

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TUZ STRESİ ALTINDA ÇİMLENDİRİLEN ARPA
TOHUMLARINDA HUMİK ASİTİN SİTOGENETİK ETKİSİ**

Merve DÜNDAR YURTLU

**Danışman
Doç. Dr. Selma TABUR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2016**



© 2016 [Merve DÜNDAR YURTLU]

TEZ ONAYI

Merve DÜNDAR YURTLU tarafından hazırlanan " **Tuz Stresi Altında Çimlendirilen Arpa Tohumlarında Humik Asitin Sitogenetik Etkisi** " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman **Doç. Dr. Selma TABUR**

 Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Doç. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU**

 Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Yrd. Doç. Dr. Sığnem ÖNEY BİROL**

 Hitit Üniversitesi

Enstitü Müdürü **Doç. Dr. Yasin TUNCER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Merve DÜNDAR YURTLU

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|--------------|
| İÇİNDEKİLER | i |
| ÖZET..... | ii |
| ABSTRACT..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | v |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | vi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | vii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 4 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 11 |
| 3.1. Deneylerde Kullanılan Tohum | 11 |
| 3.2. Çözeltilerin Hazırlanması | 11 |
| 3.3. İlk İşlem Çözeltilisinin Hazırlanması | 11 |
| 3.4. Tespit Çözeltilisinin Hazırlanması | 11 |
| 3.5. Boyanın Hazırlanması | 12 |
| 3.6. Tohumların Çimlendirilmesi | 12 |
| 3.7. Kök Uçlarının Elde Edilmesi | 12 |
| 3.8. Boyamanın Yapılması | 13 |
| 3.9. Preparatların Hazırlanması | 13 |
| 3.10. Devamlı Preparatların Hazırlanması | 13 |
| 3.11. Veri Analizlerinin ve İstatistiksel Değerlendirmelerin Yapılması..... | 14 |
| 3.11.1. Mitotik indeksin belirlenmesi | 14 |
| 3.11.2. Mitoz anormalliklerinin belirlenmesi | 15 |
| 3.11.3. İstatistiksel değerlendirme | 15 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI | 16 |
| 4.1. Saf Su Ortamında Humik Asit Ön Uygulamasının Mitotik İndeks ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri | 16 |
| 4.2. Çeşitli Tuz Konsantrasyonlarında Humik Asit Ön Uygulamasının Mitotik İndeks ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri..... | 18 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR | 23 |
| KAYNAKLAR | 30 |
| ÖZGEÇMİŞ | 40 |

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TUZ STRESİ ALTINDA ÇİMLENDİRİLEN ARPA TOHUMLARINDA HUMİK ASİTİN SİTOGENETİK ETKİSİ

Merve DÜNDAR YURTLU

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Selma TABUR

Bu çalışmada, farklı tuz konsantrasyonlarında (0.25, 0.30, 0.35 M) çimlendirilen arpa (*Hordeum vulgare* L. cv. 'Bülbül 89') tohumlarının kök ucu meristem hücrelerindeki mitotik aktivite ve kromozom davranışları üzerine humik asit ön uygulamasının etkisi çalışılmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mitotik aktivite tuz konsantrasyonunun artışına paralel olarak kısmen azalmıştır. Aynı zamanda bu tuz konsantrasyonları arpa kök uçlarında kromozomal anormalliklerin önemli bir derecede artmasına sebep olmuştur. Ayrıca tek başına humik asit ön uygulamalı tohumların mitotik indeksi kontrol (saf su) ile karşılaştırıldığında % 70 oranında bir artış gösterdiği ve mitotik anormalliklerin frekansını ise % 42 oranında arttırdığı belirlenmiştir.

Humik asit ile muamele edildikten sonra farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen tohumların mitotik indeksinin tek başına tuzlu ortamda çimlendirilen tohumların mitotik indeksinden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Diğer bir ifadeyle tuzlulukla birlikte humik asit ön uygulaması tuz konsantrasyonu artışına paralel olarak mitotik indeksi engellemiştir. Bununla birlikte humik asit ön uygulamasından sonra farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen tohumların mitotik indeksi kendi kontrol grubuyla (tek başına humik asit ile) karşılaştırıldığında çalışılan tüm konsantrasyonlarda önemli derecede azalmıştır. Ayrıca tuzlu ortamda çimlendirilen humik asit ön uygulamalı tohumların kök ucu hücrelerindeki kromozomal anormalliklerin frekansı kendi kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır. 28 mg/L humik asit ön uygulaması çalışılan tüm tuz konsantrasyonlarında tuzluluğun negatif etkisini hafifletmekte başarılı bir performans göstermiştir. En yüksek tuz konsantrasyonunda (0,35 M) humik asit uygulaması ise saf su ortamında çimlendirilen tohumlarla aynı anormallik yüzdesine ulaşarak mükemmel bir başarı göstermiştir. Farklı tuz konsantrasyonları ve/veya humik asit ön uygulaması mikronükleus ve granülasyonun yanı sıra çeşitli profaz, metafaz, anafaz ve telofaz anormallikleri gibi önemli kromozomal sapmalar meydana getirmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arpa, humik asit, kromozom anormallikleri, mitotik indeks, tuz stresi

2016, 40 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

CYTOGENETIC EFFECT OF HUMIC ACID ON BARLEY SEEDS GERMINATED UNDER SALT STRESS

Merve DÜNDAR YURTLU

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Biology**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Selma TABUR

In this study, the effect of humic acid pretreatment on mitotic activity and chromosome behaviors in meristematic root cells of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. 'Bülbül 89') seeds germinated under different salt concentrations (0.25, 0.30 and 0.35 M) were investigated. Mitotic activity partly decreased in parallel to salt concentrations increasing as compared to control group. At the same time, these salt concentrations caused a significant increase of chromosomal abnormalities in root tips of barley. Moreover, as compared to control (in distilled water), it was determined that the mitotic index of barley seeds with alone humic acid pretreatment decreased 70 % and the frequency of mitotic aberrations increased 42 %.

It was observed that the mitotic index of seeds germinated in different salt concentrations after treatment with humic acid was lower than the mitotic index of seeds germinated in saline media alone. In other words, humic acid pretreatment along with salinity prevented mitotic index in parallel to salt concentration rise. However, the mitotic index of seeds germinated in different salt concentrations after humic acid pretreatment decreased considerably in the all concentrations studied as compared with its control group (by alone humic acid). Moreover, the frequency of chromosomal aberrations in root tip cells of seeds with humic acid pretreatment germinated in saline medium significantly decreased according to its control group. 28 mg/L humic acid pretreatment revealed to a successful performance in ameliorating of the negative effect of salinity in the all concentrations studied. Humic acid pretreatment in the highest salt concentration (0.35 M) showed perfectly a successful reaching to the same abnormality percentage with the seeds germinated in distilled water medium. Different salt concentrations and/or humic acid pretreatment constituted the major chromosomal aberrations such as micronucleus and granulation and also various prophase, metaphase, anaphase and telophase aberrations.

Keywords: Barley, humic acid, chromosome aberrations, mitotic index, salt stres.

2016, 40 pages

TEŞEKKÜR

Bu çalışma konusunu belirleyen, fikirlerini, her türlü ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli Danışman hocam Doç. Dr. Selma TABUR'a teşekkür ederim.

Araştırmanın tohumlarının sağlandığı Ankara Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Tezin deney aşamasındaki yardımlarından dolayı değerli hocam Doç. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU'na, tezin yazım ve deney aşamalarındaki her türlü desteği sağlayan hocam Yrd. Doç. Dr. Sığnem ÖNEY BİROL'a, tezde bulunan tüm şekillerin dizaynını yapan hocam Dr. Dilek ÇAVUŞOĞLU'na ve gerek istatistiksel değerlendirmeler konusunda gerekse tez aşaması boyunca karşılaştığım tüm zorluklarda maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen arkadaşım doktora öğrencisi Serkan ÖZMEN'e içtenlikle teşekkür ederim.

3275-YL1-12 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme ve değerli eşim Serhat YURTLU'ya sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Merve DÜNDAR YURTLU
ISPARTA, 2016

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 4.1.1. Saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerindeki normal mitoz evreleri. | 17 |
| Şekil 4.2.1. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'ü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerindeki profaz öncesi ve profazda gözlenen kromozom anormallikleri | 21 |
| Şekil 4.2.2. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'ü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerinde gözlenen metafaz anormallikleri | 21 |
| Şekil 4.2.3. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'ü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerinde gözlenen anafaz anormallikleri | 22 |
| Şekil 4.2.4. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'ü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerinde gözlenen telofaz anormallikleri | 22 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | Sayfa |
|---|--------------|
| Çizelge 4.1.1. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'ü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri..... | 17 |
| Çizelge 4.2.1. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'ü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallik yüzdeleri | 19 |



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--|---|
| ClO ₂ | Klorindioksit |
| cm | Santimetre |
| Cu | Bakır |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| Fe | Demir |
| GA ₃ | Giberellin |
| Gr | Gram |
| H ₂ O ₂ | Hidrojen peroksit |
| HCl | Hidroklorik asit |
| K | Potasyum |
| Kad | Kadaverin |
| K ₂ S ₂ O ₃ | Potasyummetabisülfid |
| K ₂ SO ₄ | Potasyum sülfat |
| Kin | Kinetin |
| M | Molar |
| Mg | Magnezyum |
| ml | Mililitre |
| mm | Milimetre |
| N | Normal |
| Na | Sodyum |
| NaCl | Sodyum klorür |
| NaClO | Sodyum hipoklorit |
| P | Fosfor |
| PAA | Parasetik asit (CH ₃ COO ₂ H) |
| ppm | Milyonda bir kısım |
| Put | Putresin |
| Spd | Spermidin |
| Spm | Spemin |
| TRIA | Triakontanol |

1. GİRİŞ

Çevresel stresler bitki büyüme ve gelişmesi üzerine olumsuz etkilere sahiptir (Swiatek vd., 2003). Bu streslerden biri olan tuzluluk, dünyanın birçok alanında artan bir problem olmakla birlikte yaygın çevresel streslerden biridir (Tobe vd., 2003). Dünyada ve ülkemizde tuz etkisinde kalan toprakların miktarı gün geçtikçe artmakta, verim azalmakta ve bazı alanlar da aşırı tuzlanma nedeniyle tamamen üretim dışı kalmaktadır (Francois ve Mass, 1994). Kültür bitkileri açısından çevresel bir stres faktörü olan tuz stresi, kimyasal stres grubuna girmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005).

Kuraklık, tuzluluk, aşırı sıcaklar, kimyasal toksisite ve oksidatif stres gibi abiyotik stresler tarıma ve doğaya yönelik ciddi tehditler oluşturmaktadır. Dünyada her yıl 10 milyon hektar arazinin tuzluluk etkisiyle elden çıkması sorunun boyutunu daha iyi göz önüne sermektedir (Kwiatowski, 1998). Artan tuzlanmanın, ekilebilir arazinin önümüzdeki 25 yıl içinde % 30 ve 2050 yılına kadar % 50 arazi kaybına neden olması beklenmektedir (Wang vd., 2003).

Tuz stresinin, tohum çimlenmesini (Al-Karaki, 2001; Dash ve Panda, 2001), fide büyümesini (Ashraf vd., 2002; Çavuşoğlu ve Kabar, 2008; Çavuşoğlu vd., 2013), enzim aktivitesini (Prakash ve Prathapasanen, 1988), DNA, RNA ve protein sentezini (Anuradha ve Rao, 2001) ve mitoz bölünmeyi (Tabur ve Demir, 2009, 2010 a,b; Cesur ve Tabur, 2011;) engellemek suretiyle bitki büyüme ve gelişmesi üzerinde olumsuz etki yaptığı bilinmektedir. Bununla birlikte tuz stresi bitki türlerinde kendi hassasiyeti ve toleransına göre farklılık gösterebilir (Cony ve Trione, 1998; Ashraf ve Harris, 2004).

Bilindiği gibi tuz, ozmotik etki yolu ile ortam suyunun osmotik basıncını arttırarak veya su potansiyelini düşürerek tohumun su alıp şişmesini ve çimlenme ile ilgili fizyolojik olayların başlamasını engeller (Ali, 2000; Al-Karaki, 2001). Bitkilerde tuzluluğun olumsuz etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Greenway ve Munns, 1980; Munns, 1993; Iqbal ve Ashraf, 2005; Jamil vd., 2007; Duan vd., 2008). Son zamanlarda bitkilerde tuz toleransı mekanizmalarının anlaşılması hakkında yapılan

araştırmalar daha fazla önem kazanmıştır (Dajic, 2006; Munns ve Tester, 2008; Elkahoui vd., 2013; Zhu vd., 2015). Ancak bitki türlerinin fizyolojik ve genetik kompleksliğinden dolayı tuz tolerans mekanizmasının kasamlı bir açıklaması henüz yapılamamıştır (Zhu vd., 2015). Tuzluluğun bitkilerdeki olumsuz etkilerini gidermede izlenecek olan yollardan biri topraklarda biriken tuzun yıkanarak uzaklaştırılmasıdır. Fakat bu yol pahalı olmasından dolayı pratik olmamaktadır. Bu alanların değerlendirilmesinde daha ekonomik olan ikinci yol ise yüksek tuz toleranslı bitki varyetelerinin geliştirilmesidir (Khalid vd., 2001). Bu nedenle bazı araştırmacılar tohum çimlenmesi (Duan vd., 2008), fide büyümesi (Çavuşoğlu vd., 2013, 2015) ve mitotik aktivite (Tabur and Demir 2009, 2010 a, b) üzerine tuzluluğun olumsuz etkilerinin azaltılması veya ortadan kaldırılması için çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerini kullanmışlardır.

Farklı bitki türlerinde tuzlulukla teşvik edilmiş çok sayıda protein belirlenmiştir. Bu proteinleri, sadece tuzluluk koşullarında biriktirilen tuz stresi proteinleri ve diğer abiyotik faktörlerce biriktirilen stresle ilgili proteinler olmak üzere iki gruba ayırmak mümkündür (Ashraf ve Haris, 2004). Arpa, çeltik ve ayçiçeği gibi bitkilerin tuza toleranslı genotiplerinin daha yüksek çözülebilir protein içeriğine sahip oldukları gözlenmiştir (Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Günümüzde yaklaşık olarak 250.000 bitki türünden, 3000 kadarı kullanılmakta olup, bunlardan sadece 150 türün düzenli olarak költürü yapılmaktadır. Buğdaygiller (Gramineae/Poaceae) familyasından olan tahıllar da költüre ilk alınan bitkilerdendir ve yeryüzünde ekilişi ve üretimi en yüksek ürün grubunu oluştururlar. Tahıllar grubunda yer alan buğday (*Triticum*), arpa (*Hordeum*), mısır (*Zea*), çeltik (*Oryza*), darıllar (*Sorghum*, *Panicum*, *Seteria*) ve kuşyeminden (*Phalaris*) ilk dördü ‘Serin İklim Tahılları’; diğerleri ise ‘Sıcak İklim Tahılları’ adı altında toplanmaktadır (Kün, 1996).

Arpa, dünyada üretim miktarı açısından mısır, buğday ve pirinçten sonra en çok üretilen tahıl ürünü olup arpanın % 65’i hayvan yemi olarak, % 33’ü maltlık olarak bira ve viski yapımı ile biyodizel üretiminde, % 2’si de insan besini olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Çok kuru ya da çok sulak olmayan her toprakta yetişebilen arpa, soğuğa ve sıcaklığa karşı oldukça dayanıklı bir bitkidir. Dünya

genelinde üretim miktarı bakımından tahıllar arasında mısır, buğday ve pirinçten sonra 4. sırada yer alan arpa, Türkiye’de ise buğdaydan sonra en çok üretilen tahıldır (Anonim, 2014).

Mitotik indeks yaşayan tüm organizmalar için kabul edilebilir bir sitotoksik ölçüttür (Amer ve Alı, 1974). Sitotoksik seviye mitotik indeks oranındaki azalmayla belirlenebilir. %50’den daha az orandaki azalmalar genelde subletal etkiyi ifade eder. Eğer mitotik indeks oranındaki azalma % 50’nin üzerine çıkarsa test organizması üzerinde öldürücü etkiye sahip olabilir (Amer ve Alı, 1974; Lazareve vd., 2003).

Topraktaki organik maddelerin ana maddesi humustur. Humusun en aktif biyokimyasal maddesi ise humik asittir. Humik maddeler; bitkilerin çimlenmesini, büyümesini uyarıcı olarak bilinirler. Bitki zararlarının içerisinde geçebilir, iz elementlerinin bitki kökleri içinde taşınmasını kolaylaştırır ve bitkilerde büyüme hormonlarına benzeyen davranışlar sergileyebilirler (Chen vd., 2004; Akıncı ve Öngel, 2011). Bitkilerin su stresi ortamlarında yetiştirilebilmesi (Masciandro ve ark. 2002), toprakların tuzluluk seviyelerinin düşürülmesi (Gumuzzio vd., 1985), metallere kilyet bağları oluşturularak ağır metallerin toksik etkisini azaltmada etkileri saptanmıştır (Gerzabek ve Ullah, 1990).

Humik maddeler doğal hallerinde suda eriyebilirler ve biyolojik olarak aktif değillerdir. Ancak bunların Na, K ve N elementleri ile oluşturdukları tuzlar (humatlar) eriyebilir ve biyolojik olarak aktiftirler (Eren vd., 2000). Çözünür humik maddeler (başlıca humik ve fulvik asitler) hayvansal ve bitkisel maddelerin atıklarının ve mikroorganizmalarının biyolojik faaliyetlerinin parçalanması sonucu doğal olarak oluşan organik moleküllerdir (Doullia vd., 2009).

Humik asitin bitki gelişimi ve beslenmesi, ağır metal ve tuzluluk stresi üzerine olumlu etkileri vardır (Tüfenkçi vd., 2006). Birçok araştırmacı humik asitlerin bitki büyümesi ve gelişiminde etkili olduğunu, düşük miktarda uygulandığı zaman bitki gelişimini olumlu yönde etkilediğini; fazla miktarda uygulandığı zaman ise gelişim üzerinde etkisiz veya olumsuz etkilere sahip olduğunu belirtmişlerdir (Chain ve Aviad, 1990; Padem ve Öcal, 1998).

Humik maddelerin, çimlenme sürecinde tohum dokularındaki enzimatik aktiviteleri arttırmak koşuluyla çeşitli türlerin tohumlarında çimlenmeyi teşvik ettiği, çimlenmenin oranını, kök ve sürgün büyümesini arttırdığı bildirilmiştir (Rauthan ve Schnitzer, 1981; Bujalski ve Nienow, 1991).

Bu tez çalışmasında tuz stresi altında çimlendirilen arpa (*Hordeum vulgare* cv. 'Bülbül 89') tohumlarında hücre bölünmesi ve mitotik aktivite üzerine humik asitin etkileri incelenmiştir. Böylece humik asitin tuz stresini ne derece yenebileceğinin, hücrelerin mitoz bölünmeye girmesini teşvik edip etmediğinin ve kromozomların yapısında ve davranışında herhangi bir değişikliğe neden olup olmadığının bir ölçüde açıklığa kavuşturulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Toprak tuzluluğu tarımsal üretimi sınırlayan en önemli çevresel streslerden biridir. Tuzluluk, dünyanın kültüre edilen alanlarının yaklaşık %20'sini ve toplam dünya alanının % 6'dan daha fazla bir bölümünü tehdit etmektedir (FAO 2015). Bu nedenle bitki gelişimi ve verimliliğini arttırmak için tuz stresi ile mücadele etmek en öncelikli konulardan biridir.

Dash ve Panda (2001), *Phaseolus mungo* L. türüne ait tohumların çimlenmesi boyunca tuz stresine bağlı gelişmelerini ve enzim aktivilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar artan tuz miktarına bağlı olarak çimlenme yüzdesi, kuru ağırlık, kök ve gövde uzunluğunda azalma olduğunu; stres uygulandığı süre içerisinde prolin içeriğinde artış görülürken, katalaz (CAT), peroksidaz (POX) ve polifenol oksidaz (PPO) miktarlarında azalma gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Barakat (2003), hücre bölünmesi ve gen ekspresyonu üzerine bazı vitaminler ile tuz stresinin etkisinin incelenmesi adlı çalışmasında, soğan (*Allium cepa*) kök ucu hücrelerinde tuz stresinin hücre bölünmesini inhibe ettiğini belirterek, yapmış olduğu deneyde tuz konsantrasyonunun en yüksek olduğu 250 mM'da mitotik indeksin sıfır olduğunu, 50-150 mM tuz konsantrasyonlarının ise mitotik indeks üzerinde daha az etki gösterdiğini ileri sürmüştür. Tuz stresinin bu olumsuz etkilerine karşı kullanmış olduğu B₆ veya C vitaminleriyle, hücre bölünmesi ve büyümesini artırarak stresin neden olduğu genetik etkinin onarıldığını belirtmiştir.

Yağmur vd. (2006), Tokak 157/37 arpa çeşidinde (*Hordeum vulgare* L.) K₂SO₄ uygulamasının tuzlu ve tuzsuz koşullarda etkilerinin belirlemesini amaçlamıştır. Tuz stresi şartlarında toprak altı ve toprak üstü kuru ağırlıkları, ozmotik potansiyeli, fotosentetik pigment içerikleri ve K⁺/Na⁺ oranında tuzsuz şartlara göre kıyaslandığında azalma belirlemişlerdir. Toprağa uygulanan potasyumun Tokak 157/37 çeşidinin toprak altı ve üstü kuru ağırlıklarını, ozmotik potansiyeli, fotosentetik pigment içeriklerini ve K⁺/Na⁺ oranlarını arttırdığını, potasyum uygulaması bitki gelişimini önemli derecede etkileyerek tuzun negatif etkisini azalttığını belirtmişlerdir.

Çavuşoğlu ve Kabar (2008); tuzlu koşullar altında çimlendirilen arpanın tohum çimlenmesi ve fide büyümesine gibberellik asit, benziladenin, etilen, triakantonol, 23-epibrassinolid ve poliaminlerin (kadaverin, putressin, spermidin, spermin) tek başına ve kombinasyon halindeki etkilerin araştırmışlardır. Yapılan araştırma sonucunda tek başına büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğunun tuz stresinin çimlenme yüzdesi, radikula uzaması ve taze ağırlık üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırmada başarılı olduğunu; koleoptil yüzdesi ve uzamasında ise etkisiz kaldığını belirtmişlerdir.

Tabur ve Demir (2008); tuzlu koşullar altında çimlendirilen arpa (*Hordeum vulgare* L. cv. "Bülbül 89") tohumlarının kök uçlarında mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine TRIA ön uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. Konsantrasyon artışına paralel olarak tuzun, önemli derecede mitotik indeksi azalttığı ve kromozom anormalliklerine sebep olduğunu gözlemlemişlerdir. TRIA ön uygulaması tuz stresinin mitotik indeks üzerindeki engelleyici etkisini hafifletmekte başarılı olmamasına karşın, kromozom anormalliklerini büyük ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Tabur ve Demir (2010a); tuz stresi altında çimlendirilen arpa tohumlarının kök uçlarında bazı büyüme düzenleyicilerinin mitotik indeks ve kromozom anormallikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Saf suda ve 20°C sabit sıcaklıkta çimlendirilen arpa tohumlarına uygulanan gibberellik asit (GA₃), kinetin (KIN), benziladenin ve etilenin (E) mitotik indeksi azalttığını, özellikle KIN ve E'nin aşırı derecede kromozom anormalliğine neden olduğu belirtilmişlerdir. GA₃ ve KIN ön uygulaması, tuz stresinin neden olduğu mitotik indeksteki olumsuz etkiyi iyileştirmede başarılı olurken, büyüme düzenleyicilerinin çoğunluğu da kromozom anormalliklerini ortadan kaldırmıştır.

Cesur ve Tabur (2011) ; tuzlu ortamlarda çimlendirilmiş arpa (*Hordeum vulgare* L. var. Tokak 157/37) tohumlarında mitotik aktivite ve kromozom anormallikleri üzerine H₂O₂ uygulamasının etkilerini analiz etmişlerdir. H₂O₂'in NaCl'ün mitotik aktivite üzerindeki zararlı etkisini azaltmadığını, ayrıca kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek bir kromo-toksik etkiye sebep olduğunu belirtmişlerdir.

Maraklı vd. (2014); farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen arpa tohumlarında tohum çimlenmesi, hücre bölünmesi ve antioksidant enzim sistemleri üzerine homobrassinosteroidlerin potansiyel hafifletici etkisini araştırmışlardır. 150 µM ve 250 µM tuz konsantrasyonlarının arpada kök uzunluğunu, bir tohumdan çıkan kök sayısını ve mitotik aktiviteyi azalttığını ve çeşitli kromozom anormalliklerine sebep olduğunu bildirmişlerdir. İlave olarak bu tuz konsantrasyonlarının protein içeriğini azalttığını ve enzim aktivitesini arttırdığını ileri sürmüşlerdir.

DNA üzerinde yapılan sitofotometrik çalışmalarda bitkilerdeki meristematik hücrelerin interfaz nükleusunda humik maddelerin DNA sentezinin miktarını arttırdığı görülmüştür. Bu olay G₁ fazındaki hücre sayısının azalarak mitotik döngüde G₂ fazı ve S fazındaki hücrelerin artmasıyla sağlanmaktadır (Gorova vd., 2005). Ayrıca humik maddeler, yaygın olarak, özellikle kök yapısını ve büyüme dinamiklerini değiştirerek bir bitki büyüme hızlandırıcısı olarak kabul edilmektedir (Jindo vd., 2012; Canellas ve Olivares, 2014).

Poapst ve Schintzer (1976); humik asitlerin 25 ve 50 ppm arasında değişen konsantrasyonlarda besin çözeltilerine ilave edildiği zaman, kök gelişimi için optimum etkide bulduklarını belirlemişlerdir.

Malik ve Azam (1985); humik asitin buğday bitkisinin gelişimine etkisini araştırmışlardır. 4 farklı humik asit dozu (18, 36, 54, 72 mg/l) uygulamışlar ve 54 mg/l humik asit uygulamasının buğdayın kök uzunluğunu ve gövde kuru ağırlığını artırdığını tespit etmişlerdir.

Vaughan ve Malcolm (1985); Hoagland çözeltilisine humik asit ilavesinin bitki gelişimini % 25 oranında artırdığını belirtmişlerdir.

Gichner vd. (1990) yapmış oldukları çalışmada *Arabidopsis thaliana*'da N-nitröz bileşiklerin mutagenik etkisinin humik asit tarafından azaltıldığını rapor etmişlerdir.

Lulakis ve Petsas (1995); sultani çekirdeksiz üzüm çeşidinin kompostundan elde edilen humik maddelerin domateste tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Humik maddelerin 100-300 ppm dozları, kök ve gövde

gelişimini olumlu yönde etkilerken, 1000-2000 ppm gibi yüksek dozların gelişimi engellediğini; humik maddelerin gövde gelişiminden çok kök gelişimini artırdığını tespit etmişlerdir.

Erdal vd. (2000); toprağa değişik dozlarda uygulanan humik asit ve fosforun kireçli bir topraktaki mısır bitkisi (*Zea mays* L.) gelişimi ile topraktaki fosforun yararlılığı üzerine etkisini araştırmışlardır. Toprağa 4 dozda P (0, 20, 40, 80 mg/kg) ve 3 dozda humik asit (0, 250, 500 mg/kg) uygulanmıştır. Araştırma sonunda humik asit uygulamalarının bitki kuru ağırlığını, bitki P konsantrasyonunu, bitki tarafından alınan P miktar ile toprakta kalan yararlı P konsantrasyonunu artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca humik asitin P ile birlikte uygulanması durumunda tek başına uygulanmasından daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Ferrara vd. (2000) humik asit ve fulvik asidin, mutagenik bir etkiye sahip olan maleik hidralaz ile muamele edilmiş *Vicia faba* kök uçlarındaki antimutagenik ve / veya desmutagenik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak hem humik asit hem de fulvik asidin açık bir şekilde desmutagenik bir aktivasyon gösterdiklerini ancak antimutagenik etki göstermediklerini ileri sürmüşlerdir.

Nardi vd. (2002); bitki gelişimi ve metabolizmasının bazı yönleri üzerine humik maddelerin fizyolojik etkileri hakkında yapmış oldukları çalışmalarında, humik maddelerin hormon benzeri bir aktivite gösterdiklerini ve bitki hücrelerinin büyüme ve gelişmesi üzerinde teşvik edici bir etkiye sahip olduklarını ileri sürmüşlerdir.

Türkmen vd. (2004); humik asit uygulamalarının domates bitkisinde çimlenme üzerine olumlu etki yaptığını belirlemişlerdir.

Gustavino vd. (2005) sodyum hipoklorit (NaClO), klorindioksit (ClO₂) veya parasetik asit (CH₃COO₂H, PAA) ile dezenfekte edilen içme suyuna in vivo olarak maruz bırakılan *Cyprinus carpio* balığının eritrositleri üzerine standart humik asitin potansiyel genotoksik etkisini çalışmışlardır. Humik asitin klorlu bileşiklerin toksik etkisine karşı koruyucu rolü olduğunu rapor etmişlerdir.

Kaya vd. (2005); ekmeklik buğdaya humik asit uygulamasının bitki boyunda azalmaya, başak uzunluğunda artışa, başakta tane sayısında ve tane ağırlığında artışa sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Khaled ve Fawy (2011); çeşitli tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen mısır bitkisinin gelişimi ve bazı mineral besinlerin alınımı üzerine humik maddelerin yapraklardan ve topraktan uygulanmasının etkilerini incelemişlerdir. Humusun topraktan uygulanması N alınımını arttırırken, humik asitin yapraklara uygulanması P, K, Mg, Na, Cu ve Zn alınımını arttırmıştır. Sonuç olarak, tuz stresi altında humik maddelerin hem toprak hem de yapraktan uygulanmalarının ilk dozları besin alınımını önemli ölçüde arttırmıştır.

Aşık vd. (2012); tuzlu ve kireçli toprak koşullarında yapraktan humik asit uygulamasının buğday bitkisi gelişimi ve bazı besin elementlerinin alımı üzerine etkisini araştırmışlardır. Kontrol (H0), % 0,1 (H1) ve % 0,2 (H2) düzeylerinde yapraktan uygulanan humik asit, bitkinin kaldırdığı K, Mg, Fe ve Cu miktarı üzerine istatistiksel olarak önemli düzeyde etki yapmıştır. Hem tuz hem kireç uygulamasında bitkinin kuru ağırlık ve bitki besin maddesi alımı azalmıştır. Ancak humik asit uygulamalarının % 0,1 uygulama düzeyi kontrole göre bitki gelişimi ve bitki besin maddesi alınımını artırdığını belirlemişlerdir.

Feretti vd. (2012) yeraltı ve yüzey içme sularının dezenfektasyonu sırasında kullanılan kimyasalların (ClO₂, NaClO ve PAA) genotoksik etkisi üzerine humik asitin etkisini çeşitli bitki testlerini (*Allium cepa* testi, *Tradescantia* ve *Vicia faba* mikronükleus testi) kullanarak incelemişlerdir. Test edilen dezenfektanların hepsi genellikle içme suyunda mevcut olan miktar kadar organik maddelerin varlığında bile bitki hücrelerinde klastogenik/aneugenik etkiye sebep olmuştur. Araştırmacılar *Allium cepa* testinin dezenfektanlı humik asit ile oluşan mutagenik etkiye daha hassas olduğunu fakat humik asitin tek başına bile mitotik indeksi azalttığını ve genotoksik etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Turan vd. (2012); tuzlu koşullarda yetiştirilen mısır bitkisinin gelişimi ve bazı bitki besin elementlerinin alımı üzerine yapraktan uygulanan humik asidin etkilerini araştırmışlardır. Tuzlu koşullarda yapraktan uygulanan humik asidin bitki kuru

maddesini, bitkinin topraktan kaldırdığı N, P, K, Mg, Cu ve Zn miktarlarını arttırdığını belirlemişlerdir.

El-Bassiouny vd. (2014); humik asit ve nikotinamid ile muamele edilen buğday bitkisinde tüm morfolojik kriterlerin (bitki ağırlığı, yaprak sayısı, taze ve kuru ağırlık), metabolizmanın (fotosentetik pigment, total çözülebilir şeker miktarı, total karbonhidrat, total aminoasit ve prolin), mineral içeriğinin (N, P, K, Ca ve Mg) ve ürünün (tane, saman ve biyolojisi) önemli derecede arttığını rapor etmişlerdir.

Sivananthi ve Paul (2014) çalışmalarında humik asitin düşük konsantrasyonlarda bile mısır (*Zea mays*) köklerinin uzamasına ve yan köklerin sayısındaki artışa neden olduğunu belirterek humik asitin bir bitki büyüme düzenleyicisi olma ihtimalini vurgulamışlardır.

Yukarıda da belirtildiği gibi, humik asitin gerek normal gerekse tuzlu şartlarda tohum çimlenmesi, fide büyümesi, kök gelişimi, mineral besin alınımı, enzim aktivitesi, protein sentezi ve bazı metabolik değişiklikler üzerine etkisi ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Ancak humik asitin çeşitli kimyasalların genotoksik etkisine karşı koruyucu rolü ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Özellikle tuz stresine karşı humik asitin mitotik aktivite ve kromozom anormallikleri üzerindeki etkisi hakkında mevcut çalışmaya rastlanılmamıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. DeneYlerde Kullanılan Tohum

DeneYlerde, Ankara Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından temin edilen arpa (*Hordeum vulgare* L., cv 'Bülbül 89') tohumları kullanılmıştır. Arpa tohumları kullanılmadan önce yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Bunun için tohumlar %1'lik sodyum hipokloritte 10 dakika tutulduktan sonra beş defa saf su ile yıkanıp filtre kağıtları üzerinde oda sıcaklığında kurutulmuştur (Baltepe ve Mert, 1973).

3.2. Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan tuz (NaCl) ve humik asit Merck firmasından sağlanmıştır. DeneYlerde konsantrasyonları bir ön çalışma sonucu belirlenen 0.25, 0.30 ve 0.35 M (molar) tuz çözeltileri kullanılmıştır. Tuz çözeltileri gerekli miktarda tuzun saf suda çözündürölüp litreye tamamlanması ile hazırlanmıştır. DeneYde konsantrasyonu bir ön çalışma sonucu saptanan 28 mg/L'lik humik asit kullanılmıştır. 28 mg/L'lik humik asit konsantrasyonunun tuz stresinin çimlenme üzerindeki olumsuz etkisini indirgeyerek çimlenmeyi teşvik ettiği bulunmuşur. Humik asitten bir litre stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla gerekli miktarda humik asit hassas terazide tartıldıktan sonra saf su ile çözümlendirilip litreye tamamlanmıştır.

3.3. İlk İşlem Çözeltisinin Hazırlanması

Sitogenetik çalışmalar için ilk işlem çözeltisi olarak doymuş paradiklorbenzen çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti, içerisinde 500 ml distile su bulunan ağzı mantar kapaklı bir şişe içerisine, 10 gr paradiklorbenzen kristalinin konularak bu karışımın 60°C'ye ayarlı etüvde bir gece bekletilmesi suretiyle hazırlanılmıştır (Elçi, 1982).

3.4. Tespit Çözeltisinin Hazırlanması

Sitogenetik çalışmalarda tespit çözeltisi olarak asetik alkol kullanılmıştır. Çözelti, McLean ve Cook (1941) ve Sass (1951)'in metoduna göre; 1 kısım glasiyel asetik asidin, 3 kısım absolü alkol ile karıştırılması sonucu hazırlanmıştır (Elçi, 1982).

3.5. Boyanın Hazırlanması

Mitoz bölünme ve kromozomların iyi bir şekilde görülebilmesini sağlamak için yapısında kristal halde fuksin bazik bulunan Feulgen boyası kullanılmıştır. Feulgen boyası Elçi (1982)'nin metoduna göre aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

- 1 gr kristal haldeki fuksin bazik alınarak 8 cm çapında bir saat camı içerisinde ezilmiştir.
- 500 ml'lik bir erlenmayere ezilerek toz haline getirilmiş fuksin bazik kabın etrafına bulaştırılmadan konulmuştur.
- Başka bir erlenmayerde 200 ml distile su kaynatılmıştır.
- Toz halindeki fuksin bazik üzerine kaynatılmış olan distile su yavaş yavaş dökülerek sürekli karıştırılmıştır.
- Boyanın sıcaklığı 50°C'ye düşürülünceye kadar karıştırılmaya devam edilmiştir.
- Boyaya 20 ml HCl ilave edilerek filtre kağıdı yardımıyla süzümüştür.
- Süzülen boyaya 2 gr potasyum metabisülfid ($K_2S_2O_3$) ilave edilerek 2 dakika boyunca karıştırılmaya devam edilmiş ve daha sonra boya kapaklı bir şişeye konularak 24 saat buzdolabında bekletilmiştir.

3.6. Tohumların Çimlendirilmesi

Çimlenme deneyleri 20°C'ye ayarlı etüvde yapılmıştır. Öncelikle yeterli sayıda, dolgun görünüşlü, sağlam ve birbirine benzer büyüklükteki tohumlar seçilmiştir. Daha sonra tohumlar belirli hacimdeki (50 ml) saf suda ve 28 mg/L humik asit çözeltisinde 24 saat oda sıcaklığında ön uygulamaya tabi tutulmuştur. Bekletilen tohumlar önceden otoklavda sterilize edilmiş içinde kontrol ve tuz konsantrasyonlarının bulunduğu 12 cm çaplı petrilere düzenli olarak yerleştirilmiştir (Çavuşoğlu, 2006).

3.7. Kök Uçlarının Elde Edilmesi

Her bir uygulama grubu için çimlendirilen tohumların kök uçları 0,5 – 1 cm uzunluğa ulaştınca kesilerek küçük şişelere alınarak paradiklorbenzen ile 4 saat süreyle ilk

işleme tabi tutulmuştur. Daha sonra kök uçları asetik alkol (1:3) tespit çözeltisinde 24 saat bekletilmiştir. Tespit işleminden sonra kök uçları preparat hazırlanması ve incelenmesi için kullanılmak üzere içerisinde %70'lik alkol bulunan küçük şişelere alınarak +4°C'de buzdolabında saklanmıştır (Hill ve Myers, 1945).

3.8. Boyamanın Yapılması

%70'lik alkolden çıkartılan kök uçları birkaç kez musluk suyunda yıkanmıştır. Yıkama sonrası kök uçları 1 N HCl içerisinde 60°C'ye ayarlı 18 dakika etüvde hidroliz edilmiştir. Hidroliz işlemi sonrası kök uçları tekrar musluk suyuyla yıkanıp 1,5-2 saat kadar Feulgen içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra boyamanın daha iyi olması için kök uçları 15 dakika musluk suyunda yıkanmıştır (Elçi, 1982).

3.9. Preparatların Hazırlanması

Preparat hazırlamak için; %45'lik asetik asitten bir damla lam üzerine konulup, keskin bir jiletle kök ucunun koyu renk almış olan 1- 2 mm'lik uç kısmı kesilmiştir. %45'lik asetik asitten ok uçlu iğne yardımıyla bir damla alınarak kesilen kök ucu üzerine getirilmiş ve daha sonra kök ucu bu damla içerisinde jilet yardımıyla parçalanmıştır. Bu parçacıkların üzerine lamel kapatılarak bir elin başparmağıyla lamel oynatılmadan tutulup diğer el ile kurşun kalemin arka kısmıyla lamele hafifçe vurulmuştur. Böylece hem hücrelerin daha iyi dağılması sağlanmış hem de hücreler yassılaştırılarak mitotik evrelerin görünümü kolaylaştırılmıştır. Preparatın içinde kalan hava kabarcıklarını gidermek için, lamelin kenarına %45'lik asetik asit damlatılmış ve bu damla lamelin kenarında dolaştırılarak kabarcıklarını giderilmiştir. Fazla asit kurutma kağıdı ile çekilmiştir. Daha sonra preparat kurutma kağıdı arasına konularak lamelin her tarafına aynı şekilde temas edecek şekilde başparmak ile kuvvetlice bastırılmıştır. Böylece parçacıkların tek bir hücre tabakası haline gelmesi sağlanmıştır (Elçi,1982)

3.10. Devamlı Preparatların Hazırlanması

Hazırlanan preparatların devamlı hale getirilmesinde, hücrelerin olduğu gibi muhafaza edilebilmesi için lam ve lamelin birbirinden ayrılmaması gerektiğinden

alkol buharı değiş-tokuş yöntemi kullanılmıştır. Bunun için şalelerin iç kısmı ve kapağın iç tarafına kurutma kağıdı yerleştirilmiştir. Kapağa ve kapağın iç kısımlarına yerleştirilen kurutma kağıtları absöü alkol ile nemlendirilmiş ve kabın dip kısımlarına 3-4 mm absöü alkol konulmuştur. Alkol buharının uçmasını önlemek için kabın ağızına ve kapağın etrafına vazelin sürölmüştür.

Devamlı yapılmak istenen preparatlara, gerekli bilgilerin yazılı olduğu etiketler yapıştırılmıştır. Preparatlar, anlatılan şekilde hazırlanan şalelere konulmuş ve bir gece +4°C’de buzdolabında bekletilmiştir. Ertesi gün buradan çıkarılan preparatlar, içine ve kapağına absöü alkol ile nemlendirilmiş filtre kağıdı yerleştirilmiş olan petri kutularına konulmuştur. Lamelin iki kenarına birer damla kanada balzamu damlatılmış ve damlalar lamelin üç kenarını kapatacak şekilde yayılmıştır. Böylece kurutulan preparatlar, devamlı preparat haline gelmiştir (Elçi, 1982).

3.11. Veri Analizlerinin ve İstatistiksel Değerlendirmelerin Yapılması

3.11.1. Mitotik indeksin belirlenmesi

Hazırlanan preparatlar mikroskopta 100X büyütmede incelenmiş ve her bir tuz konsantrasyonu için 3 tekrar yapılarak yaklaşık 3000 hücre sayılmıştır. Daha sonra mitoz bölünmedeki hücreler sayılıp mitotik indeks;

$$\text{Mitotik İndeks} = \frac{\text{Mitozdaki Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}}$$

formülüyle belirlenmiştir.

3.11.2. Mitoz anormalliklerinin belirlenmesi

Preparatların mikroskopik gözlemleri sırasında mitozun tüm evrelerinde meydana gelen kromozom anormalliklerine dikkat edilerek,

$$\text{Kromozom Anormallikleri} = \frac{\text{Anormal Hücre Sayısı}}{\text{Mitozdaki Hücre Sayısı}} \times 100$$

formülüyle belirlenmiştir.

Kromozom anormalliklerinin resimleri Olympus CX-41 araştırma mikroskopunda 100X büyütme ile ve C-5060 WZ marka fotoğraf makinesi ile çekilmiştir.

3.11.3. İstatistiksel değerlendirme

Tüm parametrelerle ilgili istatistiksel değerlendirme SPSS 19.0 programı kullanılarak Duncan's (1955) multiple range testine göre gerçekleştirilmiştir.

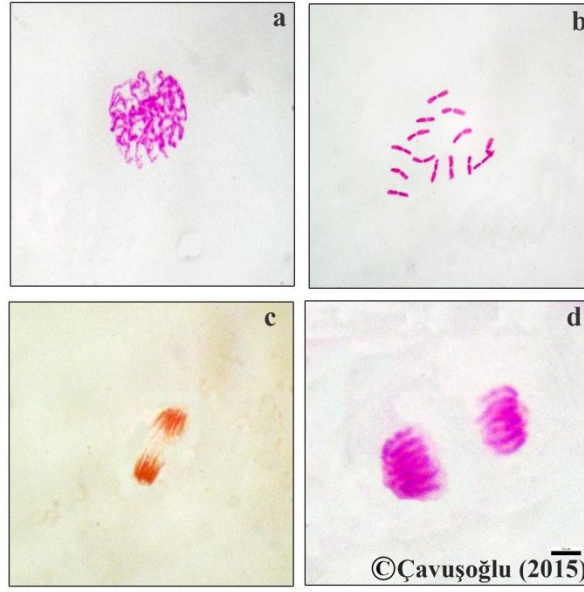
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Humik maddelerin, çimlenme sürecinde tohum dokularındaki enzimatik aktiviteleri arttırmak koşuluyla çeşitli türlerin tohumlarında çimlenmeyi teşvik ettiği, çimlenmenin oranını, kök ve sürgün büyümesini ayrıca bitkilerin meristematik hücrelerindeki DNA sentez miktarını arttırdığı bilinmektedir (Rauthan ve Schnitzer, 1981; Bujalski ve Nienow, 1991; Gorova vd., 2005). Fakat humik asidin özellikle hücre bölünmesine etkisi (Feretti vd., 2012) ve çeşitli stres şartlarının genotoksik etkisi üzerine humik maddelerin rolü hakkındaki çalışmalar (Gichner vd., 1990; Ferrara vd., 2000; Gustavino vd., 2005) oldukça sınırlıdır. Bu nedenle hem normal hem de tuz stresi altında çimlendirilen arpa tohumlarında humik asidin mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerindeki etkilerini incelemek ve bunları birbirleriyle karşılaştırmak amacıyla bu tez çalışması düzenlenmiştir.

4.1. Saf Su Ortamında Humik Asit Ön Uygulamasının Mitotik İndeks ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri

Materyal ve yöntem bölümünde belirtildiği gibi 28 mg/L humik asitle ön uygulamaya tabi tutulan arpa tohumları 20°C'de saf su ortamında çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenmiş tohumlardan elde edilen kök uçları ile preparatlar hazırlanmıştır. Bu preparatlarda yapılan hücre sayım işlemleri sonucunda hesaplanan mitotik indeks değeri Çizelge 4.1.1'de verilmiştir.

Humik asit ön uygulamasına tabi tutulan arpa tohumları ile sadece saf su (K, kontrol) ortamında çimlendirilen arpa tohumlarının mitotik indeksi karşılaştırıldığında, humik asit uygulamasının mitotik indeksi %70 oranında teşvik ettiği tespit edilmiştir. Diğer bir ifadeyle, humik asit ön uygulamalı tohumların mitotik indeksinin kontrol tohumlarına göre oldukça yüksek bir değere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.1.1.).



Şekil 4.1.1. Saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerindeki normal mitoz evreleri. a) Profaz, b) Metafaz c) Anafaz d) Telofaz. Ölçek 10 µm

Yapılan incelemeler sonucunda saf su ortamında ve 20°C’de çimlendirilen kontrol grubu arpa tohumlarının hücrelerindeki kromozom yapılarında istatistiksel olarak önemsiz sayılabilecek düzeyde anormalliğe rastlanılmış ve genellikle mitoz bölünmenin tüm evreleri normal şekilde gözlemlenmiştir (Şekil 4.1.1.)

Kromozom anormalliklerini belirlemek üzere gerek kontrol grubu gerekse humik asit ön uygulamasına tabi tutulan arpa tohumlarının kök ucu hücrelerindeki kromozom anormalliklerinin yüzde oranı Çizelge 4.2.1’de verilmiştir. Humik asit ön uygulamasıyla kromozom anormalliklerinin yüzdesinde istatistiksel olarak önemli bir artış gözlenmiştir. Kontrol tohumlarında anormallik oranı %0,04 iken humik asit ön uygulamalı tohumların anormallik oranı % 0,421 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.1. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri

| Tuz Konsantrasyonu (Molar) | Mitotik İndeks | |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Kontrol | 28 mg/L |
| 0,0 | 0,196±0,13 ^{bcd} | 0,279±0,04 ^e |
| 0,25 | 0,195±0,03 ^{bcd} | 0,177±0,03 ^{abcd} |
| 0,30 | 0,187±0,01 ^{abc} | 0,187±0,02 ^{bcd} |
| 0,35 | 0,184±0,03 ^{abc} | 0,125±0,02 ^{ab} |

* Her bir parametre sütununda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark (p < 0,05) düzeyinde önemsizdir. ± Standart sapma

Humik asit ile ön uygulamaya tabi tutulan ve saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarından alınan kök uçlarıyla hazırlanan preparatlarda gözlenen çeşitli kromozom anormallikleri Şekil 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3 ve 4.2.4'te belirtilmiştir. Tek başına humik asit uygulaması sonucu sıklıkla fragment oluşumu, geri kalmış kromozom, parçalanmış ekvatoryal plak, anafaz ve telofazda köprü, anafaz ve telofazda yanlış kutuplaşma şeklinde anormallikler gözlenmiştir.

4.2. Çeşitli Tuz Konsantrasyonlarında Humik Asit Ön Uygulamasının Mitotik İndeks ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri

Tuz stresi altında çimlendirilen arpa tohumlarının, mitotik indeks değerine humik asidin etkinlik derecesini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmadan elde edilen mitotik indeks değerleri Çizelge 4.1.1 'de verilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arpa tohumlarının mitotik indeks değeri tuz konsantrasyonunun artışına paralel olarak kısmen azalma göstermiştir. Saf su ortamında (K, kontrol) çimlendirilen arpa tohumlarının mitotik indeksi 0,196 iken, 0,25 M tuz konsantrasyonunda 0,195; 0,30 M tuzlulukta 0,187 ve 0,35 M tuzlulukta 0,184 olarak tespit edilmiştir. Yani artan tuz konsantrasyonu arpa tohumlarının mitotik indeksini istatistiksel olarak pek fazla etkilememiş olmakla birlikte sayısal açıdan kısmen de olsa olumsuz yönde etkilemiştir. Çalışılan en yüksek tuz seviyesinde (0,35 M) mitotik indeks en düşük seviyeye ulaşmıştır.

Tuz stresinin olmadığı humik asit uygulamalı tohumlar saf su ortamında (kontrol 0,0) çimlendirilen tohumlarla kıyaslandığında, humik asitin mitotik indekste istatistiksel olarak oldukça önemli bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Yani 28 mg/L humik asit ilavesi mitotik indeksi %70 oranında arttırmıştır. Ancak humik asit ön uygulaması artan tuz konsantrasyonlarıyla birlikte mitotik indeksin önemli derecede azalmasına neden olmuştur. En düşük mitotik indeks (0,125) değeri 0,35 M tuzlulukta gözlenmiştir.

Genel olarak humik asit ön uygulamasından sonra farklı tuz konsantrasyonlarda çimlendirilen tohumların mitotik indeksi ile saf su ön uygulamasından sonra aynı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen tohumları karşılaştırıldığında, tuzlulukla

birlikte humik asit ön uygulamasının 0.25 M ve 0.35 M tuzlulukta mitotik indeksi daha çok azalttığı, 0,30 M tuzlulukta ise kendi kontrol grubuyla aynı değerde olduğu tespit edilmiştir.

Tuzlu koşullar altında çimlendirilen arpa tohumlarının kromozom anormallik yüzdesine humik asidin etkinlik derecesini belirlemek amacıyla yapılan sitolojik incelemeler sonucunda elde edilen kromozom anormallik yüzdeleri Çizelge 4.2.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallik yüzdeleri

| Kromozom Anormallığı (%) | | |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Tuz Konsantrasyonu (Molar) | Kontrol | 28 mg/L |
| 0,0 | 0,04±0,18 ^a | 0,421±0,05 ^{cd} |
| 0,25 | 0,250±0,27 ^{bc} | 0,229±0,01 ^{bc} |
| 0,30 | 0,350±0,07 ^c | 0,304±0,15 ^{bc} |
| 0,35 | 0,589±0,05 ^d | 0,04±0,04 ^a |

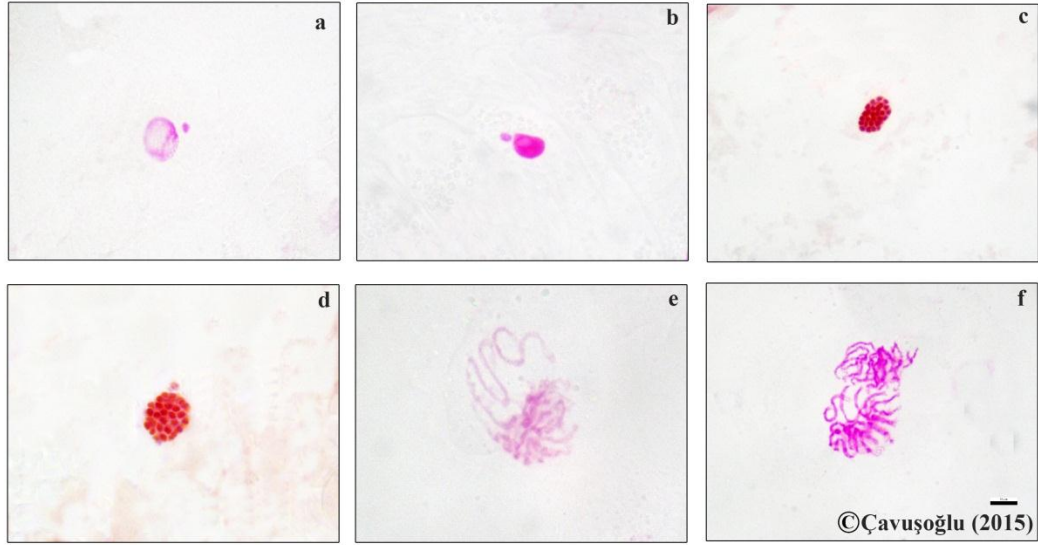
* Her bir parametre sütununda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark (p < 0,05) düzeyinde önemsizdir. ± Standart sapma

Artan tuz konsantrasyonlarına paralel olarak arpa tohumlarının kök ucu hücrelerinde oldukça yüksek oranda kromozomal anormallikleri ortaya çıkmıştır. Saf su ortamında çimlendirilen kontrol tohumlarında istatistiksel olarak göz ardı edilebilecek bir kromozom anormalliğine rastlanırken, 0.25 M tuzlulukta 0,250; 0.30 M tuzlulukta 0,350 ve 0.35 M tuzlulukta 0,589 oranında giderek artan kromozom anormallikleri kaydedilmiştir. Diğer bir ifadeyle, çalışılan tüm tuz konsantrasyonlarında görülen kromozom anormalliklerinin kontrol grubuna göre oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. En yüksek tuz konsantrasyonunda (0,35 M) kromozom anormalliklerinin yaklaşık olarak % 60 oranında arttığı tespit edilmiştir.

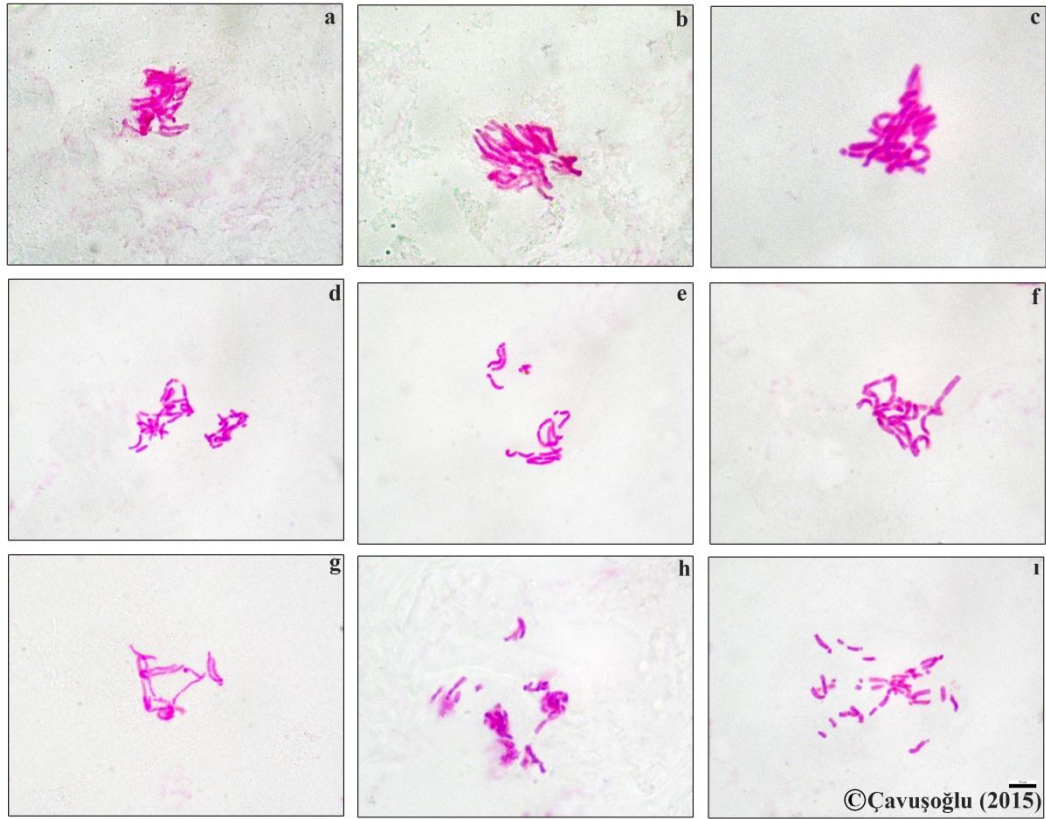
Ayrıca tek başına humik asit uygulamasına tabi tutulan tohumlar ile saf su ortamında çimlendirilen tohumlar karşılaştırıldığında, humik asit ön uygulamasının % 42 oranında arpa kök ucu hücrelerindeki kromozom anormalliklerinin artmasına sebep olduğu görülmüştür. Ancak humik asit ile muamele edildikten sonra farklı tuz

konsantrasyonlarında çimlendirilen tohumların kromozom anormallik yüzdeleri, sadece humik asit ile muamele edilen tohumların yüzdesinden istatistiksel açıdan oldukça önemli sayılabilecek derecede bir azalma göstermiştir. En önemli derecede azalmayı ise en yüksek tuz konsantrasyonu olan 0,35 M tuzlulukta göstermiştir. Bu değerler sadece farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen tohumların yüzdeleri ile karşılaştırıldığında, humik asit ön uygulaması çalışılan tüm tuz konsantrasyonlarında; tuz stresinin bu parametre üzerine olumsuz etkisini hafifletmekte oldukça başarılı olmuştur. Diğer bir ifade ile kromozom anormallik yüzdesi 0.25 M tuz konsantrasyonunda 0,250 iken, humik asit ön uygulamasıyla 0,229'a, 0.30 M tuz konsantrasyonunda 0,350 iken, 0,304'e ve 0.35 M tuz konsantrasyonunda 0,589 iken, 0,04'e indirgenmiştir (Çizelge 4.2.1.). En yüksek tuz konsantrasyonunda (0,35 M) humik asit uygulaması tuz stresinin olumsuz etkisini önemli derecede azaltarak saf su ortamında çimlendirilen tohumlarla aynı anormallik yüzdesine (0,04) ulaşmıştır.

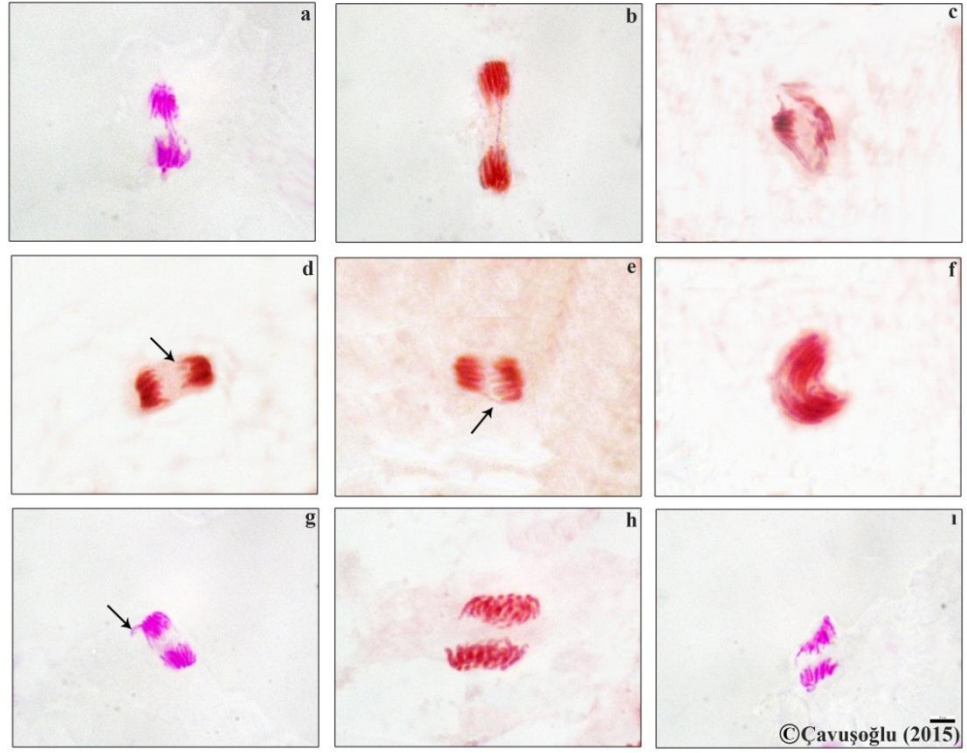
Sitolojik incelemeler sonucunda tüm uygulama gruplarına ait en sık rastlanan kromozom anormallikleri; mikronükleus, granülasyon, düzensiz profaz, parçalanmış ekvatoryal plak, yapışık kromozomlar, sarmallanamamış kromozomlar, fragment oluşumu, geri kalmış kromozomlar, anafaz ve telofazda köprü, vagrant kromozom ve yanlış kutulaşmalar, alignment anafaz ve telofazda uzaklaşmış kutuplar olarak tespit edilmiştir.



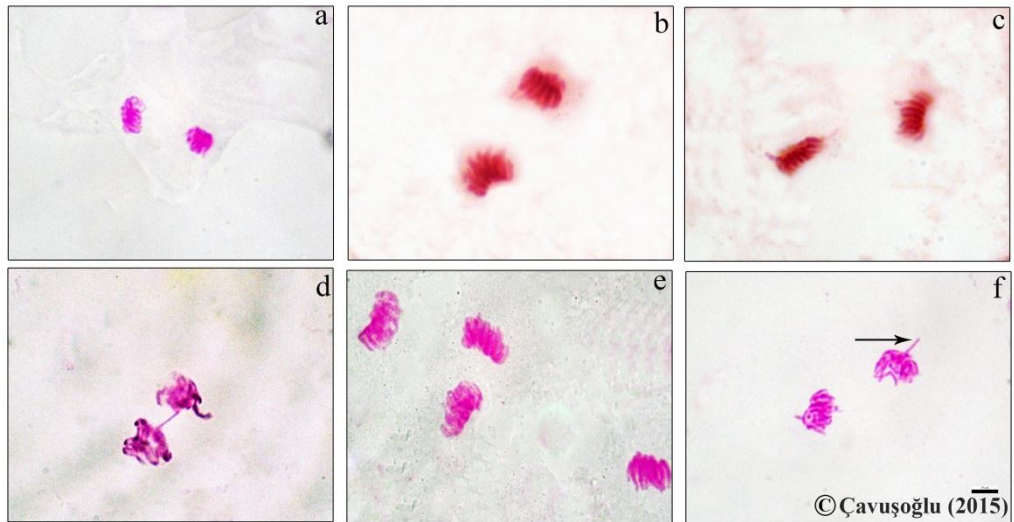
Şekil 4.2.1. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerindeki profaz öncesi ve profazda gözlenen kromozom anormallikleri a,b) Mikronükleus; c,d,) Granülasyon; e,f) Düzensiz profaz. Ölçek 10 μ m



Şekil 4.2.2. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerinde gözlenen metafaz anormallikleri a,b,c) Yapışık kromozomlar; d,e) Parçalanmış ekvatoryal plak; f,g) Sarmallanamamış kromozomlar; h,i) Fragment oluşumu. Ölçek 10 μ m



Şekil 4.2.3. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerinde gözlenen anafaz anormallikleri a,b,c) Anafazda köprü; d,e) Geri kalmış kromozom (oklar); f) Anafazda yanlış kutuplaşma; g) Anafazda vagrant kromozom (ok); h, ı) Alignment anafaz. Ölçek 10 µm



Şekil 4.2.4. Humik asit ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu meristemlerinde gözlenen telofaz anormallikleri a,b,c) Telofazda yanlış kutuplaşma; d) Telofazda köprü; e) Telofazda uzaklaşmış kutup; f) Telofazda vagrant kromozom (ok). Ölçek 10 µm

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Bu çalışmada humik asidin hem normal hem de tuz stresi altında çimlendirilen arpa tohumlarının kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Kromozomlarla ilgili çalışmalarda, hücre bölünmesi ve kromozom anormalliklerinin belirlenmesi için değişik metotlar kullanılmaktadır. Hücre bölünmesi sırasında bölünmeyi kontrol edebilecek 8-hidroksikinolin (Rousi, 1961), α -monobromonaftalin (Kuta, 1980; Elçi, 1982), paradiklorbenzen (Elçi, 1982; Sharma ve Gupta, 1982; Tabur vd. 2002), kolkisin (Guidetta Roti-Michelozzi, 1986; Terziiski ve Dimitrov, 1983) ve erimekte olan buz (Ladizinsky ve Hadassa, 1984; Maxted vd., 1991) gibi ön uygulama çözeltilerinin kullanıldığı bilinmektedir. Çalışmamızda ön uygulama için Elçi (1982), Sharma ve Gupta (1982) ve Tabur vd. (2002)'nin uyguladığı metot esas alınarak paradiklorbenzenin doymuş çözeltisi kullanılmıştır.

Feulgen ile yapılan boyamalarda kromozomların optimum boyayı almasındaki en önemli noktalardan birisi olan hidrolizin; özellikle dokuların birbirinden ayrılarak hücrelerin daha iyi gözlemlenebilmesi için önemli olduğu belirtilmiştir (Elçi, 1982). Hidroliz için zaman, sıcaklık ve hidrolizde kullanılan HCl'nin konsantrasyonu önemlidir. Yine hidroliz süresi de materyale göre değişiklik gösterdiğinden çok iyi zamanlama yapılması gerekmektedir. Çalışma materyalimiz için hidroliz süresinin 60°C'de 1 N HCl içerisinde 18 dakika bekletilmesinin (Fox, 1969) uygun olduğu görülmüştür.

Yapılan literatür araştırmalarında; humik maddelerin, çimlenme sürecinde tohum dokularındaki enzimatik aktiviteleri arttırmak koşuluyla çeşitli türlerin tohumlarında çimlenmeyi teşvik ettiği (Rauthan ve Schnitzer, 1981; Bujalski ve Nienow, 1991) konusunda birkaç çalışmalar olmasına rağmen özellikle tuzlu koşullar altında hücre bölünmesi ve mitotik indeks üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle humik asidin stres koşulları altında bu parametreler üzerindeki etkilerine geçmeden önce 20°C'de saf su ortamında çimlendirme esnasındaki etkilerinin karşılaştırılması uygun bulunmuştur.

Araştırma bulguları bölümünde 4.1. alt başlığı altında da görüldüğü gibi humik asit ile ön muamele yapılmamış (K, kontrol) arpa tohumlarının mitotik indeks değeri 0.196 iken, humik asit ön uygulamalı tohumlarda bu değer 0,279 olmuştur. Diğer bir ifade ile tek başına humik asit ön uygulaması kontrol grubuna göre mitotik indeksin % 70 oranında artmasına sebep olmuştur (bkz çizelge 4.1.1.). Literatür araştırmalarımızda humik asitin mitotik aktivite üzerine etkisi ile ilgili yeterli çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte Feretti vd. (2012) tek başına humik asit uygulamasının çalışmış oldukları her iki solisyonda da (12,5 mg/L ve 37, 5 mg/L) mitotik indeksi azalttığını ileri sürmüşlerdir. Araştırmacıların bulgularındaki bu farklılık çalışılan bitki türü veya kullanılan humik asit konsantrasyonundan kaynaklanmış olabilir. Ayrıca Gorova vd. (2005)'nin humik maddelerin bitkilerdeki meristematik hücrelerde DNA sentez miktarını arttırdığı konusunda elde etmiş olduğu veriler bulgularımızı desteklemektedir.

Sitolojik incelemeler sonucunda, saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarında gözlenen kromozom anormallikleri istatistiksel olarak önemli olmamasına (0,04) karşın, humik asit (28 mg/L) ön uygulamalı tohumlarda çeşitli tiplerde kromozom anormalliklerine rastlanmıştır. Tek başına humik asit uygulaması kromozom anormalliklerinin oranını saf suya göre % 42 arttırmıştır (bkz çizelge 4.2.1.). Bu bulgumuz Feretti vd. (2012)'nin bulguları ile uygunluk göstermektedir.

Bu çalışmanın sonucunda, tek başına humik asit ön uygulamasının saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerini arttırdığı fakat kromozom anormallikleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu ortaya çıkartılmıştır.

Toprak tuzluluğu, bitki büyüme ve gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Dünya tarım alanlarının yaklaşık % 20'si tuzlanma tehlikesi altındadır (Zhu, 2001). Bilindiği gibi tuzlu koşullar, halofit bitkilerde bile, genellikle büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Yani tuzlu koşullarda genellikle çimlenme engellenmekte, büyüme hızı yavaşlamakta ve verim azalmaktadır. Bazı hallerde ise bitki, hayat devresini tamamlayamadan ölmektedir (Gill ve Singh, 1985; Schmidhalter ve Oertli, 1991).

Al- Karaki (2001) ve Ghoulam ve Flores (2001); yapmış oldukları çalışmada tuzluluğun büyüme ve gelişme üzerine etkisinin iki şekilde olduğunu belirtmişlerdir. Bunlardan birincisi tuzun ortamda oluşturduğu ozmotik basınçtan dolayı çimlenebilmesi için gerekli olan suyun alınmaması (ozmotik etki), ikincisi ise tuz iyonlarının embriyo ya da fideler için toksik etki (iyon etkisi) yaparak büyüme ve gelişmesini engellemesidir. Bu iki mekanizmanın dışında da tuz stresi bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bunların içinde literatürde en sık rastlananlar ise şunlardır;

- Tuz, mitoz bölünmeyi engelleyerek çimlenmeyi durdurabilir (Tabur ve Demir 2009, 2010; Cesur ve Tabur 2011) ve ürün verimliliğini azaltabilir (Ahmad ve Prasad, 2012 a, b).
- DNA, RNA ve protein sentezini engellemek suretiyle büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyebilir (Anuradha ve Rao, 2001; Özdemir vd., 2004).
- Hücre zarının geçirgenliğini etkileyerek besin alışverişinin bozulmasına neden olabilir (Tiburcio vd., 1994).
- Bitki hücrelerinde solunumu genellikle engeller (Porath ve Poljakoff-Mayber, 1964) bazen de teşvik eder (Brix, 1962)
- Bitki hücrelerine giren Na^+ veya Cl^- iyonları, antagonist etki nedeniyle hücrenin metabolik faaliyetleri için gerekli olan Ca^{++} , K^+ gibi diğer iyonların alınmasına engel olur (Tiwari vd., 1997; Munns ve Tester, 2008).
- Tuz hücreler için gerekli olan enzimlerin aktivitesini engelleyerek çimlenmeyi durdurabilir (Miller vd., 2010).

Yaptığımız bu çalışmada tuz stresinin, konsantrasyon artışına bağlı olarak arpa tohumlarının mitotik indeksinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi tuz stresinin mitotik aktiviteyi azalttığı gerçeği bu çalışmayla bir kez daha kanıtlanmıştır (Bozcuk, 1978; Huang ve Van

Steveninck, 1990; Katsuhara ve Kawasaki, 1996; Lutsenko vd., 2005; Tabur ve Demir, 2008; Cesur ve Tabur, 2011).

Artan tuz konsantrasyonlarının mitotik indeksin yanı sıra kromozom davranışları üzerine de olumsuz etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Değişen tuz konsantrasyonlarının kromozom anormallikleri üzerindeki olumsuz etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından da vurgulanmıştır. Tajbakhsh vd. (2006) arpa tohumları ile yaptıkları çalışmada artan tuz seviyesinin mitoz bölünmenin anafaz safhasında kromozom anormalliklerine sebep olarak hücre bölünmesini geciktirdiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca Huilan ve Zili (2001)'da yapmış olduğu çalışmada tuz çözeltisinin çeşitli tiplerde kromozom anormalliklerine neden olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda da tuzluluğun benzer anormalliklere neden olduğu tespit edilmiş ve bu anormalliklerin yüzdeleri Çizelge 4.2.1 'de belirtilmiştir. Buna göre saf su ortamında çimlendirilen tohumlarda istatistiksel olarak önemsiz sayılabilecek bir anormalliğe (0,04) rastlanmış, ancak artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak kromozom anormallik yüzdelerinde oldukça önemli bir artış olduğu saptanmıştır. Bu durum bize tuz stresinin kromozom anormalliklerinin arttırıcı bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Humik asit ön uygulamasının tuzlu koşullar altında çimlendirilen tohumların mitotik indeksi ve kromozom anormallikleri üzerindeki etkisiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tuzlu koşullar altında bu parametreler üzerine humik asitin etkisi ile ilgili elde edilen tüm veriler bu çalışma ile ilk kez ortaya konulmuştur. Ancak N-nitröz bileşikler (Gichner vd., 1990), maleik hidralaz (Ferrara vd., 2000) ve bazı dezenfektan (ClO₂, NaClO ve PAA) maddeler (Ferretti vd., 2012) gibi çeşitli kimyasalların genotoksik etkilerine karşı humik asit uygulaması hakkında birkaç çalışma vardır. Gichner vd. (1990) ve Ferrara vd. (2000) araştırmalarında humik asitin farklı bitkilerde antiklastojenik bir aktivite gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Ferretti vd. (2012) ise humik asitin tek başına bile mitotik indeksi azalttığını ve genotoksik etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat bu araştırmacılar kullanmış oldukları dezenfektanların tek başına ne derece genotoksik etkiye sahip oldukları hakkında herhangi bir bulgu belirtmemiş olduklarından humik asitin bu dezenfektanlar üzerindeki etkisi konusunda bir açıklama yapılamamaktadır.

Çalışmamızda normal koşullar altında tek başına humik asit uygulaması saf suda çimlendirilen tohumlara göre mitotik indekste % 70'lik bir artışa sebep olmasına rağmen tuzlu koşullarda humik asit uygulaması çalışılan tüm konsantrasyonlarda mitotik indeksin azalmasına ya da etkisiz kalmasına sebep olmuştur. Kısacası, tuz stresi koşullarında humik asit arpa tohumlarının mitotik indeksi üzerinde başarılı bir performans sergileyememiştir.

Humik asit ön uygulaması arpa tohumlarının mitotik indeksi üzerinde yeterince başarılı olamamasına rağmen, kromozom davranışları ve anormallikleri üzerinde istatistiksel açıdan oldukça önemli etkiler göstermiştir. Her ne kadar tek başına humik asit uygulaması, saf suda çimlendirilen tohumların kök ucu hücrelerindeki kromozom anormalliklerinin önemli bir artışına (% 42) sebep olsa da tuz stresi şartlarında humik asit tuzluluğun neden olduğu anormalliklerin büyük bir çoğunluğunu hafifletmede dikkate değer bir başarı göstermiştir. Artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak humik asit tuzluluğun olumsuz etkisini azaltmış ve çalışılan en yüksek tuz konsantrasyonunda (0,35 M) kromozom anormalliklerinin tamamen ortadan kalkmasına neden olmuştur. Yani 0,35 M tuzlulukta 28 mg/L humik asit uygulaması tuz stresinin olumsuz etkisi üzerine mükemmel bir başarı göstererek saf su ortamında çimlendirilen tohumlarla aynı anormallik yüzdesine (0,04) ulaşmayı başarmıştır.

Burada önemli olan tek başına humik asitin kromozom anormallikleri üzerine olan olumsuz etkileri de düşünülerek uygun konsantrasyonlarda kullanılması gerektiğidir. Stresiz koşullarda tek başına humik asit uygulaması normal hücre bölünmesi için gerekli olan proteinlerin sentezini tetiklemek suretiyle mitotik döngüyü hızlandırarak bir stimülator gibi fonksiyon yapmış olabilir. Mitotik döngünün bu şekilde hızlanması hücre bölünmesi sırasında bir takım aksamaların meydana gelmesine ve kromozom anormalliklerinin önemli derecede atmasına (% 42) sebep olmuş olabilir. Bilindiği gibi dışarıdan stimülator büyüme düzenleyicisi uygulamaları stresin olmadığı normal koşullarda faydasızdır. Oysa stres koşullarında humik asit uygulamasının artan tuz konsantrasyonlarına paralel olarak mitotik aktiviteyi yavaşlatması ve bunun sonucu olarak kromozom davranışlarını düzenleyerek stresin sebep olduğu olumsuz etkiyi hafifletmesi ve hatta ortadan kaldırması (0,35 M tuzlulukta) bu görüşü desteklemektedir.

Çalışılan tüm uygulamalara ait tohumların kök ucu meristem hücrelerinin mikroskopik incelemesi sırasında mikronükleus, granülasyon, düzensiz profaz, parçalanmış ekvatoryal plak, yapışık kromozomlar, sarmallanamamış kromozomlar, fragment oluşumu, geri kalmış kromozomlar, anafaz ve telofazda köprü, vagrant kromozom ve yanlış kutulaşmalar, alignment anafaz ve telofazda uzaklaşmış kutuplar gibi çeşitli kromozom anormallikleri gözlenmiştir (Şekil 4.2.1 - 4.2.4). Genel olarak, mitozda kromozomların doğru ayrılması kardeş kinetokorların zıt kutuplardan çıkan mikrotübüluslara bağlanmasını gerektirir. Çünkü kinetokor bağlanması stokastik bir işlemdir, hataya meyillidir ve kromozomlarda hatalı oryantasyonlara sebep olabilir (Rieder ve Salmon, 1998). Düzensiz profaz, yanlış veya uzak kutuplaşma, alignment anafaz, vagrant kromozom ve köprü gibi anormallikler büyük ölçüde belirtilen sebeplerden veya iğ bozulmasından kaynaklanmış olabilirler ve bu tip anormallikler genellikle kromozomal anormalliklerin önemli bir kısmını oluştururlar. Mikronükleuslar, muhtemelen vagrant kromozomlar ve kromozom fragmentlerinin bir sonucu olarak meydana gelmiş olabilir (Briand ve Kapoor, 1989). Fragmentlerin kromozomlardaki yapısal değişiklikler olarak ele alındığı ve kromozomların normal koşullar dışında fiziksel ya da kimyasal ajanlarla etkilenmeleri sonucunda meydana geldikleri bilinmektedir (El-Ghamery vd., 2000). Kromozomların belirli bölgelerinin kimyasal maddelerle reaksiyona girerek kırıldığı ve bu bölgelerin de özellikle heterokromatik bölgeler olduğu bildirilmiştir (Reiger ve Michael, 1972; Reiger vd., 1973). Kromatin granülasyonu yani anormal kromatin yoğunlaşması enzimlerin ve histon proteinlerin inhibisyonu ile ilgilidir (Dane ve Dalgıç, 2005). Geri kalmış kromozomlar normal şekilde organize olan iğ apartürlerinin başarısızlığından (Patil ve Bhat, 1992), yapışık kromozomlar ise kromatin ipliklerinin yanlış katlanmasından kaynaklanmış olabilir (Klasterska vd., 1976). Bazı araştırmacılar, kromozom yapışıklığının kromatinler üzerindeki toksik etkinin bir göstergesi olduğunu rapor etmişlerdir (Fiskesjö ve Levan, 1993). Kromozom halkalanması ve sarmallanamamış kromozomlu profaz ve metafaz hücreleri, kromozomların düzensiz olarak kontraksiyonlarından kaynaklanabilir. Ekvatoryal plağın parçalanması kromozomların eşit olmayan dağılımından ve iğ bozukluğundan kaynaklanabilir. Ayrıca, anafaz ve telofaz köprülerinin inversiyonların bir sonucu olarak meydana geldiği bildirilmiştir (Tabur ve Demir, 2010b). Çalışmamızda gerek tek başına humik asit uygulamasının ve

gerekse kullanılan tuz konsantrasyonlarının normal hücre bölünmesi için gerekli olan enzim ve proteinlerin stimülasyon / inhibisyonunu tetiklediği ve iş mekanizmasını bozarak yukarıda bahsedilen tüm bu anormallikleri meydana getirmiş olabileceği düşünülmektedir.

Tüm dünyada ve ülkemizde ekonomik açıdan oldukça fazla öneme sahip olan ve moleküler çalışmalar için de önemli bir model bitki olan arpa tohumları kullanılarak normal şartlarda ve tuz stresi altında humik asidin mitotik indeks ve kromozom davranışları arasındaki etkileşimleri karşılaştırılarak, literatürdeki bir boşluğun doldurulmasına hizmet edilmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak, stressiz ortamda tek başına humik asidin mitotik aktiviteyi önemli derecede arttırdığı ve kromozom davranışları üzerinde yüksek oranda anormalliğe sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu da tek başına humik asit uygulamasının zamanla çeşitli tiplerde mutasyonlar oluşturabileceği gerçeğini ortaya çıkarmaktadır. Fakat bu çalışma tuz stresi koşullarında humik asit ön uygulamasının kromozom davranışları üzerinde tuzluluğun olumsuz etkilerini ortadan kaldırabileceğini desteklemektedir.

Sonuç olarak, mitotik aktivite ve kromozom anormallikleri üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak etkin olabilen, nükleikasit metabolizması, protein ve enzim sentezi gibi temel metabolik olaylar üzerinde humik asitin etkilerinin araştırılması söz konusu mekanizmanın aydınlığa kavuşturulmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmad, P., Prasad, M.N.V. 2012 a. Environmental Adaptations and Stres Tolerance in Plants in the Era of Climate Change. Springer Science Business Media, LLC, New York.
- Ahmad, P., Prasad, M.N.V., 2012 b. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. Springer Science, Business Media, LLC, New York.
- Akıncı, İ.E., Öngel, O., 2011. Nikelin Fasulye (*Phaseolus vulgaris*) Fide Gelişimi Üzerindeki Toksisitesinin Humik Asit ile Azaltılması. Ekoloji 20, 79, 29-37.
- Al-Karaki, G.N., 2001. Germination, Sodium and Potassium Concentration of Barley Seeds as Influenced by Salinity. Journal of Plant Nutrition, 24, 511- 522.
- Ali, R.M., 2000. Role of Putrescine in Salt Tolerance of Atropa Belladonna Plant. Plant Science, 152, 173-179.
- Amer, S.M., Ali, E.M., 1974. Cytological Effects of Pesticides V. Effects of some Herbicides on *Vicia faba*. Cytologia, 39, 633-643.
- Anuradha, S., Rao, S.S.R., 2001. Effect of Brassinosteroids on Salinity Stress Induced Inhibition of Seed Germination and Seedling Growth of Rice (*Oryza sativa* L.). Plant Growth Regulation, 33 (2), 151- 153.
- Ashraf, M.Y., Sarwar, G., Ashraf, M., Afaf, R., Sattar, A., 2002. Salinity Induced Changes in a Amylase Activity During Germination and Early Cotton Seedling Growth. Biology Plantarum, 45, 589– 591.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2004. Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plant. Plant Science, 166, 3–16.
- Aşık, B.B., Çelik, H., Turan, M.A., Katkat, A.V., 2012. Yapraktan Humik Asit Uygulamasının Tuzlu ve Kireçli Toprak Koşullarında Buğday Bitkisi Gelişimi ve Kimi Besin Elementi Alımı Üzerine Etkisi. Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Dergisi, 1, 541-548.
- Baltepe, S., Mert, H.H., 1973. Bazı *Cucurbitaceae* Türlerinin Hipokotil Büyümesi Üzerinde Gibberellik Asit ve İndol Asetik Asitin Etkileri. Tübitak IV. Bilim Kongresi Tebliği.
- Barakat, H., 2003. Interactive Effects of Salinity and Certain Vitamins on Gene Expression and Cell Division. International Journal of Agriculture and Biology, 3, 219-225.
- Bozcuk, S., 1978. Domates (*Lycopersicum esculentum* Mill.), Arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Bitkilerinin Büyüme ve

Gelişmesinde Tuz-Kinetin Etkileşimi Üzerinde Araştırmalar. Doçentlik tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Ankara.

- Briand, C.H., Kapoor, B.M., 1989. The Cytogenetic Effects of Sodium Salicylate on the Root Meristem Cells of *Allium sativum* L. *Cytologia*, 54, 203-209.
- Brix, H., 1962. The Effect of Water Stress on the Rates of Photosynthesis and Respiration in Tomato Plants and Loblolly Pine Seedlings. *Physiologia Plantarum*, 15, 10- 20.
- Bujalski, W., Nienow, A.W., 1991. Large-Scale Osmotic Priming of Onion Seeds: A Comparison of Different Strategies for Oxygenation. *Scientia Horticulturae*, 46, 13-24.
- Canellas, L., Olivares, F.L., 2014. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 1: 3.
- Cesur, A., Tabur, S., 2011. Chromotoxic Effects of Exogenous Hydrogen Peroxide (H₂O₂) in Barley Seeds Exposed to Salt Stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 707-709.
- Chain, Y., Avid, T., 1990. Effect of Humic Substances on Plant Growth. in: *Humic Substances in Soil and Crop Science; Selected Readings*. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America. Madison, 161–186.
- Chen, Y., Clapp, C.E., Magen, H., 2004. Mechanisms of Plant Growth Stimulation by Humic Substance: The Role of Organo-Iron Complex. *Soil Science and Plant Nutrition*. 50(7), 1089-1095.
- Cony, MA., Trione, SO., 1998. Inter and Intraspecific Variability in *Prosopis flexuosa* and *P chilensis*: Seed Germination Under Salt and Moisture Stress. *Journal of Arid Environment*, 40, 307– 317.
- Çavuşoğlu, K., 2006. Geleneksel Hormonlarla Son Yıllarda Bulunan Bazı Hormonların ve Büyüme Düzenleyicilerinin Yüksek Sıcaklık ve Tuz (NaCl) Stresleri Altındaki Arpa ve Turp Tohumlarının Çimlenmesi Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 161s, Isparta.
- Çavuşoğlu, K., Kabar, K., 2008. Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Tuzlu Koşullar Altındaki Arpa Tohumlarının Çimlenmesi Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması, *Science and Engineering Journal of Fırat University*. 20(1), 43– 55.
- Çavuşoğlu, K., Kaya, F., Kılıç, S., 2013. Effects of Boric Acid Pretreatment on The Seed Germination, Seedling Growth and Leaf Anatomy of Barley under Saline Conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture Environment*. 11, 376-380.

- Çavuşoğlu, K., Ergin, H., 2015. Effects of humic acid pretreatment on some physiological and anatomical parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to salt stress. *Bangladesh Journal of Botany*, 44(4), (Baskıda).
- Dajic, Z., 2006. Salt Stress. In: Madhava Rao KV, Raghavendra AS, Janardhan Reddy K. (eds) *Physiology and Molecular Biology of Salt Tolerance in Plant*, Netherlands, Springer, 41– 99.
- Dane, F., Dalgıç, Ö., 2005. The Effect of Fungicide Benomyl (Benlate) on Growth and Mitosis in Onion (*Allium cepa* L.) Root Apical Meristem. *Acta Biologica Hungarica*, 56 (1-2), 119-128.
- Darlington, C.D., La Cour, L.F., 1976. *The Handling of Chromosomes*. 6th edn (Allen and Unwin, London).
- Dash, M., Panda, S.K., 2001. Salt Stress Induced Changes in Growth and Enzyme Activities in Germinating *Phaseolus mungo* Seeds, *Biology Plantarum*, 44, 587– 589.
- Doulia, D., Leodopoulos, Ch., Gimouhopoulos, K., Rigas, F., 2009. Adsorption Of Humic Acid On Acid-Activated Greek Bentonite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 340, 131–141.
- Duan, J., Li, J., Guo, S., Kang, Y., 2008. Exogenous Spermidine Affects Polyamine Metabolism in Salinity-Stressed *Cucumis sativus* Roots and Enhances Short-Term Salinity Tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 165, 1620-1635.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* **11**: 1-42.
- El-Bassiouny, H.S.M., Bakry, B.A., Attia, A.A.E., Abd Allah, M.M., 2014. Physiological Role of Humic Acid and Nicotinamide on Improving Plant Growth, Yield, and Mineral Nutrient of Wheat (*Triticum durum*) Grown under Newly Reclaimed Sandy Soil. *Agricultural Sciences*, 5, 687-700.
- Elçi, Ş., 1982. *Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri*. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Elazığ, 165s.
- El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I., Mansour, M.M., 2000. The Action of Atrazine Herbicide as an Indicator of Cell Division on Chromosomes and Nucleic Acids Content in Root Meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*, 65, 277-287.
- Elkahoui, S., Barhoumi, Z., Djébalı, N., Djebali, W., Chaïbi, W., Limam, F., Smaoui, A., 2013. Physiological and Ultrastructural Responses of *Catharanthus roseus* Cell Suspension to Salt Stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 60(2): 244-249.
- Erdal, İ., Bozkurt, M.A., Çimrin, K.M., Karaca, S., Sağlam, M., 2000. Kireçli Bir Toprakta Yetiştirilen Mısır Bitkisi (*Zea Mays* L.) Gelişimi ve Fosfor Alımı

Üzerine Humik Asit ve Fosfor Uygulamasının Etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 24, 663-668.

- Eren, M., Deniz, G., Gezen, Ş.Ş., Türkmen, İ.İ., 2000. Broyler Yemlerine Katılan Humatların Besi Performansı, Serum Mineral Konsantrasyonu ve Kemik Külü Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 47, 255-263.
- FAO. 2015. FAO Land and Plant Nutrition Management. 11.08.2015. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>
- Feretti, D., Ceretti, E., Gustavino, B., Zerbini, I., Zani, C., Monarca, S., Rizzoni, M., 2012. Ground and Surface Water for Drinking: a Laboratory Study on Genotoxicity Using Plant Tests. Journal of Public Health Research, 1, 3-37.
- Ferrara, G., Loffredo, E., Simeone, R., Senesi, N., 2000. Evaluation of Antimutagenic and Desmutagenic Effects of Humic and Fulvic Acids on Root Tips of *Vicia faba*. Environmental Toxicology, 15, 513-517.
- Fiskesjö, G., Levan, A., 1993. Evaluation of the First Ten MEIC Chemicals in the *Allium* Test. Atla, 21, 139-149.
- Fox, D.P., 1969. Some Characteristic of The Cold Hydrolysis Technique for Staining Plant Tissues by The Feulgen Reaction. J. Histo Cytochem., 17, 266.
- Francois, L.E., Maas, E.V., 1994. Crop Response and Management on Salt Affected Soils, In Pessaraki M (ed) Handbook of Plant and Crop Stress, Marcel Dekker, New York, 149– 181.
- Gerzabek, M.H., Ullah, S.M., 1990. Influence of Fulvic and Humic Acids on Cd and Ni-toxicity to *Zea Mays* (L.). Die Bodencultur, 41, 115-124.
- Ghoulam, C., Flores, K., 2001. Effect of Salinity on Seed Germination and Early Seedling Growth of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). Seed Science Technology, 29, 357- 364.
- Gichner, T., Badaev, F., Pospisil, F., Veleminsky, J., 1990. Effects of Humic Acids, Para-Aminobenzoic Acid and Ascorbic Acid on the N-nitrosation of the Carbamate Insecticide Propoxur and on the Mutagenicity of Nitrosopropoxur. Mutation Research, 229, 37-41.
- Gill, K. S., Singh, O.S., 1985. Effect of Salinity on Carbohydrate Metabolism Duringpaddy (*Oryza sativa*) Seed Germination Under Salt Stress Condition. The Journal of Experimental Biology, 23, 384- 386.
- Gorova, A., Skvortsova, T., Klimkina, I., Pavlichenko, A., 2005. Cytogenetic Effects of Humic Substances and Their Use for Remediation of Polluted Environments. National Mining University, Ecology Department, Dnepropetrovsk, 49027, chapter 15, 311-328, Ukraine.

- Greenway, H., Munns, R., 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes. Annual Review of Plant Physiology, 31, 149– 190.
- Guidetta Roti-Michelozzi, G., 1986. Biosystematic Studies on the *Vicia villosa* Complex in Europe. Candollea, 41, 399-411.
- Gumuzio, J., Polo, A., Diaz, M.A., Ibanez, J.J., 1985. Ecological Aspects of Humification in Saline Soils in the Central Region of Spain, Province of Toledo. Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol, 22 (2), 193-207.
- Gustavino, B., Buschini, A., Monfrinotti, M., Rizzoni, M., Tancioni, L., Poli, P., Rossi, C., 2005. Modulating Effects of Humic Acids on Genotoxicity Induced by Water Disinfectans in *Cyprinus carpio*. Mutation Research, 587 (1-2), 103-113.
- Hill, H.D., Myers, W.M., 1945. A Schedule Including Cold Treatment to Facilitate Somatic Chromosome Counts in Certain Forage Grasses. Stain Technology, 20, 89-92.
- Huang, C.X., van Steveninck, R.F.M., 1988. Effect of Moderate Salinity on Patterns of Potassium, Sodium and Chloride Accumulation in Cells Near the Root Tip of Barley: Role of Differentiating Metaxylem Vessels. Plant Physiology, 73, 525- 533.
- Huang, C.X., Van Steveninck, R.F.M., 1990. Salinity Induced Structural Changes in Meristematic Cells of Barley Roots. New Phytologist, 115, 17- 22.
- Huilan, Y., Zili, Z., 2001. Cell Division and Chromosome Behavior of *Hordeum vulgare* Seedlings Under Salt Stress. Hereditas, 23(1), 29- 32.
- Iqbal, M., Ashraf, M., 2005. Changes in Growth Photosynthetic Capacity and Ionic Relations in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) Due to Pre-Sowing Seed Treatment with Polyamines. Plant Growth Regulation, 46, 19– 30.
- Jamil, M., Lee, KB., Jung, KY., Lee, DB., Han, MS., Rha, ES., 2007. Salt Stress İnhibits Germination and Early Seedling Growth in Cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). Pakistan Journal of Biological Science, 10(6), 910– 914.
- Jindo, K., Martim, S.A., Navarro, E.C., Pérez-Alfocea, F., Hernandez, T., Garcia, C., Aguiar, N.A., Canellas, L.P., 2012. Root Growth Promotion by Humic Acids from Composed and Non-composed Urban Organic Wastes. Plant and Soil. 353(1-2), 209-220.
- Katsuhara, M., Kawasaki, T., 1996. Salt Stress Induced Nuclear and DNA Degradation in Meristematic Cells of Barley Roots. Plant and Cell Physiology, 37, 169- 173.
- Kaya, M., Atak, M., Çiftçi, C.Y., Ünver, S., 2005. Çinko ve Humik Asit Uygulmalarının Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.)’da Verim ve Bazı

Verim Ögeleri Üzerine Etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9-3.

- Khaled, H., Fawy, H.A., 2011. Effect of Different Levels of Humic Acids on the Nutrient Content, Plant Growth, and Soil Properties under Conditions of Salinity. *Soil and Water Research*, 6(1), 21-29.
- Khalid, M.N., Iqbal, H.F., Tahir, A., Ahmad, A.N., 2001. Germination Potential of Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under Saline Conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4, 395-396.
- Klasterska, I., Natarajan, A.T., Ramel, C., 1976. An Interpretation of the Origin of Subchromatid Aberrations and Chromosome Stickiness as A Category of Chromatid Aberrations. *Hereditas*, 83, 153-162.
- Kuta, E., 1980. Karyological Studies on the Genus *Vicia* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 22. 81- 89.
- Kün, E., 1996. Tahıllar-1 (Serin İklim Tahılları). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1431, 322s, Ankara.
- Kwiatowski, J., 1998. Salinity Classification, Mapping and Management in Alberta. <http://www.agric.gov.ab.ca/sustain/soil/salinity>.
- Ladizinsky, G., Hadassa, V.O., 1984. Genetic Relationships Between Wild and Cultivated *Vicia ervilia* (L.) Wild. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 89, 97-100.
- Lazareve, E.M., Polyakov, V.Y., Chentsov, Y.S., Smirnova, E.A., 2003. Time and Cell Dependent Formation of Heterogeneous Tubulin Arrays Induced by Colchicines in *Triticum aestivum* Root Meristem. *Cell Biology International*, 27, 633-646.
- Lulakis, M.D., ve Petsas, S.I., 1995. Effect of Humic Substance From Vine-Canes Mature Compost on Tomato Seedling Growth. *Bioresource Technology*, 54 (2), 172-179.
- Lutsenko, E.K., Marushko, E.A., Kononenko, N.V., Leonova, T.G., 2005. Effects of Fusicoccin on the Early Stages of Sorghum Growth at High NaCl Concentrations. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52, 332- 337.
- Mahajan, S., Tuteja, N., 2005. Cold, Salinity and Drought stres: an Overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.
- Malik, K.A., Azam, F., 1985. Effect of Humic Acids on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedling Growth. *Environmental and Experimental Botany*, 25 (3), 245-252.

- Masciandaro, G., Ceccanti, B., Ronchi, V., Benedicto, S., Howard, L., 2002. Humic Substances to Reduce Salt Effect on Plant Germination and Growth. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33 (3), 365-378.
- Maraklı S., Temel A., Gözükırmızı N., 2014. Salt stress and homobrassinosteroid interactions during germination in barley roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 42(2), 446-452.
- Maxted, N., Callimassia, M.A., Bennett, M.D., 1991. Cytotaxonomic Studies of Eastern Mediterranean *Vicia* species (Leguminosae). *Plant Systematics and Evolution*, 177, 221-234.
- McLean, R.C., Cook, V.R.I., 1941. *Plant Science Formulae*. London. Macmillan and Co., Limited.
- Miller, G., Suzuki, N., Çiftci-Yılmaz, S., Mittler, R., 2010. Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signalling During Drought and Salinity Stresses. *Plant Cell and Environmental*, 33, 453–467.
- Munns, R., 1993. Physiological Processes Limiting Plant Growth in Saline Soils: Some Dogmas and Hypotheses. *Plant Cell Environ*, 16, 15–24.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651– 681.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello, A., 2002. Physiological Effects of Humic Substances on Higher Plants. *Soil Biology and Biochemistry*. 34, 1527-1536.
- Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T., Türkan, I., 2004. Effects of 24-Epibrassinolide on Seed Germination, Seedling Growth, Lipid Peroxidation, Proline Content and Antioxidative System of Rice Under Salinity Stress. *Plant Growth Regulation*, 42,203- 211.
- Padem, H., Öcal, A., 1998. Effect of Humic Acid Added Foliar Fertilizer on Some Nutrient Content of Eggplant and Pepper Seedlings. XXVth Int. Hort. Congress, Benelux, Brussels, 17 August 1998, Abstract Book, 180.
- Parvaiz, A., Satyawati, S., 2008. “Salt Stress and Phyto-biochemical Responses of Plants-a Review”. *Plant Soil Environment*, 54 (3), 89-99.
- Patil, B.C., Bhat, G.I., 1992. A Comparative Study of MH and EMS in the Induction of Chromosomal Aberrations on Lateral Root Meristem in *Clitoria ternatea* L. *Cytologia*, 57, 259-264.
- Poapst, P.A., Schintzer, M., 1976. Fulvic Acid and Adventitious Root Formation. *Soil Biology and Biochemistry*, 3, 215-219.
- Porath, E., Poljakoff-Mayber, A., 1964. Effect of Salinity on Metabolic Pathways in Pea Root Tips. *Israel Journal of Botany*, 13, 115- 121.

- Prakash, L., Prathapasenan, G., 1988. Effect of NaCl Salinity and Putrescine on Shoot Growth, Tissue on Concentration and Yield of Rice, *Journal of Agronomy Crop Science*, 160, 325– 334.
- Prisco, J.T., O’Leary, J.W., 1970. Osmotic and Toxic Effects of Salinity on Germination of *Phaseolus vulgaris* L. Seeds. *Turrialba*, 20, 177-184.
- Rauthan, B.S., Schnitzer, M., 1981. Effect of Soil Fulvic Acid on the Growth and Nutrient Content of Cucumber (*Cucumis sativus*) Plants. *Plant and Soil*, 63, 491-495.
- Rieder, C.L., Salmon, E.D., 1998. The Vertebrate Cell Kinetochore and its Roles During Mitosis. *Trends in Cell Biology*, 8, 310-318.
- Rieger, R., Michael, A., 1972. Effects of Chromosome Repotting in *Vicia faba* L. Aberration, Distribution, Aberration Spectrum and Karyotype Sensitive After Treatment with Ethanol of Differently Reconstructed Chromosome Complements. *Biol. Zent.*, 91, 151-169.
- Rieger, R., Nicoloff, H., Michaelis, A., 1973. Introchromosomal Clustering of Chromatic Aberrations Induced by N-Methyl-N-Nitroso Urethan in *Vicia faba* and Barley. *Biol. Zent.*, 92:,681-689.
- Rousi, A., 1961. Cutotoxonomic Studies on *Vicia cracca* L. and *V. tenuifolia* Roth. I. Chromosome Number and Karyotype Evolution. *Hereditas*, 47. 81– 110.
- Sass, J.E., 1951. *Botanical Microtechnique*. Iowa, The Iowa State Collage Press.
- Schmidhalter, U., Oertli, J.J., 1991. Germination and Seedling Growth of Carrots Under Salinity and Moisture Stress. *Plant and Soil*, 132, 243- 251.
- Sharma, P.C., Gupta, P.K., 1982. Karyotypes in Some Pulse Crops. *The Nucleus*, 25, 181- 185.
- Sivananthi, T., Paul, A.J., 2014. Effect of Humic Acid of Vermicompost on *Zea mays* Root Growth. *Scrutiny International Research Journal of Agriculture, Plant, Scrutiny International Research Journal of Agriculture, Plant Biotechnology and Bio Products*, 1(2), 7-16.
- Swiatek, A., Azmi, A., Witters, E., Van Onckelen, H., 2003. Stress Messengers Jasmonic Acid and Abscisic Acid Negatively Regulate Plant Cell Cycle. *Journal of Plant Physiology, Special Issue*, 172– 178.
- Tabur, S., Civelek, Ş., Bağcı, E., 2002. Cytotaxonomic Studies on Some *Vicia* L. Species Growing in Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Acta Botanica Hungarica*, 44 (1- 2), 185- 204.
- Tabur, S., Demir, K., 2008. Tuz Stresi Altındaki Mitotik İndeks ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Triakontanol Ön Uygulamasının Etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(1), 11- 15.

- Tabur, S., Demir, K., 2009. Cytogenetic Response of 24-Epibrassinolide on the Root Meristem Cells of Barley Seeds under Salinity. *Plant Growth Regulation*, 58, 119-123.
- Tabur, S., Demir, K., 2010 a. Role of some Growth Regulators on Cytogenetic Activity of Barley under Salt Stress. *Plant Growth Regulation*, 60, 99-104.
- Tabur, S., Demir, K., 2010 b. Protective Roles of Exogenous Polyamines on Chromosomal Aberrations in *Hordeum vulgare* Exposed to Salinity. *Biologia*, 65, 947-953.
- Tajbakhsh, M., Zhou, M.X., Chen, Z.H., Mendham, N.J., 2006. Physiological and Cytological Response of Salt-Tolerant and Non-Tolerant Barley to Salinity During Germination and Early Growth. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46 (4), 555- 562.
- Terziiski, D., Dimitrov, B., 1983. Karyotype analyses in *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray and *V.meyeri* Boiss. *Caryologia*, 36, 345-354.
- Tiburcio, A.F., Besford, R.T., Borrell, A., 1994. Posttranslational Regulation of Arginine Decarboxylase Synthesis by Spermine in Osmotically-Stressed Oat Leaves. *Biochemical Society Transactions*, 22, 455.
- Tiwari, B.S., Bose, A., Ghosh, B., 1997. Photosynthesis in Rice Under a Salt Stress. *Photosynthetica*, 34, 303- 306.
- Tobe, K., Zhang, L., Omasa, K., 2003. Alleviatory Effects of Calcium on the Toxicity of Sodium, Potassium and Magnesium Chlorides to Seed Germination in Three Nonhalophytes. *Seed Science Research*, 13, 47– 54.
- Turan, M.A., Aşık, B.B., Çelik, H., Katkat, A.V., 2012. Tuzlu Koşullarda Yapraktan Uygulanan Humik Asidin Mısır Bitkisinin Gelişimi ve Kimi Besin Elementi Alımı Üzerine Etkisi. *Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Dergisi*, 1, 529-539.
- Tüfenkçi, Ş., Türkmen, Ö., Sönmez, F., Erdinç, Ç., Şensoy, S., 2006. Effects of Humic Acid Doses and Application Times on the Plant Growth, Nutrient and Heavy Metal Contents of Lettuce Grown on Sewage Sludge Applied Soils. *Fresenius Environmental Bulletin*, 15(4), 295-300.
- Türkmen, Ö., Dursun, A., Turan, M., Erdinç, Ç., 2004. Calcium and Humic Acid Affect Seed Germination, Growth, and Nutrient Content of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Seedlings Under Saline Soil Conditions. *Acta Horticulturae Scandinavica*, 54(3), 168–174.
- Vaughan, D., Malcolm, R.E., 1985. Influence of Humic Substances on Growth and Physiological Processes, P, 37-75.

Wang, W., Vinocour, B., Altman, A., 2003. Plant Responses to Drought, Salinity and Extreme Temperatures: Towards Genetic Engineering for Stress Tolerance. *Planta*, 218, 1-14.

Yağmur, M., Kaydan, D., Okut, N., 2006. Potasyum Uygulamasının Tuz Stresindeki Arpanın Fotosentetik Pigment İçeriği, Ozmotik Potansiyel, K⁺/Na⁺ Oranı ile Bitki Büyümesindeki Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12, 188-194.

Zhu, J.K., 2001. Plant Salt Tolerance. *Trends in Plant Sciences*, 6, 66–71.

Zhu, M., Shabala, S., Shabala, L., Fan, Y. and Zhou, M. X. 2015. Evaluating Predictive Values of Various Physiological Indices for Salinity Stress Tolerance in Wheat. *Journal of Agronomy Crop Science*, 201, in Press.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Merve DÜNDAR YURTLU

Doğum Yeri ve Yılı : Yıldırım, 1990

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : merve-dundar@hotmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Muratpaşa Lisesi, 2006

Lisans : SDÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

ÇALIŞTIĞI KURUM VE YIL

Mondelez International 01.09.2014- Devam ediyor.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuz Stresi Altında Çimlendirilen Arpa Tohumlarında Humik Asitin Sitogenetik Etkisi