş üzerine geleneksel boyama ve baskı teknikleriyle oluşturulmuş mavi renkli tekstillerini incelemiştir. Ayrıca mavi boyanın mistik, sihirsel güçler, sembolik kodlar ve inanç sistemlerini sosyokültürel açımlarıyla açıklamıştır.

Çömlekçioğlu (2011), çalışmasında, 2007-2008 ve 2008-2009 yetiştirme sezonunda Kahramanmaraş koşullarında, farklı ekim zamanlarında dört *Isatis* (*I. tinctoria*, *I. candoleana*, *I. tinctoria* subsp. *corymbosa* ve *I. buschiana*) türünün agronomik ve fenolojik özellikleri üzerine etkisinin yanı sıra, boyarmadde miktarlarının belirlenmesini ve boyama

sonucu elde edilen renklerin haslık değerlerinin incelemiştir. alışmasında en verimli boyamaları *I. tinctoria* türü ile yapmışsa da, endemik *I. candoleana* türü ile yapılan boyamaların umut vaat ettiğini belirtmiştir. *I. tinctoria* subs. *corymbosa* türünde çok az uygulamada koyu mavi renk elde ederken, genelde boyamaların sarı-yeşil ve açık mavi tonlara kaydığını görmüştür. İplikleri sarı renge boyayan *I. buschiana*'da ise mavi renge ulaşamamıştır. Yaptığı haslık testlerinde ışık, kuru ve yaş sürtme haslıklarını genelde 3 ve 3/4 bulmuştur. Yıkama haslıklarını ise, tüm türlerde refakat kumaşlarından naylonda diğerlerine göre düşük (2, 2/3 ve 3); polyester, akrilik ve yünde ise diğerlerine göre yüksek (4 ve 4/5) bulmuştur.

Mirjalili ve ark. (2011), araştırmasında, soksalet cihazı kullanarak kaynak boyaları çıkarmaya çalışmışlardır. Muhabbet ieği bitkisinden ekstrakte ve izole edilmiş renk bileşenleri kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (TLC), NMR, kütle, İR teknikleri ile karakterize etmişlerdir. Kaynaktan elde edilen doğal boya özünü yün elyafın boyanması için kullanmışlardır. Sonuçları ıkarılan boyanın tükenme oranının ham boyaya göre yaklaşık % 49 arttığını belirtmişlerdir. Bunun da, arzu edilen sonuçlara ulaşmak için kullanılan ekstre boya miktarında önemli bir düşüşe yol açtığını belirtmişlerdir. Son olarak, sentetik ve doğal boya arasında karşılaştırmalı çalışmalar yapmak için, sentetik asit boyalara uygun bir alternatif kaynak için, tüm boyalı örneklerin yıkama ve ışık haslığı özelliklerini test etmişlerdir.

Kaynar ve Tonus (2014), kalitesi ve ünü dünya çapına yayılan Sivas halılarının yapımında kullanılan halı iplerinin boyanmasında önemli bir yere sahip olan *Salvia sp.* (adaçayı) incelemiştir. Bitkiden elde edilen renkleri, bu renklerin yün halı iplikleri üzerindeki ışık, sürtünme ve su damlası haslıklarını belirlenmeye çalışmış ve en ideal mordan oranı tespit etmiştir. Adaçayı bitkisi kullanarak, mordansız ve mordanlı (alüminyum çapı, bakır sülfat, demir sülfat, tartarik asit, potasyum bikromat) yöntemlerle yaptıkları boyamada farklı renk tonları elde etmişlerdir. Değişik mordanlar ve mordan oranları ile elde ettikleri renk tonlarının frekans dağılımına göre krem, açık saman sarısı, koyu kirli beyaz, koyu toprak, koyu yenibahar, meşe yaprağı, pişmiş elma ve koyu salamura yaprak olduğunu görmüşlerdir. Mordanların farklı olduğunda ışık haslık değerinin değiştiğini saptamışlar. şap kullanarak yapılan boyamalarda ışık haslık değeri 2, tartarik asitle 3, demir sülfat, bakır sülfat ve potasyum bikromatla 3 - 6 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Bu renk değişimi mordansız ve çeşitli mordanlar kullanarak yapılan boyamalarda solma şeklinde görölürken, tartarik asitle yaptıkları boyamalarda renk

koyulaşması şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Adaçayı ile yapılan tüm boyamalarda en yüksek sürtünme haslık değerinin 4 ile mordansız boyamaya ait olduğunu görmüşlerdir. Bunu 3-4 ile tartarik asit takip etmiş, diğer boyamalardan elde edilen değerlerin 1-2 gibi düşük olduğunu saptamışlardır. Islak su damlası haslığında, mordan olarak tartarik asit %4 kullanılarak, yapılan boyamalarda su damlası haslık değeri 4-5, şap, tartarik asit %2, potasyum bikromatla 4, demir sülfat, bakır sülfat ve mordansız olarak yapılan boyamalarda ise haslık değerinin 3-4 arasında olduğunu görmüşlerdir. Kuru su damlası haslığında ise mordan olarak şap, tartarik asit %2 ve potasyum bikromatla yapılan boyamalarda 5, tartarik asit %4, demir sülfat ve bakır sülfatla yapılan boyamalarda 4-5, mordansız boyamada ise su damlası haslık değerinin 5 olduğunu saptamışlardır. Adaçayı ile yapılan boyamalarda, elde edilen ıslak ve kuru haslık değerlerinin genelde iyi olduğunu görmüşlerdir.

2.2. Kuraklık ve Tuz Stresi ile İlgili Önceki Çalışmalar

Özer ve ark. (1997), kuraklığın, şiddet ve süresine bağlı olarak bitkinin gelişmesini verim ve kalitesini olumsuz yönde etkileyen abiotik stres faktörlerinin başında geldiğini belirtmektedir. Bitkilerin su stresine tepkilerinin genetik yapıları tarafından kontrol edildiğini, bitki cins, tür ve çeşidine göre değiştiğini belirtmişlerdir. Stres şartlarına maruz kaldıklarında kuraklıktan kaçma, su kaybının önlenmesi, su kaybına tolerans gibi değişik uyum kabiliyetleri sayesinde bitkilerin canlılıklarını muhafaza ettiğini açıklamışlardır.

Zhang ve ark. (2004), populasyon farklılıklarının kuru madde birikimini ve elde edilmesini, gaz değişimini, absisik asit içeriğini ve *Populus davidiana* fidelerinin su kullanım verimliliğini, iyi sulanmış ve aşamalı kuraklık stresi uygulanmasına maruz bıraktıktan sonra ölçmüşlerdir. Kuru, orta ve ıslak iklim bölgelerinde üç popülasyonu sırasıyla kullanılmışlardır. Popülasyonlar arasında yükseklik büyümesi (Ht), toplam biyokütle (Tb), toplam yaprak alanı (La), kök/sürgün oranı (Rs), spesifik yaprak alanı (sla), net fotosentez (A), terleme (E) ve anlık su kullanım etkinliğinde (WUEi), iki sulama rejiminde önemli farklar saptamışlar; aynı zamanda absisik asit içeriği (ABA) ve karbon izotop bileşiminde ($\delta^{13}C$) popülasyon farklılıkları aşamalı kuraklık stresi uygulaması altında tespit etmişlerdir fakat bu farklılıkların, iyi sulanarak yapılan uygulamada önemli olmadığını belirtmişlerdir. Islak iklim nüfusu ile kuru iklim nüfusu karşılaştırıldığında Ht, Tb, La, sla, A ve E, düşük ve R ve WUEi daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Su mevcudiyetinde bu morfolojik ve fizyolojik adaptasyonlar farklı popülasyonlar için fide

büyümesinin ve gelişiminin başlangıç aşamasında kuraklık stresi altında farklı hayatta kalma stratejileri uygulanabileceğini göstermişlerdir.

Uzunlu (2006), salisilik asitin bitkiler tarafından üretilen ve birçok biyotik ve abiyotik stres faktörüne karşı toleransı sağlayan mekanizmada sinyal molekülü olarak görev yapan bir molekül olduğunu belirtmiştir. Bu nedenden yola çıkarak tasarladığı denemede değişik konsantrasyonlarda ve değişik yöntemlerle uyguladığı aspirinin üşüme, kuraklık ve tuz streslerine maruz bırakılan kavun fidelerinde meydana gelen zararı önleme üzerine etkilerini araştırmıştır. Stres uygulamalarından 3 gün sonra yaptığı gözlem ve analizlerde 0.10 mM ile 1.00 mM arasında değişen konsantrasyonlarda yaptığı aspirin uygulamalarının kavun fidelerinde uygulanan stres faktörlerine karşı toleransı artırdığını fakat aspirin uygulama metodları arasında bir fark olmadığı sonuçlarına varmıştır. Aspirin uygulanmış bitkilerin kontrol bitkilerine kıyasla genelde daha düşük görsel hasar içerdiğini ve daha yüksek klorofil, stoma iletkenliğini, yaprak ve kök yaş ve kuru ağırlık ve karbonhidrat içeriğine buna karşılık daha düşük göreceli elektriki iletkenlik değerine sahip olduğunu belirlemiştir. Aspirin konsantrasyonları arasında ise 0.25 ve 0.50 mM konsantrasyonlarının en iyi sonucu verdiğini ve kullandığı en yüksek aspirin konsantrasyonu olan 1.00 mM, stres faktörlerine karşı toleransı arttırmada daha düşük konsantrasyonlara kıyasla daha az etkili bulmuştur.

Güler (2008), çalışmasında 56 gün kuraklık periyoduna maruz bıraktığı *Ctenanthe setosa*'da yaprak kıvrılmasının, kuraklığın 35. gününde başladığı ve yaprak kıvrılma derecesinin giderek arttığını gözlemiştir. Yaprak kıvrılma derecesindeki artış boyunca nispi su içeriği, yaprak su potansiyeli ve stoma iletkenliğinin azaldığını bulmuştur.

Güneş ve Aktaş (2008) 'ın saksı denemesi olarak yürüttükleri çalışmalarında su stresinde yetiştirdikleri mısır bitkisine farklı dozlarda verdikleri potasyum gübresinin, bitki gelişimi ve verim üzerine etkilerini incelemişlerdir. Denemelerinde saksı kapasitesine göre belirledikleri üç farklı düzeyde (S1: %100, S2: %75, S3: %50) sulama suyu uygulanmış ve iki farklı düzeyde (Kontrol: 0 ppm K, K1: 100 ppm K, K2: 200 ppm) potasyum gübresi bitkiye vermişlerdir. Sulama suyu azaldıkça, toprak üstü kuru madde veriminin ve toprak altı kuru madde veriminin azaldığını belirtmişlerdir.

Kutlu (2010), kuraklığın dünyanın birçok ülkesinde bitkisel üretimi sınırlayan en önemli çevresel stres faktörlerinden biri olduğunu belirtmiştir. Yıl içindeki yetersiz ve/veya düzensiz yağış ile yüksek sıcaklığın kuraklığa neden olan temel faktörler olduğunu

belirtmiştir. Kuraklığın etkilerini en aza indirmek için yapılan araştırma çalışmaları (sulama ve diğer kültürel işlemler) arasında en önemlilerinden birisinin de kuraklığa dayanıklı çeşit ıslahı olduğuna dikkat çekmiştir. Ancak kuraklığa dayanıklılığın mekanizması ve bunun göstergesi olan parametreler iyi anlaşılmadıkça bu konuda yapılan çalışmaları geliştirmenin zor olduğunu hatırlatmıştır. Yapmış olduğu derlemede, kuraklığın farklı çevrelerde ve değişik bitki gelişim dönemlerindeki etkilerini ve tahılların kuraklığa tolerans ıslahında kullanılan seleksiyon kriterleri ile kuraklık zararının etkilerini azaltabilecek kültürel önlemleri tartışmıştır.

Qados (2010), *Vicia faba L.*(bakla) fidelerinde tuzun (NaCl) 0.0, 60, 120, 240 mM konsantrasyonlarının büyüme, ozmotik potansiyeli, klorofil içeriği, protein içeriği üzerine etkisini araştırmıştır. Her iki ölçüm dönemlerinde (ilk ölçüm on gün sonra ikinci ölçüm bitkilerin % 40'ı öldükten sonra) NaCl, bitki yüksekliğinde düşük ve orta konsantrasyonlarda artışa sebep olurken en yüksek konsantrasyonda azalmaya neden olduğunu belirtmiştir. İki yüksek konsantrasyonda her biri için bir azalma fark ederken düşük konsantrasyon ile yaprakların sayısında veya yaprak alanında önemli hiçbir etki gözlememiştir. Tuzluluğun sürgünün hem yaş ve hem de kuru ağırlıklarını artırdığını belirtmiştir. Konsantrasyonlarda ve stres sürelerinde artış ile ozmotik potansiyelin (OP) önemli bir düşüş gösterdiğini vurgulamıştır. Baklanın yaş ve kuru ağırlığına tuz stresinin olumlu bir etkisi olduğunu açıklamıştır. Taze ve kuru ağırlık olarak en fazla artış uygulamadan 10 gün sonra en az konsantrasyon olan 60 mM kullanarak elde etmiştir. Tuzluluk her iki ölçüm döneminde klorofil 'a' içeriğini önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca Klorofil 'b' ve karotenoidlerin içeriğinin on günlük uygulamadan sonra önemli ölçüde azaldığını belirtmiştir. Tuzluluk stres etkisinden dolayı protein içeriğinde iki ölçüm döneminde bir artış tespit etmiştir. Birinci ölçüm süresinde protein içeriği ile tuz konsantrasyonlarının artışı arasında doğru orantılı bir ilişki bulurken ikinci ölçüm süresinde ters orantılı bir ilişki bulmuştur.

Ayyıldız (2011), araştırmasında, *Tagetes erecta L.* (Kadife Çiçeği), *Petunia hybrida L.* (Kahkaha Çiçeği) ve *Gazania splendens L.* (Gazanya, Koyungözü) F1 türlerinin tuz stresine karşı (0, 20 mM, 40 mM, 60 mM ve 80 mM NaCl) reaksiyonlarını kontrollü koşullarda test etmiştir. Bitkilerin tuz stresine toleransını inceleyebilmek için laboratuvar koşullarında bitkisel analizler (toplam yaş ağırlık analizi, gövde kök yaş ağırlık analizi, bitki boyu analizi, gövde, kök ve yaprak uzunluğu analizi, yaprak sayısı analizi, gövde çapı) ve toprak analizleri (toprak tekstürü, toprak reaksiyonu, tuz içeriği, organik madde,

azot, alınabilir fosfor, değişebilir potasyum, kalsiyum ve sodyum, alınabilir klor) yapmıştır. Araştırmadan elde ettiği sonuçlara göre *T. erecta* ve *P. hybrida* 40mM, *G. splendens* 60 mM tuza toleranslı bulmuştur. Gövde çapı, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, bitki boyu, kök yas ağırlığı, gövde yas ağırlığı gibi bitki gelişim parametreleri için 40mM'den yüksek dozdaki tuzlu suyla sulamada olumsuz etkiler göstermiş olduğunu belirtmiş ve bütün parametreler için istatistik olarak önemli bulmuştur. Artan tuzluluk oranının 40 mM'ün üzerinde bitki gelişimini olumsuz etkilediği 80 mM'de ise ölümle sonuçlandığını saptamıştır.

Çulha ve ark. (2011), tuzluluğa maruz kalan bitkilerde çeşitli metabolik olayları ve özellikle de fotosentetik aktiviteyi etkilediğini, bitkilerin hayatta kalma şansını azalttığını belirtmişlerdir. Bazı bitkilerin bu koşullara karşı duyarlılık gösterirken, bazılarının çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevaplar ile indüklenen tolerans mekanizmalarıyla hayatta kalmayı başardıklarını bildirmişlerdir. Tuzluluğa karşı bu tolerans mekanizmalarını sağlayan fizyolojik ve biyokimyasal cevapları; iyonların seçici olarak biriktirilmesi veya atılımı, kökte iyon alımının ve sürgüne iletiminin kontrolü, iyonların bitkide ve hücrelerde belirli bölümlerde biriktirilmesi, osmotik düzenleyicilerin sentezi ve antioksidan sistemler oluştururken; moleküler cevapları sinyal iletim yolları ile çeşitli genlerin aktivasyonu ve /veya inaktivasyonunun oluşturduğunu açıklamışlardır. Fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevapların sonucunda bitkilerde tuz regülasyonunun korunmasının sağladığını ifade etmişlerdir.

Bakır (2012), yaptığı tez çalışmasında literatürde ilk olarak üzüm çeşit ve anaçlarında ikili strese (kurak ve tuzluluk stresi) yönelik gen profillerinin karşılaştırılmasını yaparak; stres genleri ve bu genlere ait ifade düzeyini tespit ederken türler arası tolerans mekanizmasında rol oynayan genleri belirlemiştir. Asma çeşit ve anaçlarında kuraklık ve tuza tolerans mekanizmalarının farklılıklarını transkriptomik düzeyde belirlemek amacıyla 120 mM tuz ve su noksanlığı şeklinde kuraklık stresi, Cabernet Sauvignon, 5BB ve 41B genotiplerine dereceli olarak 7 gün süre uygulamıştır. Transkriptom analizlerinde çeşit ve anaçlara özgü bulunan transkriptlerin yanı sıra her üç genotipte de çok sayıda ortak stres transkriptleri tespit etmiştir.

2.3. Poliaminler ile İlgili Önceki Çalışmalar

Tekin ve Bozcuk (1996), kontrollü iklim koşullarında, ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. var. Santafe) tohumlarının çimlenmesi ve bazı büyüme parametreleri üzerine tuz (NaCl) ve putresin (put.)'in ayrı ayrı ve birlikte etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında üç farklı tuz konsantrasyonu (50, 100, 200 mM) ile üç farklı seviyede (0.01, 1, 2 mM) putresin hormonu kullanmışlardır. Tek başına tuzun, konsantrasyona bağlı olarak tohumların çimlenmesini engellediğini ya da geciktirdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca çimlenme döneminde incelenen bazı büyüme parametrelerinin de radikula uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık gibi tuzdan olumsuz yönde etkilendiğini bulmuşlardır. Tek başına kullanılan putresin, konsantrasyona bağlı olmaksızın, hem çimlenme yüzdesi hem de incelenen bazı büyüme parametreleri üzerinde etkisiz bulunmuştur. Buna karşılık çeşitli konsantrasyonlardaki tuz+putresin kombinasyonlarında, Putresin, tuz stresi altındaki tohumların çimlenmesini arttırmıştır. Özellikle 200 mM NaCl ve/veya 2 mM Put., kombinasyonlarındaki Put., tuzun çimlenme üzerindeki engelleyici etkisini tamamen ortadan kaldırmış ve çimlenmeyi, kendi kontrollerine göre, sırasıyla 4.57 ve 3.21 kat arttırmıştır. Yine tuz+put. kombinasyonlarında radikula uzunluğu, taze ve kuru ağırlıkta da önemli artışlar saptamıştır.

Mutlu ve Bozcuk (2000), çeşitli konsantrasyonlarda NaCl içeren ortamlarda ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Santafe) tohumlarının çimlenmesi ve bazı erken büyüme parametreleri üzerine farklı konsantrasyonlardaki spermin (Spm)'in etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 200 mM NaCl ile birlikte 0.01 ve/veya 1mM Spm uygulamasında Spm, tuzun çimlenme üzerindeki engelleyici etkisini tamamen ortadan kaldırmış ve bu iki kombinasyondaki çimlenme, oranının kontrole göre arttığını belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada en etkili değerlerden birinin 0,1 mM spermin hormonu + 200 mM tuz stresi uygulaması olduğu gözlemlenmiştir.

Eti (2006), çalışmasını 2004-2005 yılları arasında Sweet Charlie, Earlibrite, Strawberry Festival ve Camarosa çilek çeşitlerinde verim, meyve kalite kriterleri ve farklı olgunlaşma dönemlerindeki poliamin miktarlarını yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlemiştir. Araştırma sonunda poliamin miktarlarının çeşide, olgunluk dönemine, dokulara ve poliamin çeşitlerine göre değişiklik gösterdiğini saptamıştır. Tüm olgunluk dönemleri içerisinde en yüksek toplam poliamin miktarını Strawberry Festival

çeşidinin yarı olgun meyve döneminde saptamıştır. En düşük toplam poliamin miktarını Camarosa çeşidinden çiçek döneminde elde etmiştir.

Kireççi (2006), giberillik asit (200, 400, 600 ve 1000 ppm) ile spermin, spermidin ve putresin (0.25, 0.1, 0.5, 1.0 ve 10 mM)'in farklı konsantrasyonlarının fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkisinin morfolojik yapı ve uçucu yağ kalitesine etkilerinin incelemiştir. 24 saat süreyle farklı hormon konsantrasyonları uygulanan ve hiçbir hormon uygulaması yapılmayan kontrol grubuna ait fesleğen tohumlarını kasalara ekmiş, fide haline gelen bitkileri 20x25 cm sıklıkla tarlaya şaşırtmış ve bitkileri tamamen çiçeklendiklerinde hasat etmiştir. Morfolojik özelliklere uyguladığı istatistiksel analiz sonuçlarına göre uyguladığı hormonlardan, birçok morfolojik özelliğe kontrol grubuna göre yüksek verim elde etmiştir. Farklı hormon gruplarının bitki morfolojisine etkileri farklı olmakla birlikte Poliaminler GA3'ten daha etkili olmuştur. Farklı hormon konsantrasyonlarından genel olarak 0.1 mM spermidin, 0.1 mM spermin, 1 mM Putresin konsantrasyonunun ve 400 ppm GA3 uygulamalarının diğer uygulamalara göre yüksek verim verdiğini gözlemiştir. Araştırmasında incelediği diğer bir özellik olan uçucu yağ oranına uyguladığı hormonların önemli bir etkisinin olmadığını, ancak yağ içerisindeki ana bileşen olan linalool miktarını önemli ölçüde değiştirdiğini gözlemiştir.

Ali ve ark. (2007), çalışmalarında farklı tuz konsantrasyonu (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 mM) ile takviye edilen Hoagland besleyici çözeltisini sulama için kullanılmışlardır. Putresin, spermidin ve spermin hormonlarını 0,1 mM konsantrasyonda dört kez spreyleme yöntemi ile yapraklara sıkılmışlardır. Çalışmayı, *Chamomilla recutita*'da ve *Origanum majorana*'daki tuz toleransında antioksidan olan poliaminin olası rolüne karar vermek için yürütmüşlerdir. Tuzluluğun genelde her iki bitkideki hem yağ ve flavonoid içeriğini hem de büyümedeki çeşitli değişiklikleri azalttığını, yaprağa uygulanan herhangi bir poliaminin tuzluluğun etkilerini dengelediğini bildirmişlerdir.

Farooq ve ark. (2009), kuraklık stresinin bitki-su ilişkileri ve biyolojik membranların yapısını bozarak esas çeltik performansını engellediğini belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, ince taneli aromatik çeltiğin (*Oryza sativa* L.) kuraklık toleransı geliştirmesinde poliaminlerin (PA) rolünü değerlendirmişlerdir. Kuraklık stresi, poliamin uygulaması ve kuraklık + poliamin uygulaması olmak üzere üç farklı uygulama yapmışlardır. Poliaminleri (putresin, spermidin, ve spermin) kullandıkları çalışmalarında bitki beş yapraklı duruma geldiğinde her bir poliamin 10 mM çözelti ile yapraktan spreyleme yöntemi kullanarak uygulama yapmışlardır. Uygulama yapıldıktan sonra bitkiler 3 hafta kuraklığa

bırakmışlardır. Sonuçlar kuraklık stresinde, PA uygulamasının net fotosentezi, su kullanım etkinliğini, yaprak su durumunu, serbest prolin üretimini, antosiyaninleri, çözünür fenolikleri ve gelişen zar özelliklerini geliştirirken, çeltik taze ve kuru ağırlıklarının ciddi bir şekilde azaldığını göstermişlerdir.

Hassanein ve ark. (2013), Buğday bitkilerinin 4 veya 8 saat boyunca yüksek sıcaklık stresine ($35^{\circ}\text{C} \pm 2$) maruz bırakılmadan önce kontrol grubu (su), arginin veya putresin (1.25 ve 2.5 mM) olmak üzere toplam beş gruba spreyleme yöntemi ile muamelede bulunmuşlardır. Poliamin uygulaması bittikten 5 gün sonra her bir grubu üçe ayırmışlardır. Tüm grupların birincisini normal sıcaklığa (20°C kontrol) bırakırlarken, ikincisini ardışık 2 gün 4'er saat sıcaklığa ($35^{\circ}\text{C} \pm 2$), üçüncüsünü ise ardışık 2 gün 8'er saat sıcaklığa ($35^{\circ}\text{C} \pm 2$) maruz bırakmışlardır. Uygulamalarının sonunda büyüme parametrelerini dikkate aldıklarında muamelede bulunulmamış bitkilerin gövde yaş ve kuru ağırlıklarında azalma meydana gelirken, yapraktan uyguladıkları her iki poliaminin hem gövde yaş, gövde kuru ağırlıklarının hem de gövde oransal su içeriklerinin önemli derecede arttığını belirtmişlerdir.

Mutlu ve Bozcuk (2013), çalışmalarında kontrollü iklim koşullarında büyütülen ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Santafe) bitkilerinin büyüme döneminde uygulanan dışsal poliaminlerin yaprak çiftleri ve total yaprak yüzey alanı üzerine etkilerini çalışmışlardır. Çalışmalarında 3 farklı tuz derişimi (50, 100 ve 200 mM) ile üç farklı düzeyde (0.01, 1 ve 2 mM) putresin, spermin ve spermidin kullanmışlardır. Hoagland ve değişik konsantrasyonlardaki tuzlu kültür çözeltilerinde 45 gün büyütülen ayçiçeği bitkilerinin yaprak ve gövdelerine 15. günden itibaren 3'er gün arayla toplam 8 kez poliamin çözeltisi püskürtmüşlerdir. Total yaprak alanı ve yaprak çifti alanlarının artan tuz derişimine bağlı olarak azaldığını belirtmişlerdir. Bitkilere püskürtülen spermin, spermidin ve putresin kültür ortamına eklenen tuz ve poliamin düzeyine bağlı olmak üzere sadece belirli ve sınırlı koşullarda olumlu etki gösterebilmiştir. Tuzun yaprak alanı üzerinde yapmış olduğu engelleyici etkiyi kaldırabilmek açısından en etkili poliaminin putresin olarak tespit etmişlerdir.

Salenthong ve ark. (2013), çeltiğin Pokkali (tuza toleranslı) ve KDML 105 (tuza-duyarlı) çeşitlerinde NaCl stresine maruz kalan olgun tanelerin, verimle ilgili parametrelerine ve mineral kompozisyonuna spermidinin etkilerini araştırmışlardır. Bitkileri erken kabuklanma aşamasına kadar saksılarda yetiştirmişler, olgunlaşana kadar musluk suyu yerine 25mM tuzlu su ile sulayarak strese tabi tutmuşlar daha sonra arka

arkaya 7 gün 1 mM spermidin pskrtmşlerdir. alışmalarında, dışarıdan verilen spermidin kullanımının, özellikle çeltiğin tuza karşı duyarlı çeşidinde, eltik hasadında iyileşmeye yol açan üreme sürecinde NaCl stresinin olumsuz etkilerini azalttığını göstermişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deneme materyali

Materyal olarak kullanılacak olan *I. tinctoria*'ya ait tohumlar, Leibniz Bitki Genetiği ve Kültür Bitkileri Araştırma Enstitüsü (IPK-Institute for Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Almanya) kaynaklı olup, KSÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. Bitkiye ait sistematik ve morfolojik özellikler şöyledir:

***I. tinctoria*:** İki veya çok yıllık bir türdür. Gövdesi yeşil bazen mor, köşeli, dip yaprakları ters mızraksı, yeşil bazen mor renktedir. Gövde yaprakları tüylü veya tüysüz, oblong veya oblong-lanseolat olup kulakçıklıdır. Çiçek durumu bileşik salkım, tüysüz, çok nadiren tüylüdür. Meyve, şeritsi, ters yumurtamsı, nadiren U biçimli, tüylü veya tüysüz, ucu sivri, tabanı kamamsıdır. Meyve boyutları 10-20x2-5 mm'dir. Çiçeklenme zamanı Mayıs-Haziran, meyvelenme zamanı Haziran-Temmuz aylarıdır. Türkiye'de Karadeniz Bölgesi hariç hemen hemen bütün bölgelerimizde yetişmektedir (Davis, 1965). Şekil 3.1.'de bitkiye ait tohum ve genç bitki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.1. *I. tinctoria*'ya ait tohum(A) ve tek bitki (B) görüntüleri.

3.1.2. Deneme yeri ve yılı

Sera Denemesi KSÜ ÜSKİM bünyesinde bulunan iklimlendirme odasında 2014-2015 yıllarında yürütülmüştür.

3.1.3. Farklı koşullarda bitkinin yetiştirilmesi

I. tinctoria tohumları KSÜ ÜSKİM bünyesindeki iklimlendirme odasında içerisinde torf, perlit ve kumdan oluşan karışım bulunan saksılara ekilmiştir ve 20-25 °C'deki iklimlendirme odası koşullarında çimlenmeye bırakılmıştır. Denemelerde kullanılacak olan tohumlar meyve kabuklarından çıkarılarak ekimi yapılmış olup bu sayede daha fazla tohumda çıkış sağlanmıştır. Deneme boyunca düzenli olarak sulanmış ve bakım işlemleri gerçekleştirilmiştir. Her bir tekerrür için bitkilerden en az 8-10 tane olacak şekilde denemeye devam edilmiştir. Tohum ekiminden üç ay sonra 8-10 rozet yaprağa ulaşan bitkiler üzerinde hormon ve stres uygulamalarına başlanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Bitki gelişimi ve yapılan uygulamalar

I. tohumları içerisinde (1.1.1) torf, kum ve perlit bulunan saksılara ekilmiş ve bu saksılar sıcaklığı 20-25 °C ve nem oranı %65 olan iklimlendirme odası koşullarına konulmuştur. Her uygulama için 10'ar saksı kullanılmıştır. Tohumların çimlenmesinden sonra fideler 8-10 tam gerçek yaprağa sahip olduklarında stres ve hormon uygulamalarına başlanmıştır (Binici, 2005).

Torf: Saksılı süs bitkileri yetiştiriciliğinde çok değerli bir materyaldir. Torf nemli ve çok yağış alan yaz sıcaklarının düşük olduğu yörelerde bataklık ve benzeri su altındaki arazilerde yetişen bitkilerin kısmen çürümesi ve kalın yataklar meydana getirmesi sonucu oluşur. Asit reaksiyonludur. ph'sı 3.5-4.5 tur. Azot dışında besin maddelerince fakirdir. Su tutma kapasitesi çok yüksektir. Nispeten sterilidir.

Kum: Çeşitli kayaların iklim olayları sonucu parçalanmasıyla oluşur. Yıkanmış dere kumu en iyisidir. Su tutma kapasitesi çok düşüktür. Ortamda iyi bir havalanma ve drenaj sağlar. Genellikle 0,5-2 mm çapındaki kum kullanılmaktadır.

Perlit: Doğal olarak oluşan silis esaslı volkanik kayalara verilen bir isimdir. Perlit üretiminde kullanılan volkanik kayalar öncelikle öğütülmektedir. Daha sonra 900-1000 °C gibi çok yüksek sıcaklıklarda tutularak içerdiği suyun genleşmesi sonucu mısır patlağı görünümünde hafif, steril ve nötr silis kürecikleri elde edilir. Organik ve inorganik ortamlar arasında su tutma kapasitesi en yüksek olanıdır.

Kimyasal içeriği (%); SiO₂ (71.0-75.0), Al₂O₃ (12.5-16.0), Ha₂O (3.0-4.0), K₂O (4.0-5.0), CaO (0.,4 - 0.82), Fe₂O₃ (0.3 - 0.5), MgO (0.03- 0.2), TiO (0 - 0.1) (Binici, 2005).

3.2.1.1. Tuz stresi uygulaması

Çalışma Hediye (2009) ve Binici (2005)'nin yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Bitkiler 50 mM, 100 mM ve 200 mM NaCl (tuz) olmak üzere üç farklı konsantrasyonda hazırlanan 10 ml tuzlu su çözeltileri ile sulama yoluyla tuz stresine maruz bırakılmışlardır (Ayyıldız, 2011). Bunun için; Şekil 3.2.'deki gibi bitkiler 2 hafta boyunca bitkinin ozmotik şoka girmemesi için az konsantrasyondan çok konsantrasyona doğru aşamalı olarak her gün tuzlu su ile sulanmıştır (Qados, 2010). Kontrol grubundaki bitkiler 2 hafta boyunca saf su ile sulanmıştır. Stres uygulamasını takiben bitkilerin gerekli ölçümü ve analizleri yapılmıştır. Daha sonra bitkilerden toplanan yapraklarda indigo miktarı ölçülmüştür. *I. tinctoria* bitkisinin tuz stresinden sonra iyileşme potansiyellerinin tespiti için, tuzlu su uygulaması sonrasında seçilen 3 saksı toprak doygunluğa ulaşacak şekilde (her saksı için 10 ml) sulanmıştır.



Şekil 3.2. *I. tinctoria* bitkisine tuzlu su verilmesi

3.2.1.2. Kuraklık stresi uygulaması

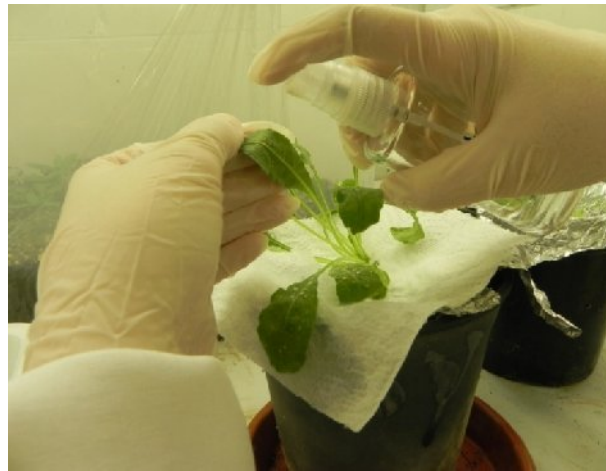
Çalışma Uzunlu (2006) ve Aksoy (2008)'in yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Kuraklık uygulaması için bitkiler yeterli büyüklüğe ulaşana kadar iklimlendirme odasında, her iki günde bir sulanarak büyütülmüşlerdir. Kuraklık, bitkiler beş-altı gerçek yaprağa sahip olduklarında stres grubu sulanmayarak uygulanmış ve bu sırada kontrol grubu bitkilerinin her gün 10 ml su ile sulanmasına devam edilmiştir. Kuraklık stresine bağlı

olarak yapraklardaki indigo değişiminin belirlenmesi sırasında bitkiler on gün süreyle gözlenmiş, bunun için kuraklık uygulamasının 3., 7. ve 10. günlerinde saat 10.00'da yaprak dokuları toplanmış ve analizler yapılmıştır. Bu sırada *I. tinctoria* bitkisinin kuraklık stresinden sonra iyileşme potansiyelinin tespiti için, kuraklık uygulaması sonrasında seçilen 3 saksı toprak doygunluğuna ulaşacak şekilde (her saksı için 10 ml) sulanmıştır.

3.2.1.3. Poliamin uygulaması

Çalışma Korkmaz ve ark. (2010)'nın ve nyayar ve ark. (2003)'nin yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Çalışmada, bitkilerde büyümeyi teşvik eden ve ürün verimliliğini arttırdığı bilinen poliaminlerden putresin, spermin ve spermidin hormonlarından en uygun olanı ve en iyi konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bu hormonlar bitki yapraklarına spreyleme yöntemi ile uygulanmıştır.

Yapraktan uygulama (sprey) yöntemi için; tohumlar yine doğrudan saksılara ekilmişler ve elde edilen fideler 8-10 tam gerçek yapağa sahip olduklarında, 0 mM (kontrol), 0.1 mM, 1 mM ve 2 mM hormon içeren su, bitki yapraklarına bir hafta ara ile 4 kez pskrtlmştır (Ali ve ark, 2007). Uygulama sırasında yaprakların her iki yüzeyinin de tamamen ıslanmasına zen gösterilmiştir (şekil 3.3.). Kontrol grubundaki bitki yaprakları ise distile su ile spreylene miştir. Damlayan suyun toprağa karışmasını önlemek için her uygulamada fidelerin diplerine alüminyum folyo ve üzerine de kğit havlu serilmiştir. Üç farklı konsantrasyonda üç farklı hormon uygulanan bitkiler, üzerinde uygulama yapıldıktan sonra çeşitli ölçüm ve analizler yapılmıştır.



şekil 3.3. *I. tinctoria* bitkisine poliamin uygulanması

3.2.1.4. Poliamin+Tuz stresi uygulaması

Çalışma Ali ve ark. (2007) ve Saleethong ve ark. (2013)'nin yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Fideler 8-10 gerçek yaprağa sahip olduklarında bitkilerin yapraklarına spreyleme yöntemi ile üç farklı konsantrasyonda (0.1, 1 ve 2 mM) putresin, spermin ve spermidin olmak üzere üç farklı poliamin çözeltisi püskürtülmüştür. Birer hafta ara ile yaprakların her iki yüzeyi de ıslanacak şekilde 4 kez tekrar edilmiştir. Kontrol grubu bitkilerinin yapraklarına distile su püskürtülmüştür (Ali ve ark., 2013). İklimlendirme odasının sıcaklığı tohum ekiminden uygulama dönemi bitene kadar ortalama maksimum 25 °C ve ortalama minimum 20 °C olmuştur. Spreyleme yöntemi ile hormon uygulanma işi bittikten sonra bitkiler 2 hafta boyunca her gün 10 ml (Ayyıldız, 2011) 200 mM NaCl içeren su ile sulanmıştır (Mutlu ve Bozcuk, 2013). Hormon + Tuzlu su stresi uygulamasını takiben 1 gün sonra bitkiler üzerinde belirtilen ölçüm ve analizler yapılmıştır.

3.2.1.5. Poliamin+Kuraklık stresi uygulaması

Ali ve ark. (2007) ve Farooq ve ark. (2009)'nin yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Kuraklık + hormon uygulaması için fideler 8- 10 yaprağa sahip olduğunda denemelere başlanmıştır. Birinci gruptaki saksılar kontrol grubunu oluştururken diğer saksılar uygulama gruplarını oluşturmuştur ve 0.1, 1 ve 2 mM olmak üzere üç farklı konsantrasyona sahip spermin, spermidin ve putresin hormonları olmak üzere 10 gruba ayrılan bitkilerin her biri ile yapraktan spreyleme yöntemi kullanılarak uygulama yapılmıştır. Kontrol grubu bitki yaprakları hormon uygulaması boyunca distile su ile spreyleme yöntemi ile sulanmıştır (Farooq, 2009). Hormon verilerek yapılan çalışma haftada 1 sefer uygulanmış olup 4 hafta sürmüştür (Ali ve ark., 2013). Hormon uygulandıktan sonra bitkilere su verilmeyip aynı ortamda tutularak 10 gün süreyle kuraklığa bırakılmıştır. Kontrol bitkileri kuraklık uygulaması boyunca her gün sulanmıştır. Stres uygulaması da sonunda bitkiler üzerinde çeşitli ölçüm ve analizler yapılmıştır.

3.2.2. Stres ve hormon uygulamalarından sonra bitkiler üzerinde yapılacak ölçüm ve analizler

3.2.2.1. Oransal su içeriği (%)

Oransal su içeriğini (OSİ) belirlemek için Şekil 3.4.'de verildiği gibi tesadüfen seçilen beş bitkiden alınan yaprak ve kök tartılmış (yağ ağırlık), örnekler daha sonra 100 °C

de 48 saat kurutularak kuru ağırlıkları ölçülmüştür (Pang ve ark, 2012; Korkmaz, 2008). Oransal su içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

Bu formül $OSİ = [(YA-KA) / YA] \times 100$ şeklinde olup, burada:

OSİ: oransal su içeriğini,

YA: yaş ağırlığı,

KA: kuru ağırlığı ifade etmektedir.



Şekil 3.4. *I. tinctoria*'ya ait bitki yaş kök ve yaprak (A), kurutma işleminin uygulandığı etüv (B), bitki kök ve yaprak kurutulurken (C) ve bitki kuru kök ve yaprak görüntüleri.

3.2.2.2. Hayatta kalma oranı (%)

Stres uygulamasından 3 gün sonra yapılan değerlendirmede solgunluk göstermeyen (turgor basıncını yeniden kazanan) ve normal gelişimine devam eden bitkilerin oranı belirlenmiştir (Korkmaz, 2008).

3.2.2.3. Hasar indeksi

Korkmaz (2008)'de belirtilen skalaya göre bitkilerde zarar görmüş dokuların oranı belirlenmiştir. Buna göre: 1. Görülen 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. Kuvvetli hasar (yaprak alanının % 50'den daha fazla bir alanı nekrotik hasara sahip fakat bitki canlı) ve 5. Bitki ölü. Her bir gruba sırası ile 1, 2, 3, 4 ve 5 değerleri verilmiş ve böylece zarar görmüş dokuların oranı rakamsal bir değere dönüştürülmüştür

3.2.2.4. Yaprak ağırlığı (g)

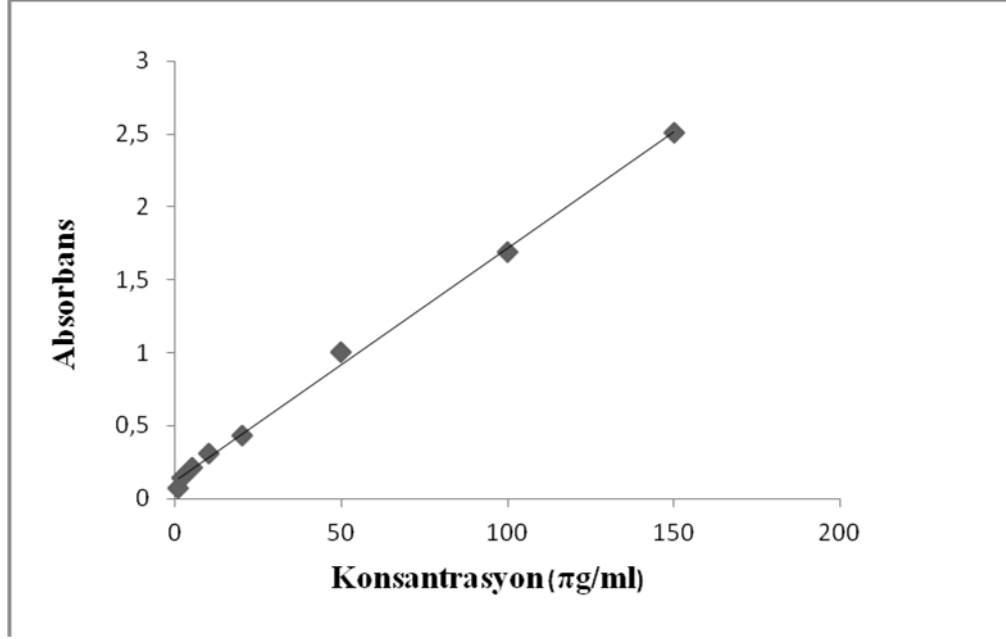
Tüm uygulamalardan sonra çiviotu fideleri topraktan toplanıp yıkandıktan sonra fideler yaprak ve kök olarak ayrılmıştır. Yaprak yaş ağırlığı tartılmış, yapraklar etüvde 48 saat 100 °C'de kurutulduktan sonra tartılmış ve böylece yaprakların kuru ağırlığı bulunmuştur (Hediye, 2009).

3.2.2.5. Kök ağırlığı (g)

Tüm uygulamalardan sonra çiviotu fideleri topraktan toplanıp yıkandıktan sonra fideler yaprak ve kök olarak ayrılmıştır. Kök yaş ağırlığı tartılmış, kökler etüvde 48 saat 100 °C'de kurutulduktan sonra tartılmış ve böylece köklerin kuru ağırlığı bulunmuştur (Hediye, 2009).

3.2.2.6. İndigo miktarının spektrofotometrik analizi

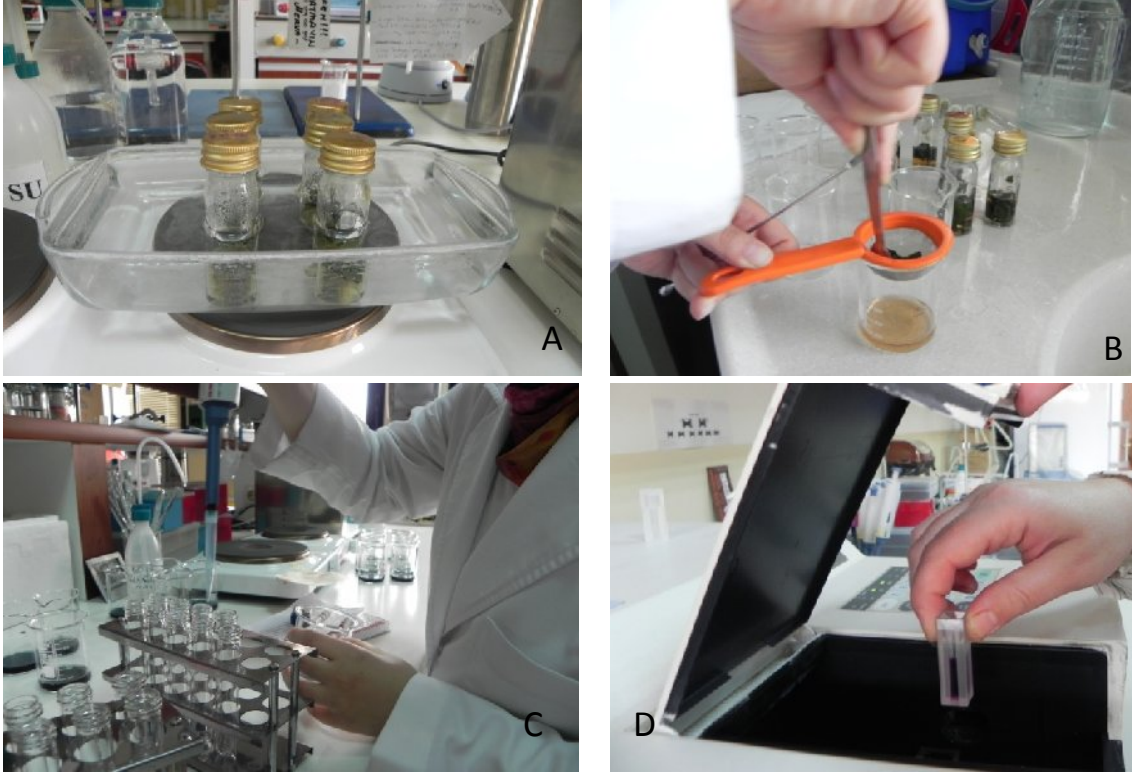
Isatis türlerinde mavi boya kaynağı olan indigo miktarının kantitatif analizi için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. İndigonun spektrofotometrede analizi için öncelikle yöntemin standardizasyonu sağlanmıştır. Bu amaçla sentetik indigo kullanılarak 1 mg/ml'lik bir derişik çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra bu stok solüsyondan etil asetatla seyreltme yapılarak 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 ve 150 µg/ml olmak üzere 8 farklı konsantrasyonda indigo standart serisi elde edilmiştir (Çömlekçioğlu, 2011). Hazırlanan bu farklı konsantrasyonlardaki standart serisi, UV/Vis spektrofotometrede 600 nm'de okunmuştur ve elde edilen absorban değerleri ile bir kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Şekil 3.5.). Kör olarak etil asetat kullanılmıştır.



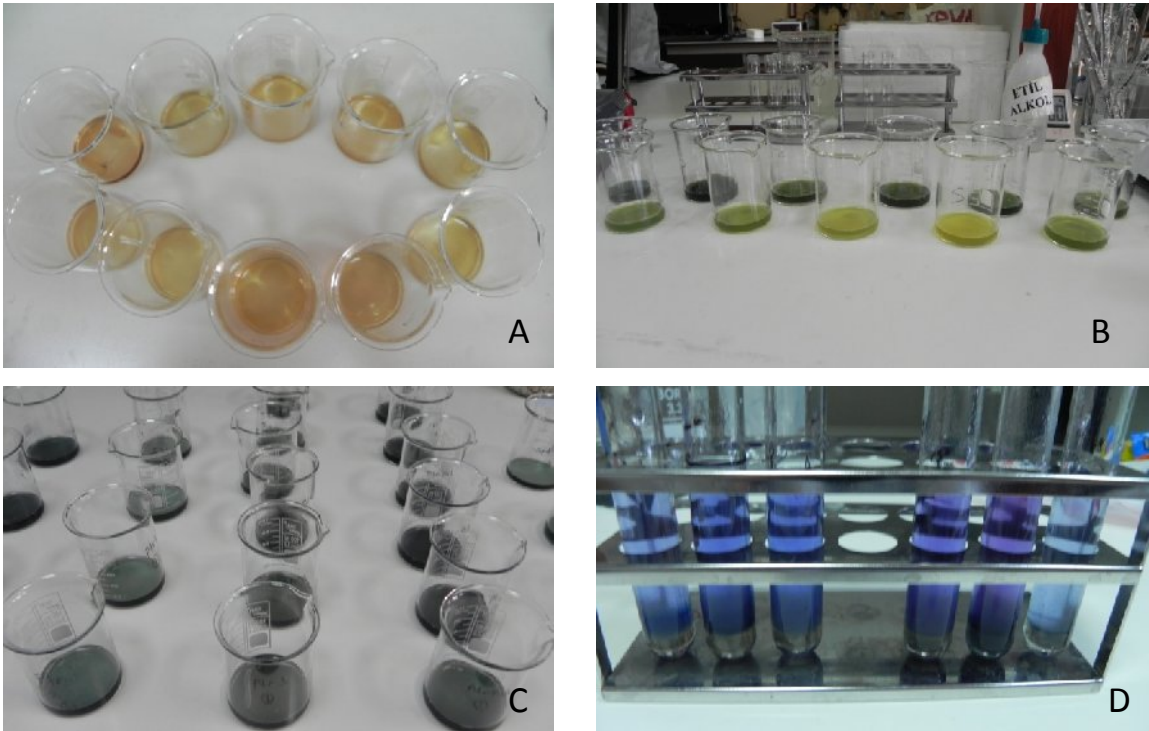
Şekil 3.5. Sentetik indigo kullanılarak hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltilerinin UV/Vis spektrofotometrede 600 nm'de okutulması ile elde edilen kalibrasyon eğrisi

Elde edilen kalibrasyon grafiğinin yanı sıra sonraki deneylerde *Isatis* türlerinin indigo miktarını tespit etmek için bir regresyon denklemi hesaplanmıştır. Elde edilen regresyon denklemi $y = 0.016x + 0.121$ iken bu denklemin korelasyon katsayısı $R^2 = 0.997$ olarak bulunmuştur. Sonuç olarak *Isatis* türlerinin indigo miktarının araştırılmasında spektrofotometrenin sağlıklı bir şekilde kullanılabilceği görülmüştür. Tüm yapılan uygulamalarda aynı denklem kullanılmıştır.

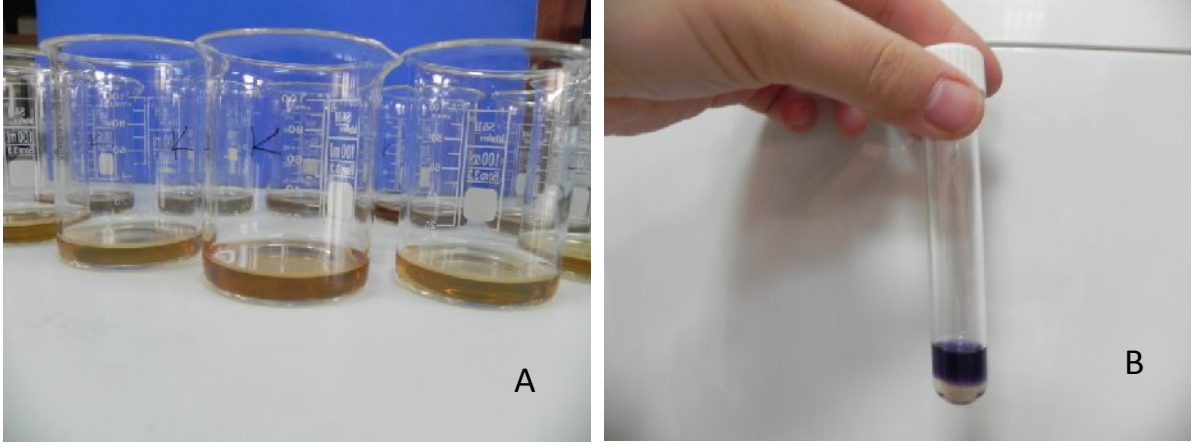
Sentetik indigo ile yapraklardaki indigo miktarını belirlemek için, uygulama yapılan bitkilerin yapraklarından 1 cm'lik diskler alınmış ve toplam 1 g taze yaprak örneği 10 ml'lik distile suya batırılmıştır. Kaynar haldeki su banyosunda 10 dk bekletildikten sonra, buzlu su yardımıyla hızlıca 25 °C'ye soğutulmuştur. Diskler çıkarıldıktan sonra, doymuş Na(OH)₂ solüsyonundan eklenerek pH 11'e getirilmiştir. Örnekler daha sonra 30 sn havalandırılmış ve en az 1 saat süreyle oda sıcaklığında bırakılmış, daha sonra %50 HCl'den pH 1-2 olana dek eklenmiştir. 10 dk bekledikten sonra 1 ml'lik bir kısım 3-5 ml etil asetatla ekstrakte edilmiştir. Bu ekstrakt, spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda okunmuştur (Çömlekcioglu, 2011; Sales ve ark., 2006). Şekil 3.6., Şekil 3.7. ve Şekil 3.8. de indigo elde edilmesine ait görüntüler verilmiştir.



Şekil 3.6. *I. tinctoria* ' da ait toplanan yaprakların kaynatılmasına (A), süzülmesine (B), etil asetat ile ekstrakte edilmesine (C), spektrofotometre ile okunmasına (D) ait görüntüler.



Şekil 3.7. Süzülen bitki ekstraktı (A), ekstrakta baz ilavesi (B), B'deki çözeltiliye asit ilavesi (C), C'deki çözeltinin etil asetat ile muamelesine ait görüntüler (D).



Şekil 3.8. İndigo elde edilirken önceki (A) ve sonraki (B) görüntüler.

3.3. Verilerin İstatiksel Analizi

Üç tekerrürlü olarak ayrı ayrı kurulan stres, hormon, stres-hormon denemelerinin istatistiksel analizi, tam şansa bağlı (tesadüf parseller) deneme desenine göre tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analizinde önemli bulunan özelliklerine ait ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Bek ve Efe, 1995).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Tuz Stresi Uygulaması Sonuçları

4.1.1. Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği

Tuz stresine maruz bırakılan çivitotu bitkisine ait kök yaş ağırlığına, kök kuru ağırlığına ve kök oransal su içeriğine ilişkin veriler Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı tuz konsantrasyonlarının *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriğine ait ortalama değerleri üzerine etkisi ve oluşan gruplar

Tuz Konsantrasyonu (mM)	Kök Yaş Ağırlığı (g)*	Kök Kuru Ağırlığı (g)**	Oransal Su İçeriği (%)**
0 (Kontrol)	2.02 ± 0.34 ^a	0.37 ± 0.08 ^b	81.77 ± 2.33 ^a
50	1.63 ± 0.17 ^a	0.70 ± 0.01 ^a	63.55 ± 2.17 ^c
100	1.19 ± 0.28 ^{ab}	0.32 ± 0.08 ^b	72.85 ± 0.26 ^b
200	0.60 ± 0.21 ^b	0.19 ± 0.07 ^b	67.94 ± 1.66 ^{bc}

* : P<0.05; ** : P<0.01

Yapılan analiz sonucunda tuz konsantrasyonlarının kök yaş ağırlığı (P<0.05) ve kök kuru ağırlıklarının (P<0.01) üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Çizelge 4.1.'e göre *I. tinctoria* bitkisine ait kök yaş ağırlık ortalamaları karşılaştırıldığında 2.02 g ile kontrol grubu ile 50 mM konsantrasyondaki stres grubu 1.63 g ile en yüksek değeri oluşturmakta ve istatistiksel olarak da aynı grupta yer almaktadır. En düşük ağırlık değeri 0.60 g ile 200 mM konsantrasyona sahip bitkilerde bulunmuştur. Tuz konsantrasyonu arttıkça kök yaş ağırlığı azalmış 200 mM'lık tuz konsantrasyonunda en düşük seviyeye ulaşmıştır. 15 gün boyunca tuz stresine maruz bırakılan bitkilerin kök kuru ağırlık değerleri arasında en yüksek değer 0.70 g ile 50 mM tuz konsantrasyonuna sahip stres grubu bitkilerde en düşük değer ise 0.32 g ile 100 ve 0.19 g ile 200 mM tuz konsantrasyonuna sahip stres grubu bitkilerinde tespit edilmiştir. Kök kuru ağırlığında 50 mM konsantrasyondaki değer artışı ile bitki strese karşı tepki göstermiştir. Fakat daha sonra çevreye uyum sağlamıştır. Konsantrasyon arttıkça ağırlık değeri azalmış olsa da kontrol (0 mM), 100 mM ve 200 mM uygulamalar istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır.

İstatistiksel açıdan değerlendirildiğinde, artan tuz konsantrasyonlarının kök kuru ağırlığını fazla etkilemediği, kök yaş ağırlığı bakımından en çok 200 mM 'lık tuzlu su ile

sulanan bitkilerin köklerinin negatif olarak etkilendiği ve ağırlık kaybı yaşadığı görülmüştür.

Kök oransal su içeriği bakımından en yüksek oran % 81.77 ile kontrol grubu bitkilerinde, en düşük oran ise % 63.55 ile 50 mM konsantrasyona ait stres grubu bitkilerinde tespit edilmiştir. Konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Kontrol grubu bitkilerin oransal su içeriği açısından değeri strese maruz bırakılan bitkilere oranla yüksek bulunmuştur.

4.1.2. Yaprak yaş ağırlık, yaprak kuru ağırlık, yaprak oransal su içeriği

I. tinctoria bitkisine uygulanan 50 mM, 100 mM ve 200 mM tuzlu su stresi uygulamalarına bağlı olarak yaprak (yaprak+sap) yaş ağırlıkları, yaprak (yaprak+sap) kuru ağırlıkları ve bu verilerden faydalanılarak bulunan yaprak (yaprak+sap) oransal su içeriğinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarının *I. tinctoria* bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriğine ait ortalama değerleri üzerine etkisi ve oluşan gruplar

Konsantrasyon (mM)	Yaprak Yaş Ağırlığı (g)*	Yaprak Kuru Ağırlığı (g)	Oransal Su İçeriği (%)**
0 (Kontrol)	3.92 ± 0.49 ^a	0.75 ± 0.10	80.76 ± 1.26 ^a
50	2.61 ± 0.30 ^{ab}	0.72 ± 0.16	68.49 ± 0.49 ^c
100	1.69 ± 0.43 ^b	0.47 ± 0.11	71.58 ± 0.82 ^{bc}
200	1.72 ± 0.48 ^b	0.41 ± 0.08	74.73 ± 2.52 ^b

* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$

Çizelge 4.2.'ye göre *I. tinctoria* bitkisine ait en yüksek yaprak yaş ağırlık ortalaması 3.92 g ile kontrol grubundan elde edilmiş olup konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Tuzlu su uygulaması yapılan bitkilerin yaprak yaş ağırlıkları 1.69 g ile 2.61 g arasında değişmiş olup, konsantrasyon arttıkça yaprak yaş ağırlıklarında azalma meydana gelmiştir. Tüm konsantrasyonlar değerlendirildiğinde stres grubu bitkilerinde kontrole göre azalma olmuştur.

Yaprak kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde en yüksek değer 0.72 g ile en düşük değer ise 0.41 g ile tespit edilmiştir. Değerler birbirine çok yakın olup konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Çizelge 4.2. incelendiğinde yaprak oransal su içeriğinde elde edilen verilerin içerisinde en yüksek oran % 80.76 ile kontrol grubu bitkilerinde bulunmuştur. En düşük oran ise % 68.49 ile 50 mM NaCl uygulamasındaki stres bitkilerinin oransal su içeriğinde gözlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça oransal su içeriği değerlerinde de bir artış gözlenmiştir. Bulunan değerler arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Stres grupları kontrol grubuna oranla daha düşük değere sahiptir.

4.1.3. Tuz stresi uygulamasının indigo üzerine etkisi

Denemenin bu aşamasında *I. tinctoria* bitkisine iki hafta boyunca 50 mM, 100 mM ve 200 mM tuz stresi uygulanmıştır. On beş günün sonunda bitki yaprakları toplanmış olup toplanan yapraklar zaman geçirilmeden laboratuara getirilerek indigo ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen değerler Şekil 4.1.'de ve Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

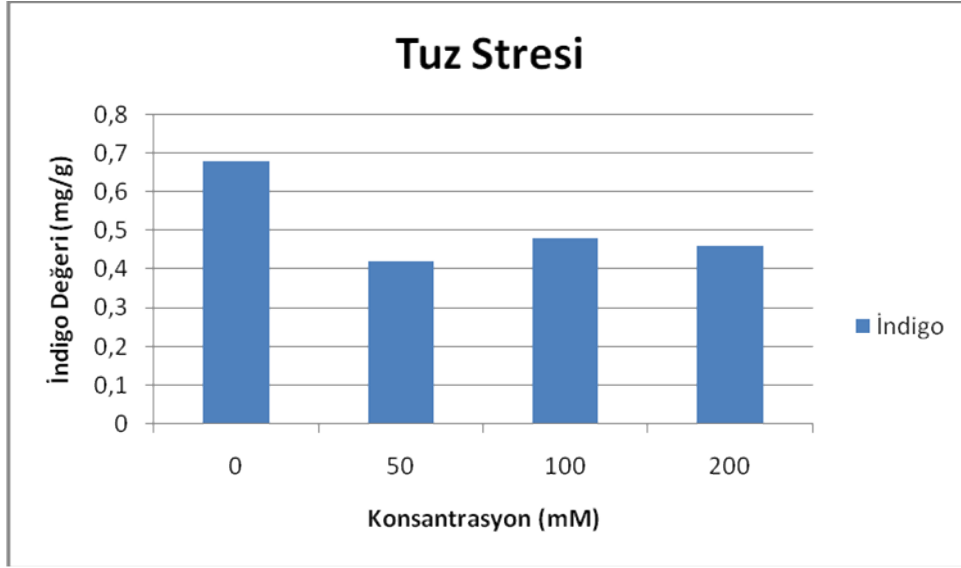
Çizelge 4.3. Farklı NaCl konsantrasyonları uygulanan *I. tinctoria* bitkisinin indigo içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Tuz Konsantrasyonu (mM)	İndigo Verimleri (mg/g)**
0 (Kontrol)	0.68 ± 0.07 ^a
50	0.42 ± 0.04 ^b
100	0.48 ± 0.06 ^{ab}
200	0.46 ± 0.05 ^b

* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$

I. tinctoria bitkisinin yapraklarından elde edilen indigo miktarı üzerine tuz stresinin etkisi istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Çizelge 4.3.'e göre en yüksek değer 0.68 mg/g ile kontrol grubu bitkilerinden elde edilmiştir. En düşük değerler 0.42 mg/g değeri ile 50 mM ve 0.46 mg/g değeri ile 200 mM konsantrasyona sahip stres grubu bitkilerinden elde edilmiştir.

Uygulamalar değerlendirildiğinde kontrol grubu değerinin stres gruplarından yüksek olduğu Şekil 4.1.'de görülmektedir.



Şekil 4.1. *I. tinctoria* bitkisine farklı NaCl konsantrasyon uygulamalarında yapraktan elde edilen indigo içeriğinin değişimi

Tuz stresi, hücre bölünmesini ve uzamasını etkileyerek, bitkilerde kök ve yaprakta hücre sayısının, mitotik aktivitenin ve hücre bölünme oranının azalmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak bitkinin yaprak ile kök uzunluğunda ve ağırlığında azalma; yapraklarda küçülme ve incelme ile sayılarında azalma; yaprak yüzeyinde bulunan mumsu tabaka ile kutikula tabakasında incelme; vasküler doku farklılaşmasında ve gelişiminde azalma meydana gelmektedir (Çulha ve ark.,2011).

Tuz ve kuraklık stresi gösterilen tepkilerden bir diğeri bitki su içeriğindeki azalmadır. Bu 'su potansiyelindeki azalma' olarak ifade edilmektedir. *I. tinctoria* bitkisine ait kısımların oransal su içeriği tuz stresinden gerek kök oransal su içeriği olsun gerekse gövde oransal su içeriği olsun bitkinin tüm kısımları olumsuz etkilenmiştir. Tuz stresi sonucu elde edilen sonuçlar hem kök hem de gövde oransal su içeriği ile ilgili olarak Hediye (2009) yapmış olduğu çalışmada *P. maritima* ve *P. media* bitki fidelerini 7 ve 14 gün süresince 0, 100 ve 200 mM NaCl stresine maruz bırakmıştır. *P. maritima* ve *P. media* bitkilerinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde yaş ağırlığı ve gövde kuru ağırlığının bitkiye uygulanan tuz konsantrasyonundaki artışa ve stres uygulama süresine bağlı olarak azaldığını tespit etmiştir. Fakat bu artışın *P. media* bitkisinde daha belirgin olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar ile tutarlılık göstermiş olup birçok değer konsantrasyondaki artış ile ters orantılı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Ayyıldız (2011) araştırmasında *Tagetes erecta* L., *Petunia hybrida* L. ve *Gazania splendens* L. bitkilerini tuz stresine maruz bıraktığı çalışmadan elde ettiği sonuçlara göre *T. erecta* ve *P. hybrida*'yı 40 mM, *G. splendens* 60 mM tuza toleranslı bulmuştur. Gövde çapı, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, bitki boyu, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı gibi bitki gelişim parametreleri için 40 mM'den yüksek dozdaki tuzlu suyla sulamada olumsuz etkiler gösterdiğini belirtmiş ve bütün parametreleri istatistiksel olarak önemli bulmuştur. Çalışmamızda tuz konsantrasyonunun artması ile stresten etkilenme oranının arttığı bulunmuş olup bu sonuçlarla uyum içerisinde olduğu saptanmıştır.

Geren ve ark. (2011) Kıbrıs mürdümüğü (*Lathyrus ochrus*) bitkisinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve fizyolojik özellikleri incelemek amacıyla yürüttükleri çalışmada, artan tuz dozlarının kontrol uygulamasına göre incelenen özelliklerin tümünü olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. Bu sonuç bizim çalışmamızda ulaştığımız sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

4.2. Kuraklık Stresi Uygulaması Sonuçları

4.2.1. Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, kök oransal su içeriği

I. tinctoria bitkisinin 3, 7 ve 10 gün kuraklık stresine maruz bırakılması sonucunda elde edilen kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve bu iki değer kullanılarak elde edilen kök için oransal su içeriği Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. incelendiğinde *I. tinctoria* bitkisine uygulanan kuraklık stresinin kök yaş ağırlığı üzerine ($P<0.01$) ve kök kuru ağırlığı üzerine ($P<0.05$) etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bitkilere uygulanan kuraklık stresi kök yaş ağırlığını kontrole göre azaltmıştır. Kuraklığa bırakılan gün sayısı arttıkça değerlerde düşüş gözlenmiştir. Kök yaş ağırlığı değerleri 0.84 ile 4.33 g arasında değişmiş olup, en yüksek değer 4.33 g ile 3. güne ait kontrol grubundan elde edilirken en düşük değer ise 0.84 g ile 10. gün stres grubundan elde edilmiştir. Kök kuru ağırlığı değerleri ise 0.19 ile 0.58 g arasında değişmiş olup, en düşük değer 0.19 g ile 10. günün kontrol grubunda görülmektedir. En yüksek değer 0.58 g ile 3. gün değerlerine aittir.

Çizelge 4.4. Kuraklık stresine maruz bırakılan *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Kuraklığa Bırakılan Gün Sayısı	Uygulama	Kök Yaş Ağırlığı (g)**	Kök Kuru Ağırlığı (g)*	Oransal Su İçeriği (%)**
3. gün	Kontrol	4.33 ± 0.93 ^a	0.58 ± 0.12 ^a	86.61 ± 0.28 ^{ab}
	Stres	2.98 ± 0.12 ^{ab}	0.58 ± 0.01 ^a	80.49 ± 0.41 ^c
7. gün	Kontrol	3.45 ± 0.80 ^{ab}	0.50 ± 0.15 ^a	85.80 ± 0.86 ^b
	Stres	2.74 ± 0.53 ^{ab}	0.56 ± 0.12 ^a	79.34 ± 1.71 ^c
10. gün	Kontrol	1.63 ± 0.30 ^{bc}	0.19 ± 0.05 ^b	88.77 ± 0.76 ^a
	Stres	0.84 ± 0.09 ^c	0.27 ± 0.03 ^{ab}	67.35 ± 0.52 ^d

* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$

I. tinctoria bitkisine uygulanan kuraklık stresinin kök oransal su içeriği üzerine etkisi istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Kök oransal su içeriği değerleri % 67.35 ile 88.77 arasında değişmiş olup, en yüksek oran 10. güne ait kontrol grubunda görülürken en düşük oran ise 10. güne ait stres grubunda gözlenmektedir. Stres gruplarında 3. ve 7. günde kontrole göre düşüş olsa da, bitki kuraklığa toleranslı olmuş fakat 10. gün susuzluktan etkilenmiştir.

Kök kuru ağırlığı üzerine 3 ve 7 gün susuz bırakmanın bir etkisi olmamışken 10. günde susuzluğun etkisi görülmüş ve bitki kökünün hem yaş hem de kuru ağırlığında düşüş meydana gelmiştir. Benzer durum oransal su içeriği için de geçerlidir. 3. ve 7. günde de kontrole nazaran düşüş gerçekleşmiş olsa da, en fazla ağırlık kaybı 10. gün de meydana gelmiştir.

4.2.2. Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği

I. tinctoria bitkisinin kuraklık stresine maruz bırakılması sonucunda elde edilen yaprak yaş ağırlığı ve yaprak kuru ağırlığı ve bu iki değer kullanılarak elde edilen verilere göre bulunan yaprak oransal su içeriği değerleri Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5.'e göre *I. tinctoria* bitkisine uygulanan kuraklık stresinin yaprak yaş ağırlığı üzerine etkisi istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Yaprak yaş ağırlığı değerleri 2.22 ile 23.32 g arasında değişmiş olup, en yüksek değer 3. güne ait kontrol grubunda gözlenirken en düşük değer 10. güne ait stres grubunda görülmüştür. Kuraklıkta geçen gün sayısı arttıkça stres grubundaki bitkilerin yaprak yaş ağırlığı değerleri de düşmüştür. Bu düşüş 10. günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Kuraklık stresi denemesinde, uygulamalar ile kontrol grupları kendi aralarında değerlendirilecek olursa kontrol grupları yüksek stres grupları ise düşük çıkmış olup, istatistiksel olarak da farklı gruplarda yer almışlardır.

Çizelge 4.5. Kuraklık stresine maruz bırakılan *I. tinctoria* bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Kuraklığa Bırakılan Gün Sayısı	Uygulama	Yaprak Yaş Ağırlığı (g)**	Yaprak Kuru Ağırlığı (g)*	Oransal Su İçeriği (%)**
3. gün	Kontrol	23.32 ± 3.96 ^a	2.56 ± 0.45 ^a	88.97 ± 0.56 ^a
	Stres	12.38 ± 2.12 ^b	1.53 ± 0.25 ^{abc}	87.57 ± 0.22 ^a
7.gün	Kontrol	18.23 ± 4.78 ^{ab}	1.94 ± 0.43 ^{ab}	89.14 ± 0.43 ^a
	Stres	9.06 ± 1.53 ^{bc}	1.30 ± 0.19 ^{bc}	85.49 ± 0.55 ^a
10.gün	Kontrol	14.42 ± 2.18 ^{ab}	1.76 ± 0.35 ^{abc}	88.02 ± 1.00 ^a
	Stres	2.22 ± 0.85 ^c	0.7 ± 0.24 ^c	67.26 ± 2.68 ^b

* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$

Yaprak kuru ağırlığına ait veriler incelendiğinde en yüksek değer 2.56 g ile 3. güne ait kontrol grubunda en düşük değer ise 0.70 g ile 10. gün stres grubunda elde edilmiş olup değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Tüm uygulamalarda gün sayısı arttıkça hem kontrol hem de stres gruplarının ortalama değerlerindeki azalma göze çarpmaktadır. Fakat her bir kuraklık uygulaması kendi içinde değerlendirilirse kontrol grubundaki değerlerin daha yüksek stres grubundaki değerlerin ise oldukça düşük olduğu görülmektedir.

I. tinctoria bitkisine uygulanan kuraklık stresinin yaprak oransal su içeriği üzerine etkisi istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Çalışmamızda yaprak oransal su içeriğine ait oranlarda en yüksek oran % 89.14 ile 7. güne ait kontrol grubundan en düşük değer ise % 67.26 ile 10. güne ait stres grubundan elde edilmiştir. Kontrol ve stres grupları arasında 10. güne kadar bir fark olmamış fakat 10. günde stres grubu OSİ değerinde önemli bir düşüş meydana gelmiştir.

4.2.3. Kuraklık stresi uygulamasının indigo üzerine etkisi

Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin yapraklarından elde edilen indigo verimlerine ait değerler Çizelge 4.6. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir. Her bir kuraklık uygulaması için ayrı kontrol grubu oluşturulmuştur.

Çizelge 4.6. Kuraklık stresine bırakılan *I. tinctoria* bitkisinin indigo içeriğine ait ortalama değerleri

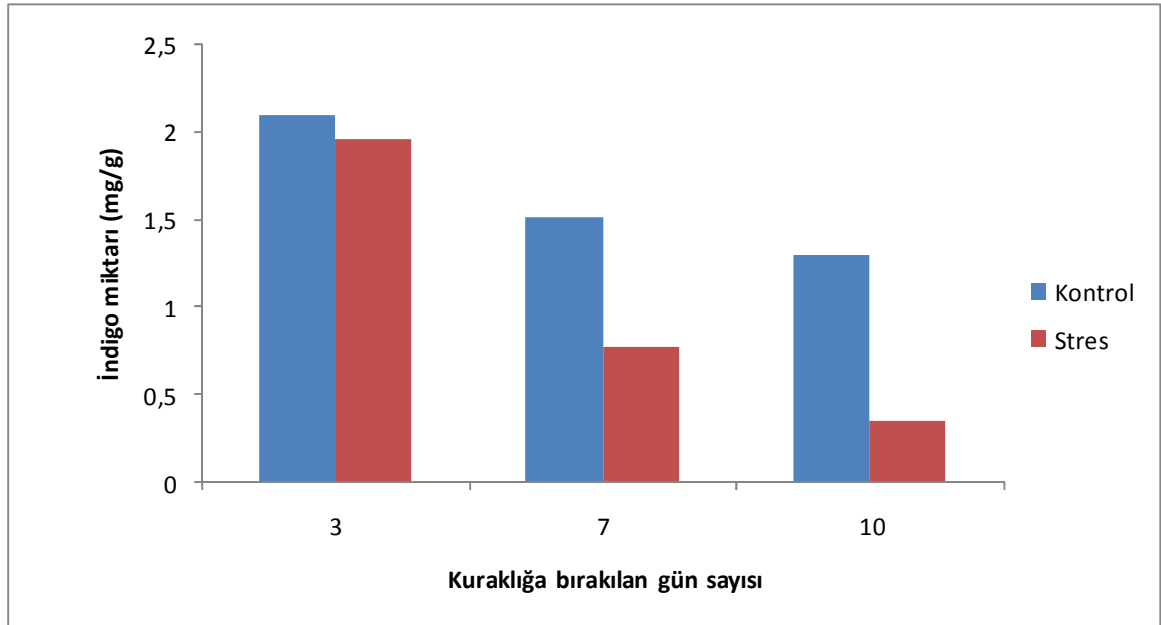
Kuraklığa Bırakılan Gün Sayısı	Uygulama	İndigo verimleri (mg/g)**
3. gün	Kontrol	2.10 ± 0.23 ^a
	Stres	1.96 ± 0.30 ^{ab}
7.gün	Kontrol	1.52 ± 0.11 ^{bc}
	Stres	0.78 ± 0.16 ^d
10.gün	Kontrol	1.30 ± 0.12 ^c
	Stres	0.35 ± 0.10 ^d

* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$

Çizelge 4.6. incelendiğinde *I. tinctoria* bitkisine uygulanan kuraklık stresinin indigo verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). İndigo değerleri 0.35 ile 2.10 mg/g arasında değişmiştir. En yüksek indigo değeri 2.10 mg/g ile 3. güne ait

kontrol grubunda en düşük değerler ise 0.78 mg/g ile 7. gün ve 0.35 mg/g ile 10. güne ait stres grubundaki bitkilerden elde edilmiştir. Kuraklığa bırakılan her gün için kontrol grubu ile stres grubu indigo değerleri miktarı karşılaştırıldığında stres uygulamalarında elde edilen indigonun kontrolden daha düşük olduğu görülmüş olup istatistiksel olarak da farklı gruplarda yer almışlardır.

Kuraklık stresine maruz bırakılan *I. tinctoria* bitkisinin yapraklarından elde edilen indigonun değişimine ait grafik Şekil 4.2.' de verilmiştir. Kuraklığa bırakılan gün sayısı arttıķca elde edilen indigo miktarında da azalma meydana gelmiştir. Her bir stres uygulamasının o güne ait kontrol uygulamasına göre daha düşük değerlere sahip olduğu grafikte de görülmektedir.



Şekil 4.2. Kuraklık stresine maruz bırakılan *I. tinctoria* bitkisinin yapraklarında indigonun değişimi

Güneş ve Aktaş (2008)'ın su stresinde yetiştirdikleri mısır bitkisine farklı dozlarda verdikleri potasyum gübresinin, bitki gelişimi ve verim üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, sulama suyu azaldıkça toprak üstü kuru madde veriminin ve toprak altı kuru madde veriminin azaldığını belirtmişlerdir. Kuraklık stresi denemesi sonucunda *I. tinctoria* bitkisinin 3, 7 ve 10. gün kuraklığa bırakılması sonucunda elde edilen büyüme parametrelerinden kök yaş ağırlığı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığına ait değerler karşılaştırıldığında kontrol grubunun stres grubundan daha yüksek olduğu grlmştir. Strese bırakılan gün sayısı arttıķca elde edilen ağırlıklarda da azalma meydana gelmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Güneş ve Aktaş (2008) ile uyum içindedir.

Farooq ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, ince taneli aromatik çeltiğin (*Oryza sativa* L.) kuraklık toleransı geliştirmesinde poliaminlerin (PA) rolünü değerlendirdikleri çalışmalarında kuraklık stresi, poliamin uygulaması ve kuraklık + poliamin uygulaması olmak üzere üç farklı uygulama yapmışlardır. Sonuç olarak kuraklık stresinde çeltik taze ve kuru ağırlıklarının ciddi bir şekilde azaldığını tespit etmişlerdir. Çeltik bitkisine poliamin uygulamadan sadece kuraklığa maruz bıraktıklarında elde ettikleri sonuçlarında gövde yaş ağırlığında en yüksek değerini kontrol grubundan bulmuşlardır ve ulaştığımız yaprak yaş ağırlığı ile ilgili sonucumuzla benzerlik arz etmektedir.

Stres esnasında dayanıklı ırkların oransal su içeriğindeki azalışın strese hassas olanlara nazaran daha az olduğu bilinmektedir. Örneğin, Pastori ve Trippi (1992), OSİ'nin iki mısır ırkında kuraklık periyodu esnasında azaldığını ve bu azalışın hassas olan ırkta dayanıklı olana göre önemli derecede fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Buğday bitkisinde yapılan diğer bir çalışmada da toleranslı olan çeşidin hassas olanla karşılaştırıldığında, stres periyodu esnasında daha fazla OSİ'ye sahip olduğu görülmüştür (Sgherri ve ark., 2000). Soğan (*Allium cepa*) bitkisinde yapılan başka bir çalışmada ise OSİ'nin kontrol ile karşılaştırıldığında % 25 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Güler, 2008). *I. tinctoria* bitkisi kuraklık stresine maruz bırakıldığında kök ve yaprak oransal su içeriği değerlerinde stres gruplarının kontrol gruplarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir ki bu durum *I. tinctoria* bitkisinin strese karşı dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Stoker ve ark. (1998a), *I. tinctoria*'dan indigo eldesinin kuru ve güneşli hava sonrasında önemli derecede arttığını göstermişlerdir. Bu durum indigo öncüllerinin oluşumunun ışık yoğunluğu ve kalitesinden etkilendiğini göstermektedir. Genellikle fazla ışığa maruz kalan bitkilerin daha fazla indigo ürettiğini, yüksek ışığa maruz kalanların düşük ışığa alındıklarında indigo üretiminin düştüğünü bildirmişlerdir. Bu durum, yüksek güneş ışığı periyotlarından sonra bitkiler hasat edilince, elde edilen indigo miktarının artacağını göstermektedir. *I. tinctoria*'yı açık alanda, serada ve kontrollü ortamda olmak üzere 3 farklı yerde yetiştirmiş ve dışarıda yetiştirilmiş 17 bitkiden indigo kazancının 400 mg/bitki, serada yetiştirilmiş bitkilerden 150 mg/bitki veya kontrollü ortamdakilerden 100 mg/bitki daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. İndigo veriminin düşük olmasının stres grubu bitkilerinin stresten etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Campeol ve ark. (2006), İtalya'da indigo üretiminde uygun yeni ürün belirlemek için, indigo öncüllerinin verimliliğinde mevsimsel çeşitliliği, ılıman iklim altında İtalya'nın merkezinde büyüyen *Isatis* ve *Polygonum* (Polygonaceae) ile çalışmışlardır. *I. tinctoria*

bitkisinin iyi sulanmış bitkilere göre su stresi koşullarında hem yaprak ağırlığında hem de indigo veriminde düşüş meydana geldiğini belirtmişlerdir. Hatta en düşük değerleri yağışın en az, sıcaklığın en yüksek olduğu Ağustos ayı ve Eylül ayının başında elde etmişlerdir. Bu bakımdan bu çalışmada indigo veriminin düşmesi doğrultusunda bulduğumuz sonuçlar Campeol ve ark., (2006)'nın çalışması ile uyum içindedir.

Sales ve ark. (2006) İspanya'da yapmış oldukları *Isatis* türlerindeki indigo üretimine farklı ekim zamanlarının etkilerini inceledikleri çalışmalarında, indigo miktarlarındaki değişimleri iklimsel farklılıklarla açıklamışlardır. Bu iki zaman aralığında 2003 yazının 2002 yazından daha kurak ve sıcak geçtiğini belirtmişlerdir. İndigo miktarındaki düşüşün, yüksek sıcaklığın bitki gelişimini sınırlandırmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da kuraklıkta kalma süresi arttıkça indigo miktarı da düşmüştür.

4.3. Poliamin Uygulaması Sonuçları

İklimlendirme odasında yetiştirilen bitkiler yeterli büyüklüğe ulaştıklarında 10 gruba ayrılmıştır. Bunlar kontrol (1 grup), spermin (3 grup), spermidin (3 grup) ve putresin (3 grup) olmak üzere poliamin gruplarını oluşturmaktadır. Her bir poliamin grubu bitkilere de 0.1 mM, 1 mM ve 2 mM olmak üzere üç farklı konsantrasyonda uygulanmıştır. Uygulama süresi olan bir ay sonunda bitkiler toplanmıştır. Rastgele seçilen üç bitkiden kök ve yaprak kısımları ayrılarak yaş ağırlık, kuru ağırlık, oransal su içeriği ile ilgili analizler yapılmıştır.

4.3.1. Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, kök oransal su içeriği

I. tinctoria bitkisine 0 mM (kontrol), 0.1 mM, 1 mM ve 2 mM poliamin verildikten sonra bitkinin kök yaş ağırlıkları, kök kuru ağırlıkları ve bu iki değerden faydalanılarak bulunan oransal su içeriğinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan poliaminlerin *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği etkisi ve oluşan gruplar

Poliaminler	Konsantrasyon	Kök Yaş Ağırlığı (g)*	Kök Kuru Ağırlığı (%)	Oransal Su İçeriği (%)**
Spermin	0.1mM	0.35 ± 0.02 ^{ab}	0.10 ± 0.01	73.71 ± 0.01 ^c
	1mM	0.33 ± 0.08 ^{ab}	0.08 ± 0.01	76.67 ± 0.41 ^{bc}
	2 mM	0.37 ± 0.03 ^{ab}	0.10 ± 0.01	73.73 ± 0.84 ^c
Spermidin	0.1 mM	0.26 ± 0.07 ^b	0.06 ± 0.01	75.91 ± 1.66 ^{bc}
	1 mM	0.45 ± 0.10 ^{ab}	0.08 ± 0.02	81.55 ± 0.01 ^a
	2 mM	0.27 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.01	78.26 ± 0.94 ^b
Putresin	0.1 mM	0.56 ± 0.06 ^a	0.13 ± 0.01	75.27 ± 1.23 ^{bc}
	1 mM	0.56 ± 0.09 ^a	0.12 ± 0.01	77.91 ± 0.51 ^b
	2 mM	0.68 ± 0.34 ^a	0.07 ± 0.01	83.23 ± 0.82 ^a
Kontrol	0 mM	0.32 ± 0.04 ^{ab}	0.09 ± 0.01	70.58 ± 0.95 ^d

* : P<0.05; **: P<0.01

Çizelge 4.7.'ye göre eksojen olarak uygulanan poliaminlerin kök yaş ağırlığı değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Poliamin uygulanan bitkilerin kök yaş ağırlığı verileri 0.26 ile 0,68 g arasında değişmiştir. Putresin uygulanan bitkilerin kök yaş ağırlıkları kontrolden daha yüksektir. En yüksek değerlerin elde edildiği putresinin tüm konsantrasyonları, kök yaş ağırlığını arttırmada en etkili

poliamin olmuştur. En düşük değerler ise spermidinin 0.26 g ile 0.1 mM konsantrasyonu ve 0.27 g ile 2 mM konsantrasyonundan tespit edilmiştir. Kök yaş ağırlık değerleri bakımından spermidinin neredeyse tüm konsantrasyonlarında kontrole göre daha düşük değerler elde edilmiştir. Sperminin tüm konsantrasyonları ise kontrolle aynı grupta olduğundan sperminin kök yaş ağırlığı üzerine olumlu yada olumsuz herhangi bir etkisi olmamıştır. Kök kuru ağırlığı verileri incelendiğinde değerlerin 0.06 g ile 0.13 g arasında değiştiği görülmektedir ve ortalamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Kök oransal su içeriğinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Çizelge 4.7.'deki kök oransal su içeriğine ait veriler incelendiğinde en yüksek değer % 83.23 ile putresinin 2 mM konsantrasyonu ve % 81.55 ile spermidinin 1 mM konsantrasyonundan elde edilmiş olup istatistiksel olarak da 1. grupta yer almışlar kök oransal su içeriği üzerine en etkili poliaminleri oluşturmuşlardır. En düşük değer ise % 70.58 ile kontrol (0 mM) grubunda olduğu görülmektedir. Kontrol grubundaki bitkilere ait oransal su içeriği değerleri son grupta yer almıştır. diğer tüm poliamin uygulamaları kontrolden yüksek olup kök oransal su içeriği üzerine etkili olmuştur.

4.3.2. Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği

I. tinctoria bitkisinin yapraklarına poliamin uygulaması yapıldıktan sonra yaprak yaş ağırlıkları, yaprak kuru ağırlıkları ve bu değerlerden faydalanılarak bulunan oransal su içeriğinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

I. tinctoria bitkisine uygulanan çeşitli poliaminlerin yaprak yaş ve kuru ağırlığı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuşsa da grup oluşmuştur ($P>0.05$). Çizelge 4.8.'e göre en yüksek yaprak yaş ağırlığı 1 mM konsantrasyonda spermidinden 4.56 g olarak elde edilmiştir. Putresinin bütün konsantrasyonlarda yaprak yaş ağırlığı değerlerinin kontrole ve diğer poliamin uygulamalarına göre yüksek olduğu görülmektedir. Buna göre 0.1 mM, 1 mM, 2 mM konsantrasyonlardan yaprak yaş ağırlıkları sırasıyla 4.21 g, 3.84 g, 3.62 g olarak bulunmuştur. Ayrıca spermidinin 1 mM konsantrasyonundan en yüksek yaprak yaş ağırlığı değeri, en düşük değer ise 1.60 g ile spermidinin 2 mM konsantrasyonundan elde edilmiştir. Yaprak kuru ağırlığına ait veriler incelendiğinde sadece iki değer (putresin 0.1 ve 1 mM konsantrasyonlardan sırasıyla 0.46 ve 0.51 g) kontrolden daha yüksek çıkmıştır. Fakat spermidinin 0.1 ve 2 mM'lık konsantrasyonları

kontrolden dahi etkisiz olurken diğer uygulamalar kontrolle aynı grupta yer almış dolayısıyla yaprak kuru ağırlığı üzerine herhangi bir etkileri olmamıştır.

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan poliaminlerin *I. tinctoria* bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Poliaminler	Konsantrasyon	Yaprak Yaş Ağırlığı (%)	Yaprak Kuru Ağırlığı (%)	Oransal Su İçeriği (%)**
Spermin	0.1 mM	2.79 ± 0.04 ^{ab}	0.34 ± 0.01 ^{ab}	87.82 ± 0.04 ^{bc}
	1 mM	3.17 ± 0.32 ^{ab}	0.30 ± 0.04 ^{ab}	90.39 ± 0.35 ^{ab}
	2 mM	2.78 ± 0.28 ^{ab}	0.34 ± 0.02 ^{ab}	87.82 ± 0.67 ^{bc}
Spermidin	0.1 mM	2.08 ± 0.58 ^{ab}	0.21 ± 0.05 ^b	89.86 ± 0.27 ^{ab}
	1 mM	4.56 ± 1.27 ^a	0.37 ± 0.11 ^{ab}	92.05 ± 0.31 ^a
	2 mM	1.60 ± 0.00 ^b	0.18 ± 0.00 ^b	88.87 ± 0.04 ^{bc}
Putresin	0.1 mM	4.21 ± 0.61 ^a	0.51 ± 0.07 ^a	88.03 ± 0.12 ^{bc}
	1 mM	3.84 ± 0.03 ^a	0.46 ± 0.01 ^{ab}	88.15 ± 0.29 ^c
	2 mM	3.62 ± 0.78 ^a	0.27 ± 0.13 ^{ab}	93.05 ± 2.90 ^a
Kontrol	0 mM	2.09 ± 0.31 ^{ab}	0.41 ± 0.05 ^{ab}	79.83 ± 0.61 ^d

* : P<0.05; **: P<0.01

I. tinctoria bitkisine uygulanan çeşitli poliaminlerin yaprak oransal su içeriği üzerine etkisi istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur (P<0.01). Çizelge incelendiğinde oransal su içeriğinde gözlenen en yüksek oranlar % 93.05 ile putresinin 1 mM'lık ve % 92.05 ile spermidinin 2 mM lık konsantrasyonlarından elde edilmiştir. En düşük değer ise % 79.83 ile kontrol (0 mM) grubu bitkilerinden elde edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda poliaminlerin tüm konsantrasyonları kontrol grubundan yüksek çıkmıştır. Bu da hormon uygulamalarının bitkinin yaprak oransal su içeriğinin oranını artırdığını gösterir.

Hormon uygulamasında yaprak yaş ağırlığı ve yaprak kuru ağırlığında en etkili sonuç putresinin 0.1 mM konsantrasyonundan; kök yaş ağırlığı, kök oransal su içeriği, yaprak oransal su içeriğinde ise en etkili sonuç putresine ait 2 mM konsantrasyonundan elde edilmiştir. En düşük değerler yaprak yaş ağırlığı ve yaprak kuru ağırlığında spermidinin 2 mM konsantrasyonundan elde edilirken; oransal su içerisine ait değerlerde ise kontrol grubundan elde edilmiştir.

4.3.3. Poliamin uygulamasının indigo üzerine etkisi

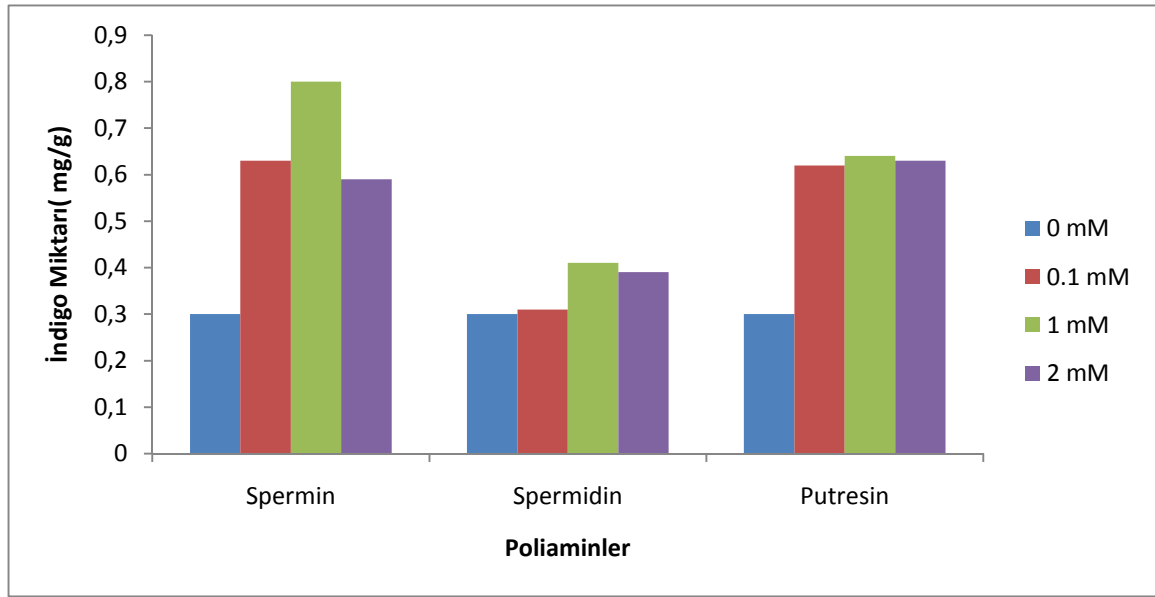
Kontrol, spermin, spermidin ve putresin olmak üzere poliamin gruplarına ait bitkiler hormon uygulamasının 4. dozunu takiben toplanmış ve zaman geçirilmeden laboratuara getirilerek indigo ekstraksiyonu yapılmıştır. Uygulamalardan elde edilen indigo verimleri Çizelge 4.9. ve Şekil 4.4.' de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Eksojen olarak uygulanan poliaminlerin *I. tinctoria* bitkisinin indigo içeriğine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Poliaminler	Konsantrasyon	İndigo Verimleri (mg/g)*
Spermin	0.1 mM	0.63 ± 0.07 ^{ab}
	1 mM	0.80 ± 0.08 ^a
	2 mM	0.59 ± 0.12 ^{ab}
Spermidin	0.1 mM	0.31 ± 0.04 ^c
	1 mM	0.41 ± 0.05 ^{bc}
	2 mM	0.39 ± 0.04 ^{bc}
Putresin	0.1 mM	0.58 ± 0.13 ^{ab}
	1 mM	0.60 ± 0.10 ^b
	2 mM	0.59 ± 0.08 ^{ab}
Kontrol	0 mM	0.30 ± 0.03 ^c

* : P<0.01

Çizelge 4.9. incelendiğinde değerler arasındaki fark istatistiksel olarak çok önemli bulunduğundan eksojen olarak uygulanan poliaminlerin yapraklardan elde edilen indigo üzerine etkili olmuştur (P<0.01). En yüksek indigo veriminin 0.80 mg/g ile spermine ait 1 mM konsantrasyonda, en düşük değerler ise 0.30 mg/g ile kontrol (0 mM) grubundan ve 0.31 mg/g ile spermidinin 0.1 mM konsantrasyonundan elde edildiği tespit edilmiştir. İndigo verimi bakımından en yüksek değerler spermin ve putresin uygulamalarından elde edilmiş olup, spermidin hormonunun etkili olmadığı görülmektedir (Şekil 4.3). Fakat gerek fide ağırlığının gerekse indigo miktarının artışı noktasında putresinin olumlu bir etkisinin olduğu gayet açıktır. Bu da poliamin uygulamalarının indigo miktarını artırmada önemli bir rol oynadığını gösterir. Fide ağırlığının artışı, birim alandan elde edilen yaprak veriminin ve indigo da yapraklardan elde edildiğinden dolayı, buna paralel olarak indigo veriminin artışıyla ilişkilidir.



Şekil 4.3. *I. tinctoria* bitkisine farklı poliamin ve poliaminlara ait farklı konsantrasyonlar uygulamalarında yapraktan elde edilen indigo içeriğinin değişimi

Kireççi (2006) Spermin, Spermidin ve Putresinin farklı konsantrasyonlarının fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkisinin morfolojik yapı ve uçucu yağ kalitesine etkilerinin incelediği çalışmasında fesleğen bitkisinde yaş ağırlık üzerine etkileri bakımından poliamin hormon grubundaki uygulamalarında düşük konsantrasyonundan daha verimli sonuç aldığını belirtmiştir. Çalışmamızda yaprak kuru ağırlığında en etkili sonucu putresin hormonunun 0.1 mM bulunmuştur ki bizim çalışmamız ile uyumaktadır. Kireççi (2006), çalışmamızda olduğu gibi bitkide poliamin gruplarında kontrol grubundan daha yüksek yaş ağırlık değerleri elde etmiştir.

Poliamin indigo verilerinde tek hormona ait en etkili değer sperminin 0,1 mM konsantrasyonunda, en düşük değer kontrol grubundan elde edilmiştir. Çömlekciöğlü (2011)'in yapmış olduğu çalışmasında *I. tinctoria* türünde Ekim-Kasım ayı ile Şubat- Mart ayı ekimleri arasında büyük fark ortaya çıktığını belirtmiştir. *I. tinctoria*'nın Şubat-Mart ekim zamanlarında en yüksek indigo içeriğine sahip tür olduğunu vurgulamıştır. Poliamin uygulaması yapılmayan kontrol grubunda elde edilen sonuç Çömlekciöğlü (2011)'in Ekim-Kasım ayındaki bulduğu değerlere yakın bulunurken poliamin uygulayarak elde ettiğimiz değerler daha yüksek bulunmuştur.

4.4. Poliamin + Tuz Stresi Uygulaması Sonuçları

Denemenin bu aşamasında bitkilere poliamin uygulanmış ardından tuzluluk stresine maruz bırakılmış ve tuz stresinin olumsuz etkilerini tolere etmeleri hedeflenmiştir. İlk olarak daha önce kullanılan yöntem bitkilere aynı şekilde tatbik edilmiş dört hafta boyunca püskürtme yoluyla yapraklara poliaminler uygulandıktan sonra bitkiler tuzlu su ile 15 gün boyunca sulanmıştır. Tuzlu su konsantrasyonu olarak, bitkilerin en çok etkilendiği doz olan 200 mM'lık NaCl konsantrasyonu seçilmiştir. 6 hafta sonunda tüm uygulamaların bitimini takiben bitkiler arasından rastgele seçilen 10 bitkinin kök ve yaprakları ayrılmış ve ayrılan kök ve yapraklara ait yaş ağırlık, kuru ağırlık ve oransal su içeriğine ait veriler alınmıştır.

4.4.1. Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, kök oransal su içeriği

Poliamin + tuz uygulamasını takiben hasat edilen bitkilerden elde edilen kök yaş ağırlık, kuru ağırlık ve oransal su içeriğine ait veriler Çizelge 4.10. verilmiştir.

Çizelge 4.10. Poliamin + tuz uygulamasının *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlık ve oransal su içeriği üzerine poliaminlerin etkisi ve oluşan gruplar

Poliamin	Konsantrasyon	Kök Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Oransal Su İçeriği (%)**
Spermin	0,1 mM	0,10 ± 0.02	0.02 ± 0.01	75.91 ± 1.02 ^{ab}
	1 mM	0.14 ± 0.04	0.04 ± 0.01	66.45 ± 2.19 ^{cd}
	2 mM	0.18 ± 0.12	0.05 ± 0.04	71.80 ± 1.39 ^{abc}
Spermidin	0,1 mM	0.22 ± 0.07	0.07 ± 0.02	69.10 ± 1.50 ^{abc}
	1 mM	0.19 ± 0.06	0.06 ± 0.02	71.42 ± 1.44 ^{abc}
	2 mM	0.09 ± 0.02	0.02 ± 0.01	76.31 ± 1.00 ^a
Putresin	0,1 mM	0.27 ± 0.14	0.08 ± 0.04	72.66 ± 1.92 ^{abc}
	1 mM	0.12 ± 0.03	0.03 ± 0.01	74.49 ± 2.71 ^{ab}
	2 mM	0.15 ± 0.07	0.05 ± 0.03	68.89 ± 2.82 ^{bc}
Kontrol 1	0 mM	0.22 ± 0.08	0.08 ± 0.03	65.71 ± 0.72 ^{cd}
Kontrol 2	0 mM	0.10 ± 0.01	0.04 ± 0.00	60.43 ± 4.43 ^d

Kontrol 1: Poliamin uygulanmadan saf su ile sulanmış bitkiler.

Kontrol 2: Poliamin uygulanmadan 200 mM tuzlu su ile sulanmış bitkiler.

* : P<0.05; **: P<0.01

Çizelge 4.10.'e göre farklı poliamin konsantrasyonlarının *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı üzerine etkileri bakımından spermin, spermidin, putresin uygulamalarının etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Kök yaş

ağırlığı değerleri 0.09 ile 0.27 g arasında değişmiştir. Kök kuru ağırlığı değerleri ise 0.02 ile 0.08 g arasında değişmiştir. Diğer tüm değerler bu iki değer arasında yer almakta olup hem kök yaş ağırlığında hem de kök kuru ağırlığında grup oluşmamıştır. Dolayısıyla eksojen uygulanan poliaminlerin kök yaş ve kuru ağırlığı değerleri üzerine hiçbir etkisi olmamıştır.

Çizelge 4.10.'a göre poliamin + tuz uygulamasının *I. tinctoria* bitkisinin kök oransal su içeriği üzerine etkileri istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). En yüksek oransal su içeriği değeri % 76.31 ile spermidine ait 2 mM konsantrasyondan, en düşük değer ise % 60.43 ile kontrol 2 grubuna ait bitkilerden elde edilmiştir. Farklı poliaminlerin farklı konsantrasyonuna ait değerler her iki kontrol grubundan fazladır. Bu da yapılan uygulamalarda uygulanan poliaminlerin kök oransal su içeriğine ait değerleri yükselttiğini göstermektedir.

4.4.2. Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği

Poliamin + tuz uygulamasının bitiminden sonra toplanan bitkilerden rastgele seçilen 3 bitkinin yaprak yaş ağırlığı ve yaprak kuru ağırlığı alınmış bu değerler kullanılarak hazırlanan yaprak oransal su içeriğine ait Çizelge 4.11.'de verilmiştir.

Yaprak yaş ağırlığı değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.11). Spermidinin 0.1 mM konsantrasyonunda 1.90 g ile en yüksek değer elde edilmiştir. Diğer yandan sperminin 1 mM konsantrasyonundan 0.71 g ile en düşük değer elde edilmiştir. Ayrıca putresinin tüm konsantrasyonları kontrol gruplarından yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4.11.'e göre farklı poliamin konsantrasyonlarının tuz stresine maruz bırakılan yaprak kuru ağırlığı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). *I. tinctoria* bitkisinin yaprak kuru ağırlığında en yüksek değer 0.27 g en düşük değer 0.10 g bulunarak elde edilmiştir. Tüm değerler bu iki değer arasında yer almakta olup grup oluşmamıştır. Poliaminlerin yaprak kuru ağırlığı üzerine kayda değer bir etkisi olmadığı sonucu çıkarılmıştır.

Çizelge 4.11. Poliamin+tuz uygulamasının *I. tinctoria* bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve oransal su içeriği üzerine poliaminlerin etkisine ait ortalama değerler ve oluşan gruplar

Poliamin	Konsantrasyon	Yaprak Yaş Ağırlığı (g)*	Yaprak Kuru Ağırlığı (g)	Oransal Su İçeriği (%)**
Spermin	0,1 mM	0.81 ± 0.16 ^{bc}	0.10 ± 0.03	88.00 ± 1.33 ^a
	1 mM	0.71 ± 0.20 ^c	0.10 ± 0.02	86.39 ± 0.35 ^a
	2 mM	0.80 ± 0.10 ^{bc}	0.13 ± 0.02	84.04 ± 0.27 ^{ab}
Spermidin	0,1 mM	1.90 ± 0.44 ^a	0.27 ± 0.08	86.08 ± 0.97 ^a
	1 mM	1.50 ± 0.20 ^{abc}	0.22 ± 0.03	85.26 ± 0.83 ^{ab}
	2 mM	0.78 ± 0.09 ^{bc}	0.12 ± 0.01	84.89 ± 0.56 ^{ab}
Putresin	0,1 mM	1.84 ± 0.53 ^{ab}	0.27 ± 0.08	85.34 ± 0.33 ^{ab}
	1 mM	1.53 ± 0.38 ^{abc}	0.23 ± 0.07	85.48 ± 1.07 ^{ab}
	2 mM	1.49 ± 0.57 ^{abc}	0.24 ± 0.10	84.08 ± 1.82 ^{ab}
Kontrol 1	0 mM	1.20 ± 0.10 ^{abc}	0.22 ± 0.01	81.18 ± 0.59 ^{bc}
Kontrol 2	0 mM	0.91 ± 0.10 ^{abc}	0.21 ± 0.06	77.86 ± 3.77 ^c

Kontrol 1: Poliamin uygulanmadan saf su ile sulanmış bitkiler.

Kontrol 2: Poliamin uygulanmadan 200 mM tuzlu su ile sulanmış bitkiler.

* : P<0.05; **: P<0.01

Çizelge 4.11.'e göre uygulama sonucu elde edilen oransal su içeriğine ait veriler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Oransal su içeriği bakımından en yüksek oranlar % 88.00 ile sperminin 0.1 mM konsantrasyondan, % 86.36 ile sperminin 1 mM ve % 86.08 ile spermidinin 0.1 mM konsantrasyondan elde edilmiştir. En düşük değer ise % 77.86 ile yapraktan saf su verilirken tuzlu su ile sulanan kontrol 2 grubundan elde edilmiştir. Poliamin uygulamalarının tüm konsantrasyonları kontrol gruplarından yüksek çıkmış ve istatistiksel olarak da kontrolden farklı grupta yer almıştır. Bu da tuz stresine maruz kalma durumunda eksojen poliamin uygulamalarının yaprak oransal su içeriği üzerine olumlu etki yaptığını göstermektedir.

Poliamin ve tuz stresi birlikte uygulandığında kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı yaprak yaş ağırlığı en etkili sonuç spermidinin 0,1 mM konsantrasyonundan elde edilmiştir. Poliamin ve tuz stresi birlikte uygulandığında kök oransal su içeriği ile yaprak oransal su içeriği için en düşük değerler ise kontrol gruplarından elde edilmiştir.

4.4.3. Poliamin + Tuz stresi uygulamasının indigo üzerine etkisi

Poliamin uygulamasını takiben, 200 mM NaCl çözeltisi ile 2 hafta boyunca sulanan bitkilerin indigo içeriğine ait veriler Çizelge 4.12. ve Şekil 4.5.' de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Poliamin + tuz stresi uygulamasının *I. tinctoria* 'daki indigo içeriğine etkisi ve oluşan gruplar

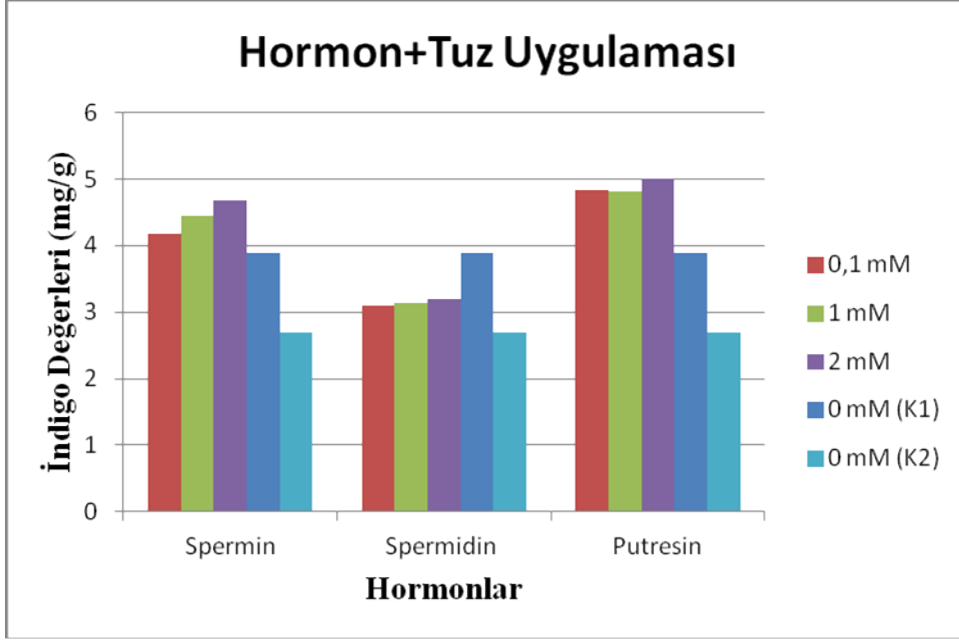
Poliamin	Konsantrasyon	İndigo Verimleri (mg/g)**
Spermin	0,1 mM	4.18 ± 0.08 ^{cd}
	1 mM	4.46 ± 0.07 ^{bc}
	2 mM	4.68 ± 0.18 ^{ab}
Spermidin	0,1 mM	3.07 ± 0.22 ^e
	1 mM	3.13 ± 0.12 ^e
	2 mM	3.20 ± 0.21 ^e
Putresin	0,1 mM	5.03 ± 0.18 ^a
	1 mM	4.82 ± 0.16 ^{ab}
	2 mM	4.94 ± 0.11 ^{ab}
Kontrol 1	0 mM	3.91 ± 0.17 ^d
Kontrol 2	0 mM	2.45 ± 0.12 ^f

Kontrol 1: Poliamin uygulanmadan saf su ile sulanmış bitkiler.

Kontrol 2: Poliamin uygulanmadan 200 mM tuzlu su ile sulanmış bitkiler.

* : P<0.05; **: P<0.01

Tuz stresine maruz bırakılan *I. tinctoria* bitkisinde farklı poliaminlerin indigo üzerine etkisi istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur (P<0.01) (Çizelge 4.12). Poliaminler ayrı ayrı değerlendirildiğinde spermin hormonunun konsantrasyonu arttıkça indigo miktarında artış olmuştur ve her bir uygulama istatistiksel olarak farklı grupta yer almıştır . Spermidin hormonundaki tüm konsantrasyonlar kontrol 1 grubundan düşük çıkmış olsa da kontrol 2 grubundan yüksek çıkmıştır. Putresin hormonunda ise tüm konsantrasyonlardan elde edilen indigo miktarları hem kontrol gruplarından hem de diğer poliaminlerden yüksek çıkmıştır. En yüksek değer 5.03 mg/g ile putresine ait 0.1 mM konsantrasyonda görülmektedir. Bu verilerin ışığında poliamin + tuz stresi uygulamalarında indigo miktarını en çok artıran ve etkili olan poliamin putresin en az etkili olan ise spermidin olmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Poliamin + tuz stresi uygulanan bitkilerin indigo miktarına ait grafik (K1: Poliamin uygulanmadan saf su ile sulanmış bitkiler. K2: Poliamin uygulanmadan 200 mM tuzlu su ile sulanmış bitkiler.)

Ali ve ark (2007)'ın *Chamomilla recutita* ve *Origanum majorana* bitkilerine yapraktan spreyleme yöntemiyle 0,1 mM konsantrasyonda putresin, spermidin ve sperminin verilmesi ve strese maruz bırakılması ile ilgili olarak yaptıkları çalışmalarında, tuzluluğun genelde her iki bitkideki hem yağ ve flavonoid içeriğini hem de büyümedeki çeşitli değişiklikleri azalttığını, yaprağa uygulanan herhangi bir poliaminin tuzluluğun etkilerini dengelediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada yapılan poliamin+tuz uygulamasında genel olarak putresinden en etkili sonuçlar elde edilmiştir Ali ve ark. (2007) da *Chamomilla recutita* ve *Origanum majorana* bitkisine yaptıkları uygulamalar ile aynı sonuca ulaşmışlardır. Çalışmalarında dışarıdan uygulanan putresinin tuzun zararlı etkisini azalttığı sonucuna ulaşmışlardır ki bizim bulduğumuz sonuçlar da aynı doğrultudadır.

Bozcuk ve Tekin (1996), kontrollü koşullarda, ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. var. *santafe*) tohumlarının çimlenmesi ve bazı büyüme parametreleri üzerine tuz (NaCl) ve putresinin ayrı ayrı ve birlikte etkilerini inceledikleri çalışmalarında tuzun tohum çimlenmesi ve büyüme parametreleri üzerine olumsuz etkilerini tespit etmişlerdir. Tek başına tuzun, konsantrasyona bağlı olarak tohumların çimlenmesini engellediğini ya da geciktirdiğini tespit etmişlerdir. Fakat putresin+tuz uygulamalarında putresinin çimlenme ve büyüme parametreleri üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı tuz stresine toleransı artırdığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda putresin+tuz stresi uygulamasında ulaştığımız

indigo değerindeki kontrole oranla artış Bozcuk ve Tekin (1996) ile benzerlik göstermektedir.

Mutlu ve Bozcuk (2000), esitli konsantrasyonlarda NaCl içeren ortamlarda ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. *santafe*) tohumlarının çimlenmesi ve bazı erken büyüme parametreleri üzerine farklı konsantrasyonlardaki sperminin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 200 mM NaCl ile birlikte 0.01 ve/veya 1mM Spm uygulamasında Sperminin tuzun çimlenme üzerindeki engelleyici etkisini tamamen ortadan kaldırdığını ve bu iki kombinasyondaki çimlenme oranının kontrole göre arttığını belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada en etkili değerlerden birinin 0,1 mM sperminin + 200 mM tuz stresi uygulaması olduğunu gözlemlemişlerdir. Bulduğumuz sonuçlar göz önüne alındığında spermin hormonunun tüm konsantrasyonları kontrol grubundan yüksek çıkmıştır ki, bu da Bozcuk ve Mutlu (2000)'in sonuçlarıyla uyum içindedir.

Mutlu ve Bozcuk, (2013) başka bir çalışmalarında kontrollü iklim koşullarında büyütülen ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. *santafe*) bitkilerinin büyüme döneminde uygulanan dışsal poliaminlerin yaprak çiftleri ve total yaprak yüzey alanı üzerine etkilerini çalışmışlardır. Total yaprak alanı ve yaprak çifti alanlarının artan tuz derişimine bağlı olarak azaldığını belirtmişlerdir. Bitkilere püskürtülen spermin, spermidin ve putresin kültür ortamına eklenen tuz ve poliamin düzeyine bağlı olmak üzere sadece belirli ve sınırlı koşullarda olumlu etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Tuzun yaprak alanı üzerinde yapmış olduğu engelleyici etkiyi kaldırabilmek açısından en etkili poliamin olarak putresini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre tuz+poliamin uygulamasında *I. tinctoria* bitkisinin yapraklarındaki indigo miktarı bakımından en yüksek değer putresin hormonundan elde edilmiştir. Bu çalışmada yapılan poliamin+tuz stresi uygulamalarında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en etkili poliamin olarak putresin bulunmuştur ve bu sonuçlarında Bozcuk ve Mutlu (2013)'n yaprak alanı ile ilgili buldukları sonuç ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.5. Poliamin+Kuraklık Stresi Uygulamaları Sonuçları

4.5.1. Kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, kök oransal su içeriği

4 haftalık poliamin uygulamasından sonra on gün kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerden elde edilen kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriğine ait veriler çizelge 4.13.' da verilmiştir.

Çizelge 4.13. Poliamin + kuraklık stresi uygulamasının *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök oransal su içeriği etkisine ait ortalama değerler ve oluşan gruplar

Poliaminler	Konsantrasyon	Kök Yaş Ağırlığı (g)	Kök Kuru Ağırlığı (g)	Oransal Su İçeriği (%)*
Spermin	0.1 mM	0.22 ± 0.14	0.06 ± 0.04	74.72 ± 3.33 ^a
	1 mM	0.19 ± 0.16	0.05 ± 0.05	73.25 ± 2.22 ^{ab}
	2 mM	0.22± 0.05	0.07 ± 0.02	69.35 ± 2.19 ^{bc}
Spermidin	0.1 mM	0.23 ± 0.03	0.07 ± 0.01	69.66 ± 0.54 ^{abc}
	1 mM	0.11 ± 0.01	0.03 ± 0.00	73.54 ± 0.38 ^{ab}
	2 mM	0.19 ± 0.14	0.06 ± 0.05	69.07 ± 1.90 ^{bc}
Putresin	0.1 mM	0.16 ± 0.02	0.04 ± 0.01	72.84 ± 0.55 ^b
	1 mM	0.14 ± 0.04	0.04 ± 0.01	74.03 ± 1.09 ^{ab}
	2 mM	0.19 ± 0.02	0.05 ± 0.01	74.76 ± 0.64 ^a
Kontrol	0 mM	0.08 ± 0.01	0.02 ± 0.00	65.59 ± 0.86 ^d

*: P<0.01

Çizelge 4.13 incelendiğinde poliamin + kuraklık stresi uygulamalarının *I. tinctoria* bitkilerinde kök kuru ve yaş ağırlığı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Kök yaş ağırlığı verilerinde en yüksek değer 0.23 g en düşük değer ise 0.08 g olarak gözlenmiştir. Kök kuru ağırlığında en yüksek değer 0.07 g ile en düşük değer ise 0.03 g ile elde edilmiştir. Fakat kök yaş ve kuru ağırlıklarında tüm değerler aynı grupta yer almıştır.

Uygulama sonucunda oransal su içeriğinden elde edilen veriler istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur (P<0.01). Oransal su içeriği değerlerinde en yüksek oran % 74.76 putresinden 2 mM konsantrasyonu ile % 74.72 ile sperminden 0.1 mM konsantrasyonundan elde edilirken en düşük oran % 65.59 ile kontrol grubunda bulunmuştur. Tüm poliamin uygulamaları kontrol grubundan yüksek bulunmuş olup yine

en yüksek değerler putresinden elde edilmiştir. Spermin ise spermidine göre biraz daha etkili olmuştur.

4.5.2. Yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak oransal su içeriği

Poliamin uygulanmasından sonra ve on gün boyunca kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin yaprak yaş ağırlıkları, yaprak kuru ağırlıkları ve yaprak oransal su içeriğine ait değerler Çizelge 4.14.'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Poliamin + kuraklık stresi uygulanan *I. tinctoria* bitkisinin yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve yaprak oransal su içeriği etkisine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Poliaminler	Konsantrasyon	Yaprak Yaş Ağırlığı (g)*	Yaprak Kuru Ağırlığı (g)	Oransal Su İçeriği (%)**
Spermin	0.1 mM	2.86 ± 1.06 ^a	0.36 ± 0.18	87.94 ± 1.70 ^{ab}
	1 mM	1.48 ± 0.50 ^{ab}	0.20 ± 0.10	87.23 ± 2.51 ^{ab}
	2 mM	2.58 ± 0.18 ^a	0.39 ± 0.05	85.90 ± 1.15 ^b
Spermidin	0.1 mM	2.69 ± 0.41 ^a	0.30 ± 0.04	88.91 ± 0.27 ^{ab}
	1 mM	1.71 ± 0.28 ^{ab}	0.18 ± 0.03	89.36 ± 0.10 ^a
	2 mM	1.44 ± 0.56 ^{ab}	0.19 ± 0.10	87.67 ± 2.21 ^{ab}
Putresin	0.1 mM	1.67 ± 0.12 ^{ab}	0.20 ± 0.02	88.06 ± 0.42 ^{ab}
	1 mM	1.80 ± 0.65 ^{ab}	0.22 ± 0.07	87.69 ± 0.48 ^{ab}
	2 mM	1.97 ± 0.21 ^{ab}	0.22 ± 0.01	88.59 ± 0.41 ^{ab}
Kontrol	0 mM	0.92 ± 0.23 ^b	0.16 ± 0.04	82.14 ± 0.92 ^c

* : P<0.05; **: P<0.01

Çizelge 4.14. incelendiğinde yaprak yaş ağırlığında tüm poliamin uygulamalarında elde edilen değerler kontrol grubundan yüksek çıkmıştır ve aradaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0.05). Yaprak yaş ağırlığına ait 2.86 g ile spermin hormonunun 0.1 mM konsantrasyonu ve 2.69 g ile spermidinin 0.1 mM konsantrasyonuna ait veriler en yüksek değerler olurken, 0.92 g ile kontrol grubu en düşük değer olmuştur. Poliamin + tuz uygulamasının aksine poliamin + kuraklık uygulamasında putresin değil spermin daha etkili poliamin olmuştur.

Yaprak kuru ağırlığında tüm poliamin konsantrasyonları kontrol grubundan yüksek çıkmış olsa da poliamin+kuraklık stresi uygulaması sonucunda elde edilen değerler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Yaprak kuru

ağırlığında en yüksek değer 0.39 g ile en düşük değer ise 0.16 g dan elde edilmiştir ve diğer tüm değerler bu iki veri arasında yer almaktadır.

Çizelge 4.14.'e göre poliamin+kuraklık stresi uygulamalarının *I. tinctoria* bitkisinin yaprak oransal su içeriği üzerine etkileri istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). En yüksek yaprak oransal su içeriğine ait oran % 89.36 ile spermidinin 1 mM konsantrasyonunda çıkarken en düşük oran ise % 82.14 ile kontrol grubundan ve % 85.90 ile sperminin 2 mM'lık konsantrasyonundan elde edilmiştir. Tüm poliamin uygulamaları sonucunda elde edilen veriler kontrol grubu değerinden yüksektir. Elde edilen verilere göre yaprak oransal su içeriği değerlerinde spermidinin diğer iki poliaminden biraz daha etkili olduğu, sperminin ise biraz daha az artırdığı tespit edilmiştir.

Poliamin+kuraklık stresi uygulaması sonucunda yaprak yaş ağırlığında en etkili sonuç spermin hormonunun 0.1 mM konsantrasyonundan elde edilirken en az etkili olan sonuç kontrol grubundan elde edilmiştir. Yaprak oransal su içeriği için en etkili hormon spermidin ve dozu da 1 mM'lık konsantrasyonundan elde edilmiştir.

4.5.3. Poliamin + Kuraklık stresi uygulamalarının indigo üzerine etkisi

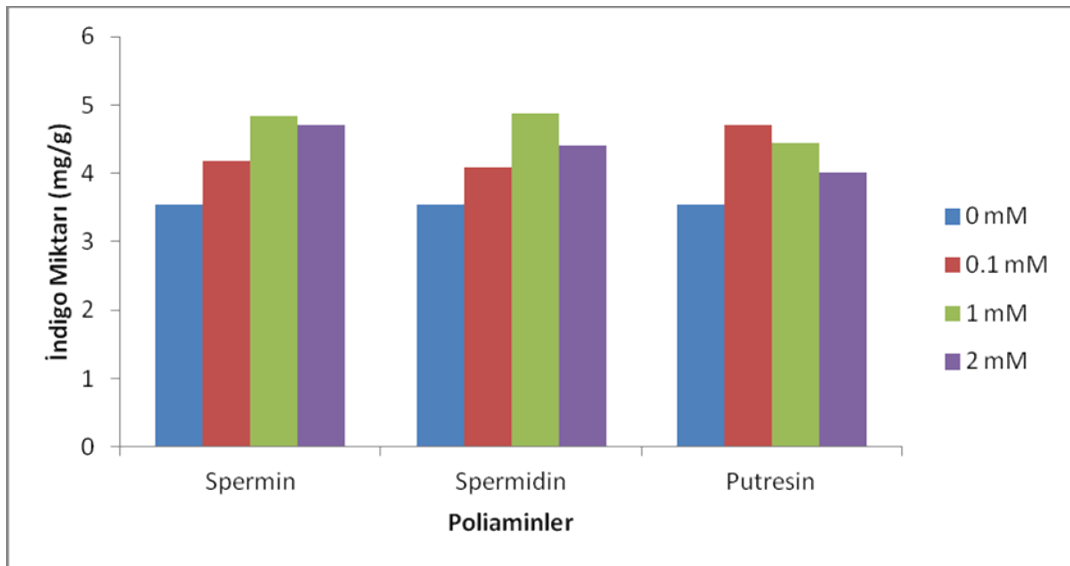
Poliamin + Kuraklık stresi uygulanan bitkilerden elde edilen indigo değerlerine ait veriler Çizelge 4.15'de ve Şekil 4.5.'da verilmiştir.

Uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Poliamin+kuraklık stresi uygulaması sonucunda elde edilen indigo miktarları karşılaştırıldığında 4.87 mg/g ile en yüksek değer spermidinin 1 mM konsantrasyonu ve 4.84 mg/g ile sperminin 1 mM konsantrasyonundan, en düşük değer 3.54 mg/g ile kontrol grubundan elde edilmiştir. Kuraklık stresine karşı indigo miktarının artırılmasında en etkili poliamin spermin olurken, spermidin ve putresin de kontrole göre daha iyi sonuçlar vermiştir. En etkili konsantrasyon spermin ve spermidinde 1 mM, putresinde 0.1 mM'lık uygulama olmuştur (Şekil 4.5).

Çizelge 4.15. Poliamin + kuraklık stresi uygulamasının *I. tinctoria* bitkisinin indigo içeriğine etkisine ait ortalama değerleri ve oluşan gruplar

Poliaminler	Konsantrasyon	İndigo Verimleri (mg/g)**
Spermin	0.1 mM	4.18 ± 0.18 ^b
	1 mM	4.84 ± 0.13 ^a
	2 mM	4.70 ± 0.15 ^a
Spermidin	0.1 mM	4.09 ± 0.16 ^b
	1 mM	4.87 ± 0.17 ^a
	2 mM	4.41 ± 0.23 ^{ab}
Putresin	0.1 mM	4.71 ± 0.21 ^a
	1 mM	4.46 ± 0.12 ^{ab}
	2 mM	4.02 ± 0.16 ^b
Kontrol	0mM	3.54 ± 0.10 ^c

* : P<0.05; **: P<0.01



Şekil 4.5. Poliamin + kuraklık stresi uygulaması sonucunda *I. tinctoria* 'ya ait indigo miktarları

Hassanein ve ark. (2013), buğday bitkilerinin 4 veya 8 saat boyunca yüksek sıcaklık stresine (35°C ± 2) maruz bırakılmadan önce kontrol grubu (su), arginin veya putresin (1.25 ve 2.5 mM) olmak üzere toplam beş gruba spreyleme yöntemi ile muamelede bulunmuşlardır. Uygulamalarının sonunda büyüme parametrelerini dikkate aldıklarında muamelede bulunulmamış bitkilerin gövde yaş ve kuru ağırlıklarında azalma meydana

gelirken, yapraktan uyguladıkları her iki poliaminin hem gövde yaş ve kuru ağırlıklarının hem de gövde oransal su içeriklerinin önemli derecede arttığını belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz kuraklık ve poliamin + kuraklık uygulamaları birlikte değerlendirildiğinde *I. tinctoria* bitkisinde poliamin + kuraklık uygulaması sonuçları yalnız kuraklık stresi uygulaması sonuçlarından daha etkili çıkmıştır. Yapraktan uygulanan poliaminlerin en etkilisi spermin hormonu olsa da diğer poliaminlerin etkisi de göz ardı edilmeyecek kadar önemli bulunmuştur ki Hassanein ve ark. (2013)'nin çalışmaları ile uygunluk göstermektedir.

Ünyayar (2003) *Helianthus annuus L.* bitkilerindeki biyokimyasal ve fizyolojik olaylar üzerine kuraklık ve su basması stresiyle absisik asit (ABA)' in etkisini incelemiş olup kuraklık ile birlikte ABA uygulandığında yapraklardaki oransal su içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu da poliamin + kuraklık stresi uygulamalarımız sonucu elde ettiğimiz oransal su içeriği değerlerinin tüm poliamin uygulamalarının kontrolden yüksek çıkmasını destekler niteliktedir.

Farooq ve ark. (2009), kuraklık stresi bitki-su ilişkileri ve biyolojik membranların yapısını bozarak esas pirinç performansını engellediğini belirtmişlerdir. Çeltiğin kuraklık toleransı geliştirmesinde poliaminlerin (PA) rolünü değerlendirdikleri çalışmalarında, kuraklık stresi durumunda pirinç taze ve kuru ağırlıklarının ciddi bir şekilde azaldığını göstermişlerdir. Pirinç bitkisine yaptıkları kuraklık + poliamin uygulaması sonucunda gövde yaş ağırlığı, oransal su içeriği verilerinde en yüksek değeri spermin hormonundan elde etmişlerdir. Bu çalışmanın poliamin+kuraklık stresi safhasında kök oransal su içeriği, gövde yaş ve kuru ağırlığı, indigo değerleri için en etkili sonuçlar spermin hormonundan elde edilmiştir ve bu durum Farooq ve ark. (2009)'nin sonuçları ile tutarlılık göstermektedir.

4.6. Hayatta Kalma Oranına Ait Sonuçlar

Tüm uygulamalardan 3 gün sonra yapılan değerlendirmede solgunluk göstermeyen (turgor basıncını yeniden kazanan) ve normal gelişimine devam eden bitkilerin oranı belirlenmiştir. Stres, poliamin ve stres + poliamin olmak üzere yapılan beş farklı uygulama ile muamele edilen tüm bitkilerde ölüm oranının % 0 olduğu görülmüştür. Bitkiler her uygulama sonucunda yaşamlarına devam etmişlerdir.

Korkmaz (2008), üç farklı yöntemle ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ALA'nın üşüme stresi altındaki biber fideleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, ALA konsantrasyonunun biber fidelerinde ölüm oranı üzerine etkisi incelediğinde hiç ALA uygulanmamış (0 ppm) kontrol bitkilerinin en yüksek ölüm oranı değerine (%6.93) sahip olduğunu görmüş, buna karşılık ALA uygulamalarının hepsinde benzer fakat kontrol bitkilerine kıyasla daha az ölüm oranı olduğunu tespit etmiştir. ALA uygulanmış bitkiler arasında ise en az ölüm oranının % 0 ile 10 ve 25 ppm ALA ile muamele edilen bitkilerde olduğunu belirtmiştir. Korkmaz (2008) çalışmasında stres + poliamin uygulamalarında etkili yöntemlerden birinin yapraktan uygulama olduğunu belirtmiş ve orta düzeydeki konsantrasyonlarda en az bitki ölüm oranı olan % 0 ile karşılaştığını belirtmiştir.

4.7. Hasar İndeksine Ait Sonuçlar

Poliamin, stres ve poliamin + stres uygulamalarının *I. tinctoria* 'nın hasar indeksi üzerine etkisi incelendiğinde yapılan tüm uygulamalarda muamele edilen bitkilerde sadece stres uygulamalarında küçük nekrotik alan dışında görsel bir zarar belirtisi göstermemişken, stres + poliamin uygulamalarında hemen hemen hiç zarar belirtisine rastlanmamıştır. Uzunlu (2006) aspirinin üşüme, kuraklık ve tuz streslerine maruz bırakılan kavun fidelerinde meydana gelen zararı önleme üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında aspirin uygulanan bitkiler arasında 0.25 mM ile muamele edilen bitkiler yaprak kenarında küçük nekrotik alan dışında görsel bir zarar belirtisi göstermemişken, 0.10 ve 0.50 mM aspirin ile muamele edilen bitkilerde hemen hemen hiç zarar belirtisine rastlanmamıştır. Hasar indeksi skalasına göre Uzunlu (2006)'nın çalışmasında bitki yapraklarında çok fazla hasar görmemiştir. Bu da bizim hasar indeksine ait bulgularımızla örtüşmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde gittikçe artmakta olan alerjik reaksiyonlardan kaynaklanan başta cilt rahatsızlıkları olmak üzere sağlık problemlerinin yanı sıra çevre kirliliğine karşı oluşan duyarlılık, insanları doğal olan tüm ürünlere yönlendirmektedir. Organik pamukla dokunmuş ve doğal boya ile boyanmış kumaşlardan yapılmış kıyafetler, özellikle bebekler, çocuklar, yaşlılar ve alerjik bünyeli insanlar için tercih edilmektedir. *Isatis* bitkisi; tıbbi önemi olan, anti kanserojen etkiye sahip indirubin içeren ve Çin’de bitki çayı olarak tüketilen köküyle; boya elde edilen yapraklarıyla; yine anti kanserojen etkiye sahip glukobrassisin glukosinolatı içeren kök ve yapraklarıyla; yağ elde edilen tohumlarıyla baştan sona faydaları olan bir bitkidir (Çömlekçioğlu, 2011). Bu çalışma ile dünyada en çok araştırılan, milattan önceden beri bilinen, bir kültür bitkisi olarak uzun süre yetiştirilen ve tarımı yapılan, mavi boya kaynağı *I. tinctoria* bitkisinin yapraklarındaki indigonun çevresel şartlardan ne düzeyde etkilendiği araştırılmış ve indigonun miktarını arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmıştır. Konuyla ilgili yapılan literatür çalışmasında farklı bitkilerin çevresel stres koşullarına tepkilerinin ve poliaminlerin sekonder madde içeriğine etkilerinin incelendiği görülmüştür. Fakat *I. tinctoria* bitkisinde bu konu ile ilgili çok fazla çalışma yoktur. Bu çalışmada *Isatis* türlerinin stres, poliamin ve poliamin+stres uygulamalarına ilişkin elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. Tuz stresi sonucunda artan tuz dozları kontrol uygulamasına göre incelenen özelliklerin tümünü olumsuz etkilemiştir. En çok 200 mM ’lık tuzlu su ile sulanan bitki köklerinin negatif olarak etkilendiği ve ağırlık kaybı yaşadığı görülmüştür.

2. Kuraklık stresi uygulamalarında strese bırakılan gün sayısı arttıkça indigo değeri ve elde edilen ağırlıklarda da azalma meydana gelmiştir.

3. Poliamin uygulamasında gerek fide ağırlığının gerekse indigo miktarının artış noktasında putresinin olumlu bir etkisinin olduğu görülmüştür.

4. Poliamin + tuz stresi uygulamalarında indigo miktarını en çok artıran ve etkili olan poliamin putresin olmuştur.

5. Kuraklık stresine karşı indigo miktarının artırılmasında en etkili poliamin spermin olurken, spermidin ve putresin de kontrole göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu da poliamin uygulamalarının indigo miktarını arttırmada önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Günümüzde, iklimsel ve çevresel problemlerin ortaya çıkarttığı bakış açısındaki değişim tarımsal politikaları da etkilemektedir. Daha güvenli ürünlerin üretimi ve organik maddelere doğru büyüyen eğilim bitkisel materyallerin geniş çaplı üretimlerine olan ilgiyi arttırmış ve bilimsel araştırmalara konu olmaya başlamıştır. Son yıllarda su kirliliği, ham materyal ve ürünlerin sürdürülebilirliği, biyolojik parçalanabilirlik ve çevresel duyarlılık gibi konulara artan ilgiden dolayı, doğal boyaların tekstil boyamalara tekrar girişi çok dikkat çekmektedir ve boya bitkileri hak ettiği ilgiyi görmeye başlamıştır (Çömlekçioğlu, 2011). Sentetiklerle yarışabilmesi için, *I. tinctoria* bitkisinin indigo verimini ve kalitesini arttırmak çok önemlidir. Giderek kuraklaşan dünyamızda toprağın tuzluluk durumunun artması ve su stresinin olması, karşılaşılmaması en muhtemel çevresel stres faktörlerindedir. Bu çalışma bitkimizin kuraklığa ve tuzluluğa tolerans derecesi ve adaptasyon kabiliyetinin araştırılması bakımından önem arz etmektedir. Doğal boyaların tekstil sektörüne tekrar girişi ve pazardan pay elde etmesi, tarımsal faaliyetlerinin yanı sıra yöresel el sanatlarının özellikle de halı ve kilim piyasasının yeniden canlanmasına vesile olacaktır.

KAYNAKLAR

- Akan, M., 2007. Uygun Renk, Işık Ve Sürtünme Haslığı Değerlerine Sahip Bitkisel Boyalarla Boyanmış İlmelik Yün Halı İpliklerinde En Az Kopma Mukavemeti Kaybına Yönelik Boyama Yönteminin Geliştirilmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 165 s.
- Akar, D., 2006. Doğu Akdeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı *Isatis* (Çivit Otu) Türlerinin Boyama Özelliklerinin ve Boyarmadde İçeriklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 63s.
- Aksoy, E., 2008. Effect of Drought and Salt Stresses on The Gene Expression Levels of Antioxidant Enzymes in Lentil (*Lens Culinaris* M.) Seedlings. Yüksek Lisans. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 207s.
- Akyürek, C., 2012. Kaybolmakta Olan Değerlerimizden Doğal Boyamacılık Sanatı. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Sosyal ve Ekonomik Araştırmalar Dergisi* 14 (23): 89-90.
- Ali, R.M., Abbas H.M., Kamal R.K., 2007. The Effects of Treatment with Polyamines on Dry Matter, Oil and Flavonoid Contents in Salinity Stressed Chamomile and Sweet Marjoram. *Plant Soil Environment*, 53 (12): 529–543.
- URL1 <https://tr.wikipedia.org/wiki/Giberellin>
- URL2 <http://ebkae.freeservers.com/bgd.htm>
- Angelini, L. G., Campeol, E., Tozzi, S., Gilbert, K. G., Cooke, D. T., & John, P. (2003). A New HPLC-ELSD Method To Quantify Indican in *Polygonum tinctorium* L. and To Evaluate β -Glucosidase Hydrolysis of Indican for Indigo Production. *Biotechnology Progress*, 19 (6), 1792-1797.
- Ayyıldız, L., 2011. Mevsimlik Çiçeklerde Tuzun Bitki Gelişimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü. Van. 53s.

- Bakır M., 2012. Asma Çeşit Ve Anaçlarında Kuraklık Ve Tuz Stresi Toleransına Yönelik Mikrodizin Analizleri ve Stres İle İlgili Transkriptomların Tespiti. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. Ankara. 168 s.
- Battal, P., Erman, M., Çelik, İ., Berber, İ., Türker, M., Erez, M. E., Oğuz, F., 2007. Kuraklık Stresi Altında Yetiştirilen Bazı Mercimek (*Lens Culinaris* Medik.) Çeşitlerinde Moleküler Ve Fizyolojik Değişikliklerin Araştırılması, Van. Proje No: TBAG- 2294 (103T070). 93s.
- Batur G., 2011. Geleneksele Dayalı Çağdaş İndigo Boyalı Tekstiller ve Uygulamaları. Sanatta Yeterlik Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Güzel Sanatlar Enstitüsü. İzmir. 159 s.
- Barut, E., 1995. Gelecekte Bahçe Bitkilerinde Büyüme Düzenleyici Maddelerin Kullanımı. *Derim*, 12 (3): 141-144.
- Bek, Y. ve Efe, E. 1995. Araştırma Metodları. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Yayın No: 71, Adana.
- Benli, M., Kalender, H., 2008. Doğal Boyalar İle Sentetik Boyaların Karşılaştırılması, TÜBİTAK Eğitimde Bilim Danışmanlığı Projesi.
- Bener, M., 2009. Bitki Özütleri ve Tekstil Boyalarındaki Flavonoidler için Spektrofotometrik Analiz Yöntemlerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programı. İstanbul. 86s.
- Binici, A. S., 2005, Tuzlu Koşullarda Yetişen Buğday Bitkisinin Fizyolojik Ve Bazı Besin Elementlerinin Alımı Üzerine Gibberellik Ve Absisik Asitlerin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa. 46s.
- Birinci S., 2008. Doğu Karadeniz Bölgesinde Doğal Olarak Bulunan Faydalı Bitkiler Ve Kullanım Alanlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 187s.
- Bozcuk, S., Tekin, F., 1996. *Helianthus Annuus* L. Tohumlarının Çimlenmesi Ve Fide Gelişimi Üzerine Tuz Ve Ekzojen Polliaminlerin Etkisi, Ankara. Kasım sayısı. Proje No: TBAG-1265. 102s.

- Bülbül S., 2013. Tuz Stresindeki *Populus tremula* L. (Titrek Kavak) x *Populus alba* L. (Akkavak) 717-1b4'de Proteomik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 90s.
- Campeol E., Angelini L. G., Tozzi S., Bertolacci M., 2006. Seasonal variation of indigo precursors in *Isatis tinctoria* L. and *Polygonum tinctorium* Ait. as affected by water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 58: 223–233.
- Çavuşoğlu, K., 2006, Geleneksel Hormonlarla Son Yıllarda Bulunan Bazı Hormonların Ve Büyüme Düzenleyicilerinin Yüksek Sıcaklık Ve Tuz (NaCl) Stresleri Altındaki Arpa Ve Turp Tohumlarının Çimlanması Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta. 161s.
- Çetinkaya, M. A., Baydan, E., 2006, Bitki Gelişim Düzenleyicilerin Zehirliliğine Genel Bir Bakış, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 77 (4): 26-31.
- Çınar, A., Çakmak, İ., Derici, M.R., Önelge, N., Güllü M., Eker, S., 2002. Yapraktan Azot Uygulamasının Çukurova Bölgesinde Limon Ve Mandarında Düşük Sıcaklık Stresine Etkisinin Antioksidatif Savunma Mekanizmaları Açısından Araştırılması, Adana. Proje No: TARP- 2180. 110s.
- Çingil, Ç., 2005. *Glycine max* L.'da Görülen Sırasal Yaprak Senesensine Brassinosteroidlerin Etkisi. İstanbul Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 65s.
- Çömlekcioglu, N., 2011. Kahramanmaraş'ta Yayılış Gösteren Bazı *Isatis* spp.(Çivitotu) Türlerinde Farklı Ekim Zamanlarının Verim Unsurlarına Etkisi ile Boyama Özelliklerinin ve Boyarmadde Miktarının Saptanması. Doktora Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 164s.
- Çulha, Ş., ve Çakırlar H., 2011. Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences*, (11): 11-34.
- Davis, P.H., 1965. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburg at the University Press, I: 287-366.

- Demir M., Çelik S., Noyan Ö. F., 2010. Türkiye'de Yetişen Bazı Önemli Boya Bitkilerinin Üretim Teknikleri ve Elde Edilen Renklerin Haslık Dereceleri, III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, (III): 1187-1196.
- Deveoğlu, O., Karadağ, R.,2011. Genel Bir Bakış: Doğal Boyarmaddeler. *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 23 (1): 21-32.
- Enez, Nevin, 1987. Doğal Boyamacılık, Marmara Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Yayın No:449, İstanbul.
- Eti, A., 2006. Bazı Çilek Çeşitlerinde Farklı Olgunlaşma Dönemlerindeki Poliamin Miktarlarının Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 112s.
- Etikan, S., 2011. Doğal Boya Geleneğinin Türk Halı Sanatında Yeri ve Önemi Üzerine Bir Değerlendirme. *Türk Sanatları Araştırmaları Dergisi*, 1 (1): 11-16.
- Eyidoğan, F., Yücel, M., Afşar, N., Kayıhan, C., 2007. Soğuk Stresinin Arpada Antioksidant Mekanizma Üzerine Etkisinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi, Ankara. Tubitak Proje No: 105O252. 172s.
- Farooq M., Wahid A., Lee D., 2009. Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 937–945.
- Genç, M., 2014. Başbakanlık Osmanlı Arşiv Belgelerinde Kökboya ve Cehri ile İlgili Bazı Kayıtlar. *Süleyman Demirel Üniversitesi Güzel Sanatlar Fakültesi Hakemli Dergisi* (13): 174-212.
- Geren H., Okkaoğlu H., Avcıoğlu R., 2011. Mikorizanın Farklı Tuz (NaCl) Konsantrasyonlarında Kıbrıs Mürdümüğü (*Lathyrus ochrus*)'nün Verim ve Bazı Fizyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48 (1), 31-37.
- Gilbert, K.G., Maule, H.G., Rudolph, B., Lewis, M., Vandenburg, H., Sales E., Tozzi, S., Cooke, D.T., 2004. Quantitative analysis of indigo and indigo precursors in leaves of *Isatis* spp. and *Polygonum tinctorium*. *Biotechnology Progress*, 20 (4) :1289-1292.

- Gönen B., 2008. Van Kilimlerinde Kullanılan İpliklerin Bitkisel Boyarmaddelerle Geleneksel Boyama İşlemleri ve Renk Denemeleri. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü. Van. 150 s.
- Gönüz, A., Aksoy, A., Karabacak, E. 2006. Çanakkale ve Çevresinde Doğal Yayılış Gösteren Bazı Potansiyel Boya Bitkileri. *Anadolu, a scientific journal of the Aegean Agricultural Research Institute*, 16 (1): 54-71.
- Güler, N. S., 2008 *Ctenanthe Setosa*'da Yaprak Kıvrılması Sırasında Apoplastik ve Simplastik Alanlarda Antioksidan Sistemde Meydana Gelen Değişimler. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Trabzon. 118s.
- Güleryüz, M., 1982. Bahçe Ziraatında Büyütücü ve Engelleyici Maddelerin Kullanılması ve Önemi. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum. No: 279.
- Güneş, A., Alparslan, M., İnal, A., Adak, S., Bağcı, G., 2009. Türkiye de yetistirilen bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinde kuraklığa bağlı oksidatif stres ve fizyolojik ve biyokimyasal tolerans mekanizmalarının belirlenmesi. Ankara. Proje No:104O477. 140s.
- Güneş M., Aktaş M., 2008. Su Stresinde Yetiştirilen Genç Mısır Bitkisinde Potasyum Uygulamasının Gelişme ve Verim Üzerine Etkisi. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12 (2): 33-36.
- Hao, S., Wu, J., Huang, Y., Lin, J., 2006. Natural Dyes as Photosensitizers for Dye-sensitized. *Solar Cell Solar Energy*, 80: 209–214.
- Hassanein R. A., El-khawas S. A., İbrahim S. K., El-bassiouny H. M., Mostafa H. A. and Abd el-monem A. A. , 2013. Improving the thermo tolerance of wheat plant by foliar application of arginine or putrescine. *International Journal of Molecular Sciences*, 45 (1): 111-118.
- Hediye, A.S.E., 2009. Tuz Stresinin Farklı Tuz Toleransına Sahip İki *Plantago* Türünün Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir. 115s.

- Kandemir, D., 2005, Sera Şartlarında Sıcaklık ve Işığın Biberde (*Capsicum annuum* L.) Büyüme, Gelişme Ve Verim Üzerine Kantitatif Etkileri. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. 150s.
- Karadağ, R., 2007, Doğal Boyamacılık, Geleneksel El Sanatları Ve Mağazalar İşletme Müdürlüğü, Ankara.
- Karakuş, C., Köker, R., 2007, Tarımda Bitki Gelişim Düzenleyicilerden (BGD) Kullanımı ve Hormon Riski, Fatih Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü.
- Kaynar H., Tonus E., 2014. Sivas'ta Yetişen *Salviasp.* (Adaçayı) Bitkisinden Elde Edilen Renkler ve Haslık Değerleri. *Electronic Journal of Vocational Colleges* (5): 123-135.
- Kılınç, M., Erayman, M., Şener, O., Uygur, V., Soylu, S., İrvem, A., Ünlü, A. İ., 2007. Bazı Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Su Baskımına Tolerans Derecelerinin Belirlenmesi ve Su Baskını Stresine Dayanıklılık Mekanizmalarının Belirlenmesi, Hatay. Proje No: TOVAG-3255. 80s.
- Kırıncı, S., 1998. Doğal kaynaklardan elde edilen boyarmaddeler. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9-11 s.
- Kırıncı, S., Özgüven, M., Türkmen, N., İnan, M., Kırpık, M., Oğuz, A., 2002. Adana ve Çevresinde Boya Olarak Kullanılan Bitkilerin Belirlenmesi Ve Boyar Madde Oranlarının Saptanması. Adana. TUBİTAK: TOGTAG/TARP-2353.
- Kızıllı, S., 2000. Bazı Çivit Otu (*Isatis tinctoria* L. ve *Isatis constricta* Davis) Türlerinde Uygun Ekim Sıklığı ve Boyama Özelliklerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniv. Tarla Bit. Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Ankara.
- Kireççi O. A., 2006. Bazı Sentetik Hormonların (Giberillik Asit, Spermin, Spermidin, Putresin) Fesleğen (*Ocimum Basilicum*) Bitkisinde Morfolojik Yapı Ve Uçucu Yağ Kalitesine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 68 s.
- Korkmaz, A., 2008. Biberde Çimlenme ve Fide Gelişimi Sırasında Üşüme Stresine Karşı Toleransın 5-Aminolevulinik Asit (ALA) Uygulamaları İle Arttırılması, Ekim, Kahramanmaraş. Tubitak: 107 O 611. 39s.

- Korkmaz, A., Korkmaz, Y., Demirkan A., 2010. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 495–501.
- Kreczmer, B., Filek, M., Otto I., Chwistek-Rog, L., Biesaga-Koscielniak, J., B., 2013. Arguments in Favour of the Involment of Polyamines in Flowering Induction of Winter Rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) During Vernazilation and Grafting. *Acta Scientiarum Polonorum. Agricultura*, 12 (4): 73-83.
- Kumlay, A. M., Eryiğit, T., 2011. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Dergisi*, 1 (2): 47-56.
- Kutlu İ., 2010. Tahıllarda Kuraklık Stresi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3 (1): 35-41.
- Lauchi A., Epstein E. 1984. Mechanisms of salts tolerance for plants. *California Agriculture*, 38 (10): 18-20.
- Mirjalili M., Nazarpour K., Karimi L., 2011. Eco-friendly dyeing of wool using natural dye from weld as co-partner with synthetic dye. *Journal of Cleaner Production*, 19: 1045-1051.
- Morsümbül, T., Solmaz, S. K. A., Üstün, G. E., Yonar, T., 2010, Bitki Gelişim Düzenleyici (BGD)'lerin Çevresel Etkileri ve Çözüm Önerileri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 15: 1-11.
- Mozzeni , H., Zarrea, S., Al-Shehbaz İ.A., Mummenhoff, K., 2007. Seed-coat microsculpturing and its systematic application in *Isatis* (Brassicaceae) and allied genera in İran . *Flora*, 202: 447-454.
- Mutlu F., Bozcuk S., 2000. Tuzlu Koşullarda Ayçiçeği Tohumlarının Çimlenmesi ve Erken Büyüme Üzerine Dışsal Spermin'in Etkileri. *Turkish Journal of Biology*, 24: 635–643.
- Mutlu F., Bozcuk S., 2013. Tuzluluk Stresi Altında Büyütülen Ayçiçeği Bitkilerine Dışsal Uygulanan Poliaminlerin Yaprak Alanına Etkisi. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 41 (4): 331–339.

- Öktem, H. A., Yücel, M., Eyidoğan, F. İ., Selçuk, F., Tansı, M. S., 2005. Patatesde Tuz Kuraklık Stresine Toleranslı Transgenik Bitkilerin Yetiştirilmesi, Ankara. Tübitak Proje No: TOGTAG-3191. 49s.
- Özer H., Karadoğan T., Oral E., 1997. Bitkilerde Su Stresi ve Dayanıklılık Mekanizması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (3), 488-495.
- Özel, Ç., A., 2007. Onkogenik *Agrobacterium tumefaciens* A281 Hattı ile Çivit Otu (*Isatis constricta* Davis) Bitkisinde Tümör Oluşumu. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 13 (4) 391-394.
- Pang Q., Guo J., Chen S., Chen Y., Zhang L., Fei M., Jin S., Li M., Wang Y., Yan X., 2012. Effect of salt treatment on the glucosinolate myrosinase system in *Thellungiella salsuginea*. *Plant Soil*, 355: 363–374.
- Pastori, G.M. ve Trippi, V.S., 1992. Oxidative Stress Induces High Rate of Glutathione Reductase Synthesis in A Drought Resistant Maize Strain. *Plant and Cell Physiology*, 33: 957-961.
- Qados, A.M.S. A., 2011. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10: 7–15.
- Safi, S., Şimşek, H., Ünlükara, A., 2013. Su ve Tuzluluk Stresinin Mürdümük'te (*Lathyrus sativus* L.) Bitki Büyüme, Gelişme, Verim ve Su Tüketimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 30 (1), 1-12.
- Saleethong P., Sanitchon J., Kanlaya Kong-ngern and Theerakulpisut P., 2013. Effects of exogenous spermidine (Spd) on yield, yield-related parameters and mineral composition of rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) grains under salt stress. *Australian Journal Crop Science*, 7 (9): 1293-1301.
- Sales, E., Kanhonou, R., Baixauli, C., Giner, A., Cooke, D., Gilbert, K., Arrilaga, I., Segura, J., Ros, R., 2006. Sowing date, transplanting, plant density and nitrogen fertilization affect indigo production from *Isatis* species in a Mediterranean region of Spain. *Industrial Crops and Products*, 23: 29-39.

- Sgherri, C.L.M., Maffei, M. ve Navari-Izzo, F., 2000. Antioxidative Enzymes in Wheat Subjected to Increasing Water Deficit and Rewatering, *Journal of Plant Physiology*, 157: 273-279.
- Söylemezoğlu, G., Güneş A., Çelik, H., İnal, A., Yaşa, Z., Bağcı,E., Çakır, A., 2010. Amerikan Asma Anaçlarında Bor ve Tuz Stresine Tolerans Mekanizmalarının Stres İle İlgili Fizyolojik Parametreler Ve Antioksidan Enzimler İle Belirlenmesi, Ankara. Proje No:106 0 061. 191s.
- Stoker, K.G., Cooke D.T., Hill, D.J., 1998a. Influence of light on natural indigo production from woad (*Isatis tinctoria*). *Plant Growth Regulation*, 25: 181-185.
- Surgun, Y., Yılmaz, E., Çöl, B., Bürün, B., 2012, Altıncı Grup Bitki Hormonu: Brassinosteroidler. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (1): 27 – 46.
- Şanlı, H. S., Arlı, M., 2007. Bazı Boya Bitkileriyle İpekli Tekstil Ürünlerinden Boyanması ve Elde Edilen Renklerin Belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21: 55-78.
- Taiz L., Zeiger E., 2008. Bitki Fizyolojisi. Palme Yayınları: 455. ISBN: 978-9944-341-61-5, Ankara, 690s.
- Tansı, S., Karaman, Ş., 2005. Çukurova Bölgesinde Doğal Olarak Bulunan Çivitotu (*Isatis Türlerinin Kültüre Alınma Olanakları İle Boyarmaddelerin İncelenmesi*. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Proje sonuç raporu. 15s.
- Tekin F., Bozcuk S., 1996. Helianthus Annuus L. Var. Santafe (Ayçiçeği) Tohumlarının Çimlenmesi ve Erken Büyüme Üzerine Tuz Ve Dışsal Putresinin Etkileri. *Turkish Journal of Biology*, 22: 331-340.
- Tutak, M., Benli, H., 2008. Bazı bitkilerden elde edilen doğal boyar maddelerin yünü boyama özelliğinin incelenmesi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10 (2): 53-59.
- Uzunlu, M., 2006. Aspirinin Kavun Fidelerinin Değişik Abiyotik Stres Koşullarına Karşı Toleranslarının Artırılması Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 39 s.

- Ünyayar, S., Keleş, Y., Ünal, E., 2003. Çeşitli Stres Koşullarında Yaprak Büyümesi ile Absisik Asit (ABA) ve Biyokimyasal Değişimler Arasındaki İlişki. Mersin. TUBİTAK: TBAG-2077 (101T088). 25 s.
- Verzera A., Conduro C., Dima G., Ziino M., Ragusa S., 2010. Volatile Constituents in Dried Roots of *Isatis tinctoria* L. (Brassicaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 22 (6) : 483-485.
- Yazar, A., Gençel, B., Ülger, A. C., Sezen, M. S., Bozkurt, Y., 2007. Bitki Su Stresi İndeksini Kullanarak Uygulanacak Sulama Suyu Miktarının Kestirimi, Adana. PROJE NO: TOGTAG-3305. 52s.
- Zhang X., Zangb R., Li C., 2004. Population Differences In Physiological And Morphological Adaptations of *Populus Davidiana* Seedlings in Response to Progressive Drought Stress. *Plant Science*, 166: 791–797.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Semra ARIKAN
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 20.09.1984 Kahramanmaraş
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (344) 231 70 57
e-posta : semraarikan_84@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	KSÜ /Biyoloji ABD	2015
Lisans	Selçuk Üniversitesi/ Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü	2006
Lise	Çukurova Elektrik Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2008-Halen	Milli Eğitim Bakanlığı	Fen Bilgisi Öğretmeni

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Doğa bilimleri, Kitap okumak, Yüzme