

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

**TUZLU KOŞULLARDAKİ ARPA TOHUMLARININ
ÇİMLENMESİ ESNASINDAKİ MİTOTİK İNDEKSE BAZI
HORMON VE HORMON BENZERİ AKTİVİTE GÖSTEREN
KİMYASALLARIN ÖN MUAMELELERİNİN ETKİLERİ**

Kıymet DEMİR

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Selma TABUR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA – 2007**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	6
2.1. DeneYlerde Kullanılan Tohumlar	6
2.2. Tuz (NaCl) Çözeltilerinin Hazırlanması	6
2.3. Hormon Çözeltilerinin Hazırlanması	6
2.4. İlk İşlem Çözeltilisinin Hazırlanması.....	7
2.5. Tespit Çözeltilisinin Hazırlanması.....	7
2.6. Boyanın Hazırlanması	8
2.7. Tohumların Çimlendirilmesi	8
2.8. Kök Uçlarının Elde Edilmesi.....	9
2.9. Boyamanın Yapılması	9
2.10. Preparatların Hazırlanması	10
2.11. Devamlı Preparatların Hazırlanması.....	10
2.12. Veri Analizlerinin ve İstatistiksel Değerlendirmelerin Yapılması.....	11
2.12.1. Mitotik İndeksin Belirlenmesi	11
2.12.2. Kromozom Anormalliklerinin Belirlenmesi.....	12
2.12.3. İstatistiksel Değerlendirme	12
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	13
3.1. Saf Su Ortamında Tek Başına Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamasının Mitotik İndeks Üzerine Etkileri	13
3.2. Saf Su Ortamında Tek Başına Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamasının Kromozom Davranışlarına Etkileri.....	14
3.3. Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamalarının Optimum Sıcaklık Olan 20 °C’de Tuzlu Koşullar Altındaki Mitotik İndeks Üzerine Etkileri.....	18

3.3.1. Tek Başına Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulaması İle Elde Edilen Sonuçlar.....	18
3.3.2. İkili Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonları İle Elde Edilen Sonuçlar.....	20
3.3.3. Üçlü Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonları İle Elde Edilen Sonuçlar.....	22
3.3.4. Dörtlü Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonları İle Elde Edilen Sonuçlar	24
3.3.5. Tüm Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamalarının Tuzlu Koşullar Altındaki Mitotik İndeks Üzerine Etkileri	26
3.3.6. Tek Başına ve Kombinasyon Halindeki Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamalarından Sonra Çeşitli Konsantrasyonlardaki NaCl'li Ortamda Çimlendirilen Arpa Tohumlarındaki Kromozom Anormallikleri	29
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	37
5. KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TUZLU KOŞULLARDAKİ ARPA TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ ESNASINDAKİ MİTOTİK İNDEKSE BAZI HORMON VE HORMON BENZERİ AKTİVİTE GÖSTEREN KİMYASALLARIN ÖN MUAMELELERİNİN ETKİLERİ

Kıymet DEMİR

Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri: Prof. Dr. Kudret KABAR
Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK
Yrd. Doç. Dr. Selma TABUR (Danışman)

Gerek normal gerekse tuzlu koşullar altında çimlendirilen arpa (*Hordeum vulgare* L. cv. “Bülbül 89”) tohumlarının kök uçlarında mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine gibberellik asit (GA₃), kinetin (Kin), benziladenin (BA), etilen (E), 24- epibrassinolid (EBR), triakontanol (TRIA) ve poliaminler [spermin/ Spm, spermidin/ Spd, kadaverin/ Kad, putresin/ Put]’in tek başına ve kombinasyonlar halinde etkileri araştırılmıştır.

A. Mitotik indeks üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri;

1. Optimum sıcaklık olan 20 °C’de saf su ortamında elde edilen sonuçlar

Normal koşullar altında çimlendirilen arpa tohumlarının kök uçlarındaki mitotik indeks üzerinde çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının tümü etkisiz olmuştur.

2. Optimum sıcaklık olan 20 °C’de tuzlu koşullar altında elde edilen sonuçlar

- a. Tuz, arpa tohumlarının kök ucu mitotik indeksini konsantrasyon artışına paralel olarak engellemiştir.
- b. Mitotik indeks üzerinde en olumlu etkiyi **GA₃+Kin** ön uygulaması göstermiştir.

B. Kromozom davranışları üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri;

1. Optimum sıcaklık olan 20 °C’de saf su ortamında elde edilen sonuçlar

- a. Normal koşullar altında çimlendirilen arpa tohumlarının kök uçlarındaki kromozom davranışları üzerinde, çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğunun büyüme düzenleyicisi uygulaması yapılmayan kontrol grubuna göre çeşitli tiplerde kromozom anormalliklerine sebep olduğu tespit edilmiştir.
 - b. **E** ön uygulamasının kromozom anormallik yüzdesini kontrol dahil diğer uygulamalara göre daha fazla arttırdığı gözlenmiştir.
2. Optimum sıcaklık olan 20 °C’de tuzlu koşullar altında elde edilen sonuçlar
- a. Tuz, konsantrasyon artışına paralel olarak kromozom anormallik yüzdesinde artışa neden olmuştur.
 - b. Çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğunun 0.30- 0.35- 0.40 ve 0.45 m tuzluluğun kromozom anormallik yüzdesini artırıcı etkisini hafifletmede değişik derecelerde başarılı oldukları belirlenmiştir. Ancak 0.45 m tuzluluk, kontrol grubu tohumlarında hücre bölünmesini tamamen engellediğinden dolayı kromozom anormallikleri incelenememiştir.

Anahtar Kelimeler: Arpa, bitki büyüme düzenleyicileri, kromozom anormallikleri, mitotik indeks, tuz stresi.

2007, 57 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EFFECTS OF PRE-TREATMENT OF SOME HORMONES AND CHEMICALS INDICATED ACTIVATE LIKE HORMONE ON MITOTIC INDEX DURING GERMINATION OF BARLEY SEEDS IN SALINITY CONDITION

Kıymet DEMİR

Süleyman Demirel University Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Biology

Thesis Committee: Prof. Dr. Kudret KABAR

Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK

Asst. Prof. Dr. Selma TABUR (Supervisor)

The effects of gibberellic acid (GA_3), kinetin (Kin), benzyladenine (BA), ethylene (E), 24- epibrassinolide (EBR), triacontanol (TRIA) and polyamines [spermine/ Spm, spermidine/ Spd, cadaverine/ Cad, putrescine/ Put] alone or in combinations, on mitotic index and chromosome behaviours in root tips of barley seeds (*Hordeum vulgare* L. cv. “Bülbül 89”) germinated under both normal (distilled water) and salinity conditions were studied.

A. Effects of plant growth regulators on mitotic index;

1. The results obtained at 20 °C and in distilled water

All of the growth regulators had no effect on mitotic index in root tips of barley seeds germinated under normal conditions.

2. The results obtained at 20 °C and in salinity conditions

a. In parallel with concentration rise, the negative effects of salt were increased on mitotic index in root tips of barley seeds.

b. The most effective on mitotic index showed **GA_3 +Kin** pretreatment.

B. Effects of plant growth regulators on chromosome behaviours

1. The results obtained at 20 °C and in distilled water

- a. It was determined that most of the growth regulator pre-treatment studied caused chromosome abnormalities in various types according to control groups on chromosome behaviours in root tips of barley seeds germinated under normal conditions.
 - b. It was observed that pre-treatment **E** was chromosome abnormality percentage much more than other applications including control.
2. The results obtained at 20 °C and in salinity conditions
- a. In parallel with concentration rise, salt were increased on chromosome abnormality percentage.
 - b. It was determined that most of the growth regulator pre-treatment studied were successful in alleviating the effects of 0.30- 0.35- 0.40 and 0.45 m salinity raising chromosome abnormality percents. But, chromosome abnormality could not be obtained because of 0.45 m salinity completely inhibited cell division in control group seeds.

Key Words: Barley, plant growth regulators, chromosome abnormalities, mitotic index, salt stress.

2007, 57 pages

TEŞEKKÜR

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

Çalışmalarım boyunca laboratuvar imkanlarından rahatlıkla faydalanabilmem için yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Yusuf AYVAZ'a teşekkür ederim.

Tezin deneysel ve yazım aşamalarındaki yardımlarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Kudret KABAR, Arş. Gör. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU, Arş.Gör. Semra KILIÇ ve arkadaşlarım Aslıhan CESUR ve Sıgnem ÖNEY'e teşekkür ederim.

Tezi 1167-YL-05 No'lu Proje ile destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na ve manevi desteklerini her zaman yanımda bulduğum aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Kıymet DEMİR
ISPARTA, 2007

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.2.1. Saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarında normal mitoz evreleri.....	15
Şekil 3.2.2. Çeşitli büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları ile saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallikleri.....	17
Şekil 3.3.6.1. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında profaz safhasında görülen anormallikler....	33
Şekil 3.3.6.2. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında metafaz safhasında görülen anormallikler.....	34
Şekil 3.3.6.3. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında anafaz safhasında görülen anormallikler ...	35
Şekil 3.3.6.4. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında telofaz safhasında görülen anormallikler.....	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.1. Çeşitli büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra 20 °C’de saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarındaki mitotik indeks değerleri.....	14
Çizelge 3.2.1. Çeşitli büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları ile saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallikleri yüzdesi.....	16
Çizelge 3.3.1.1. Tek başına büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri	19
Çizelge 3.3.2.1. İkili büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri.....	21
Çizelge 3.3.3.1. Üçlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri.....	23
Çizelge 3.3.4.1. Dörtlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri.....	25
Çizelge 3.3.5.1. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri	28
Çizelge 3.3.6.1. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyici ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallik yüzdeleri.....	31

1. GİRİŞ

Hücre bölünmesi, makromoleküler düzeyde karmaşık bir takım biyokimyasal olayları ihtiva eden ve birbirini izleyen çeşitli işlemler sonucu gerçekleşmektedir. Canlıların büyüme ve gelişmesi, bu canlıları oluşturan hücrelerin düzenli büyüme ve çoğalmasına bağlıdır (Berkes ve Kışlahoğlu, 1990).

Mitotik indeks ise, hücre bölünme frekansını yansıtır ve büyüme gelişme oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır. Mitotik indeksteki azalmaya paralel olarak büyüme ve gelişme olayları da yavaşlar (Jiang ve Liu, 2000).

Diğer taraftan çeşitli çevresel streslerin hücre bölünmesi ve mitotik indeks üzerinde önemli derecede azalmaya ve kromozom anormalliklerine yol açtığı da bilinmektedir (Avalbaev vd., 2003).

Çevresel streslerin en önemlilerinden biri olan tuzluluk, kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde, tarımsal üretimin başladığı çağlardan beri üreticiler için büyük bir sorun olmuştur. Dünya genelinde yağışların yıldan yıla azalması ve her yıl 10 milyon hektar arazinin tuzlanma nedeni ile elden çıkması, sorunun boyutunu daha iyi gözler önüne sermektedir (Kwiatowski, 1998). Bitkilerde, tuz stresine neden olan suda eriyebilir formdaki tuzlar, kayaların bünyesindeki primer minerallerin fiziksel parçalanma ve kimyasal ayrışmaları sonucu açığa çıkmaktadır. Ancak, tuzluluk problemi daha ziyade tuzların ayrıştıkları yerlerden sular aracılığı ile taşınıp düz ve alçak yerlerde birikmeleri sonucu oluşmaktadır. Diğer taraftan arazinin jeolojik yapısı da tuzlu toprakların oluşmasında önemli bir faktördür (Tuncay, 1983).

Tuzlu topraklar çeşitli tuz tipleri içermektedir ve bunların her biri bitki büyüme ve gelişmesi üzerinde farklı derecede etkili olmaktadır (Younis ve Hatata, 1971; Redmann, 1974; Hardegree ve Emmerich, 1990; Tobe vd., 2003). Diğer yandan tuzlu

toprakların bileşimi de bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir (Tobe vd., 2002). Toprak bünyesinde karbonatlar, sülfatlar, klorürler, nitratlar ve boratlar gibi çeşitli tuz tiplerine rastlamak mümkündür. Sodyum klorür (NaCl) ise en yaygın rastlanılan ve çözünürlüğünün çok yüksek olmasından dolayı toksik etkisi en fazla olan tuz tipidir (Çelik, 2005).

Ülkemiz topraklarının büyük bir kısmı (31 339 661 ha) arzu edildiği şekilde tuzsuzdur, bunu sırasıyla; hafif tuzlu topraklar (1 163 222 ha), orta tuzlu topraklar (219 491 ha) ve çok tuzlu topraklar (34 509 ha) izlemektedir (Haktanır vd., 2000). Halen üzerinde tarım yapılabilen ve verim gücü yüksek olan topraklarımız için de 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 en yüksek verimin alınması zorunluluğu vardır.

Toprağın tuzlanması, bitki gelişimi için hiç de uygun olmayan koşulların doğmasına yol açar. Tuzun, tohum çimlenmesi (Kabar, 1987; Al-Karaki, 2001; Dash ve Panda, 2001), fide büyümesi (Mutlu ve Bozcuk, 2000; Ashraf vd., 2002), enzim aktivasyonu (Sheoran, 1980; Prakash ve Prathapasenan, 1988), DNA, RNA ve protein sentezi (Tal, 1977; Anuradha ve Rao, 2001) ve mitoz bölünmeyi (Nieman, 1965; Bozcuk 1978) engellemek suretiyle bitki büyüme ve gelişmesi üzerinde olumsuz etki yaptığı bilinmektedir.

Öte yandan bitki büyüme maddelerinin tuzlu koşullar altındaki hücre bölünmesi ve mitotik indeks üzerine etkileri yeterince bilinmemesine rağmen, söz konusu büyüme düzenleyicilerinin normal koşullar altındaki hücre bölünmesi ve mitotik indeks üzerine etkileri ile ilgili literatür çalışmaları aşağıda özetlenmiştir:

Gibberellinlerin (GA) hücre bölünmesini teşvik edici etkisi uzun zamandan beri bilinmektedir (Salisbury ve Ross, 1992). Liu ve Loy (1976), karpuz fidelerinin

subapikal gövde meristemlerinde GA'lerin hücre çoğalmasını arttırdığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Besnard-Wibant vd. (1983), *Silene armaria* fidelerinin apikal meristeminde GA'nin hücre bölünmesini teşvik ettiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca gibberellinlerin hücre uzamasını arttırarak da büyüme ve gelişme olaylarında etkili oldukları vurgulanmıştır (VanDerZanden, 1999).

Sitokininlerin hücre bölünmesi üzerinde, yüksek konsantrasyonlarda daha fazla etkili oldukları ileri sürülmektedir (Palmer ve Gunning, 1984). Benzer şekilde çimlenme esnasında mitotik aktiviteyi teşvik etmek suretiyle rol oynadıkları da rapor edilmiştir (Werner vd., 2001). Ancak Tomaszewska-Sowa vd. (2002), *Capsicum annuum* L. (biber) tohumları ile yaptıkları çalışmada yüksek konsantrasyonlardaki sitokinin uygulamasının geri kalmış kromozom ve anafaz köprüleri oluşturarak mitoz bölünmeyi bozduğunu ileri sürmüşlerdir.

Hücre bölünmesinde etilenin (E) rolü tam olarak açıklanamamıştır. Barlow (1976), *Pisum sativum* (bezelye) ve *Zea mays* (mısır) tohumları ile yaptığı çalışmada E'in hücre bölünmesini engellediğini tespit etmiştir. Ancak Rost vd. (1996) ise bezelye tohumları ile yaptıkları çalışmada etilenin hücre bölünmesini teşvik ettiğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan *Vicia faba* (bakla) tohumları ile yapılan çalışmada E'in düşük konsantrasyonlarda mitoz bölünmeyi etkilemediği, yüksek konsantrasyonlarda ise engelleyici etki yaptığı bildirilmiştir (Powell vd., 1973).

Brassinlerin (BR) hücre bölünmesi üzerinde olumlu ya da olumsuz yönde etkili olabilecekleri ileri sürülmüştür (Clouse ve Zurek, 1991; Oh ve Clouse, 1998; Miyazawa vd., 2003). Bazı araştırmacıların BR'lerin hücre bölünmesini teşvik ettiklerini ileri sürmesine (Roth vd., 1989; Worley ve Mitchell, 1971; Grove vd., 1979) karşın, bazı araştırmacılar ise engelleyici etki gösterdiklerini vurgulamışlardır (Sala ve Sala, 1985). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda BR'lerin düşük konsantrasyonlarda kök uzaması ve mitoz bölünmeyi teşvik ettiği, yüksek konsantrasyonlarda ise engelleyici etki yaptığı rapor edilmiştir (Hu vd., 2000; Howell vd., 2007).

1933 yılında bulunup (Chibnall vd., 1933) ancak 1970'li yılların (Ries vd., 1977) sonlarına doğru kimyasal özellikleri tanımlanmaya başlayan triakontanolün (TRIA) hücre bölünmesi ve protein sentezini arttırdığı tespit edilmiştir (Knowles ve Ries, 1981). Ayrıca TRIA'nın kök büyümesini bitki türüne ve uygulanan konsantrasyonuna bağlı olarak engellediği veya teşvik ettiği ileri sürülmüştür (Somen ve Seethalakshmi, 1991; Kumaravelu vd., 2000). Görüldüğü gibi TRIA'nın hücre bölünmesi ve mitotik indeks ile ilgili araştırma raporları hem yetersiz sayıda hem de ihtilaflıdır.

Hücre bölünmesinde poliaminlerin (PA) (spermin/Spm, spermidin/Spd, putresin/Put, kadaverin/Kad) rolü tam olarak açıklanamamıştır. Bazı araştırmacılar hücre bölünmesinin, PA sentezindeki artışın bir sonucu olduğunu ileri sürerken (Smith ve Best, 1977; Costa ve Bagni, 1983) bazı araştırmacılar ise dışarıdan PA tatbikinin hücre bölünmesi üzerinde engelleyici etki yaptığını rapor etmişlerdir (De Agazio vd., 1992; Gatta vd., 1992). De Agazio vd. (1995), mısırdaki kök büyüme engellenmesinin, mitotik indeks ve hücre uzamasındaki azalmadan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde İsmailoğlu vd. (2004) PA'lerin; diploid, tetraploid ve hekzaploid buğdayların kök ucu hücrelerinde mitotik düzensizliklere ve mitotik indekste azalmaya neden olarak kök büyümesini engellediklerini rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar diploid türlerin tetraploid ve hekzaploid türlere göre PA'lere karşı daha duyarlı olduklarını gözlemlemişlerdir.

Diğer yandan PA'lerin kromozom davranışları üzerine etkileri yeterince bilinmemesine karşın Ünal vd. (2002) arpa tohumları ile yaptıkları çalışmada Put ön uygulamasının mitotik anormalliklere neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu tez çalışmasında;

- Yukarıda adı geçen ve yeni yeni kullanılmaya başlanan büyüme düzenleyicisi kimyasalların, normal koşullarda çimlendirilen arpa tohumlarının kök uçlarında mitotik indeks, kromozom yapı ve davranışlarına etkilerini gözlemek ve yıllardır bilinip kullanılan gibberellin, sitokinin ve etilen gibi hormonların etkileri ile karşılaştırmak,
- Tuz stresinin sözü edilen parametreler üzerindeki olumsuz etkilerinin hafifletilmesinde yine bu yeni kimyasalların etkilerini görmek ve geleneksel hormonlarla karşılaştırmak,
- Bu hormon ve hormon benzeri aktivite gösteren kimyasalların tuz stresini ne derece yenebileceğini, hücrelerin mitoz bölünmeye girmesini teşvik edip etmediğini ve kromozomların yapısında ve davranışında herhangi bir değişikliğe neden olup olmadığını bir ölçüde açıklığa kavuşturmak amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Deneylerde Kullanılan Tohumlar

Deneylerde, Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden sağlanan 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 kurutulmuşlardır (Baltepe ve Mert, 1973).

2.2. Tuz (NaCl) Çözeltilerinin Hazırlanması

Deneylerde kullanılan NaCl, Merck firmasından sağlanmıştır. Kullanılan tuz konsantrasyonları molal olarak: 0.30- 0.35- 0.40- 0.45 m'dır.

2.3. Hormon Çözeltilerinin Hazırlanması

Deneylerde kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri gibberellik asit (GA₃), kinetin (Kin), benziladenin (BA), etilen (E), 24- epibrassinolid (EBR), triakontanol (TRIA), putressin (Put), spermin (Spm), spermidin (Spd) ve kadaverin (Kad)'dir. Bu hormonlar Fluka ve Sigma-Aldrich firmalarından sağlanmıştır. Deneylerde konsantrasyonları bir ön çalışma sonucu saptanan 900 µM GA₃, 100 µM Kin, 100 µM BA, 400 µM E, 3 µM EBR, 10 µM TRIA, 10 µM Spm, 10 µM Spd, 10 µM Put, 10 µM Kad kullanılmıştır.

Yukarıda adı geçen büyüme düzenleyicilerinin her birinden stok çözeltiler hazırlanmıştır.

Bu amaçla gerekli miktarda GA_3 hassas terazide tartıldıktan sonra birkaç damla metanolde (Weast ve Astle,1980), Kin 3- 4 damla konsantre HCl'de (Bozcuk, 1978), Spm, Spd, Put, Kad ve E saf suda (Baskin vd., 2003; Suresh vd., 2004), BA 1- 2 ml 0,3 N KOH'da (Piazza vd., 2002), EBR birkaç damla etanolde (Dhaubhadel vd., 1999), TRIA 0,75 ml $CHCl_3$ içerisinde (Giridhar vd., 2004) çözündürülüp saf su ile litreye tamamlanmak suretiyle hazırlanmıştır. EBR dışındaki tüm büyüme düzenleyicileri ve tuz çözeltileri kullanılmadıkları sürece + 4 °C'de buzdolabında saklanmışlardır. EBR ise - 25 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.4. İlk İşlem Çözeltisinin Hazırlanması

İlk işlem çözeltisi olarak, doymuş paradiklorbenzen çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti, içerisinde 500 cm³ distile su bulunan ağzı mantar kapaklı bir şişe içerisine, 10 gr paradiklorbenzen kristalinin konularak bu karışımın bir gece 60 °C'ye ayarlı etüvde bekletilmek suretiyle hazırlanmıştır (Elçi, 1982).

2.5. Tespit Çözeltisinin Hazırlanması

Tespit çözeltisi olarak asetik alkol kullanılmıştır. Çözelti, McLean ve Cook (1941) ve Sass (1951)'in metoduna göre; 1 kısım glasial asetik asitin, 3 kısım absölü alkol ile karıştırılması suretiyle hazırlanmıştır (Elçi, 1982).

2.6. Boyanın Hazırlanması

Mitoz bölünme ve kromozomların iyi bir şekilde görünebilmesini sağlamak amacıyla, yapısında kristal halde fuksin bazik bulunan Feulgen boyası kullanılmıştır.

Feulgen boyası, Darlington ve La Cour (1976) ve Elçi (1982)'nin metoduna göre aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

- 1 g kristal haldeki fuksin bazik alınarak 8 cm çapında bir saat camı içerisinde ezilmiştir.
- 500 cm³'lük bir erlenmayere, ezilerek toz haline getirilmiş fuksin bazik kabın etrafına bulaştırmadan konulmuştur.
- Başka bir erlenmayerde 200 cm³ distile su kaynatılmıştır.
- Toz halindeki fuksin bazik üzerine kaynatılmış distile su yavaş yavaş dökülerek bir cam çubuk yardımı ile sürekli karıştırılmıştır.
- Boya 50 °C'ye düşürülünceye kadar karıştırılmaya devam edilmiştir.
- Boyaya 20 cm³ HCl ilave edilerek filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür.
- Süzölen boyaya 2 g potasyum metabisülfid ($K_2S_2O_3$) eklenerek 2 dakika süresince karıştırılmaya devam edilmiş ve boya kapaklı bir şişeye konularak 24 saat buzdolabında bekletilmiştir. Açık çay rengini alan boya kullanıma hazır hale gelmiştir. Sonraki kullanımlar için boya + 4 °C'de buzdolabında depolanmıştır.

2.7. Tohumların Çimlendirilmesi

Çimlendirme deneyleri sabit sıcaklıkta (20 °C), sürekli karanlıkta ve etüvde yapılmıştır.

Önce; yeterli sayıda, dolgun görünüşlü, sağlam ve az çok benzer büyüklükte olan tohumlar seçilerek beherde, belirli hacimdeki (50 ml) saf su (kontrol, K), GA₃, Kin, BA, E, EBR, TRIA, Spm, Spd, Put, Kad'in tek başlarına ve ikili, üçlü, dörtlü kombinasyonlarında 24 saat oda sıcaklığında ön uygulamaya tabi tutulmuşlardır. Bu ön uygulama sonunda çözeltiler derhal süzülüp tohumlar vakumda kurutulmuştur (Braun ve Khan, 1976). Her uygulamaya ait tohumlar, tabanı, 115 °C'ye ayarlı etüvde sterilize edilmiş iki tabaka filtre kağıdı ile kaplı ve 7 ml çeşitli konsantrasyonlarda NaCl (0.0- 0.30- 0.35- 0.40- 0.45 m) çözeltileri içeren, önceden otoklavda sterilize edilmiş 10 cm çaplı petriler içine hilumları altta olacak şekilde düzenli olarak yerleştirilmiştir. Ekimin hemen ardından yukarıda belirtilen sabit sıcaklığa ayarlı etüve çimlenmek üzere yerleştirilmiştir (Çavuşoğlu, 2006).

2.8. Kök Uçlarının Elde Edilmesi

20 °C'de etüvde çimlendirilen tohumlardan çıkan ve 1- 1,5 cm uzunluğa ulaşan kök uçları kesilerek küçük şişeler içerisine alınıp paradiklorbenzen ile 4 saat süreyle ilk işleme tabi tutulmuştur. Daha sonra kök uçları asetik alkol (1:3) tespit çözeltilisinde 24 saat bekletilmiştir. Tespit işleminden sonra kök uçları preparat hazırlanması ve incelenmesi aşamalarında kullanılmak üzere içerisinde % 70'lik alkol bulunan küçük şişelere alınarak + 4 °C'de buzdolabında depolanmıştır (Hill ve Myers, 1945).

2.9. Boyamanın Yapılması

% 70'lik alkolden çıkarılan kök uçları birkaç kez musluk suyu ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası kök uçları 1 N HCl içerisinde 60 °C'ye ayarlanmış etüvde, gruplara göre değişen sürelerde (15- 18 dk) sıcak hidroliz yapılmıştır. Ayrıca yüksek tuz konsantrasyon grupları için 26 °C'de, 5 N HCl kullanılarak soğuk hidroliz yapılmıştır (Fox, 1969).

Hidroliz işlemi sonrası kök uçları tekrar musluk suyu ile yıkanarak gruplara göre değişen sürelerde (1- 1,5 saat) Feulgen içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra boyamanın daha iyi olabilmesi için kök uçları 15 dakika kadar musluk suyunda bekletilmiştir (Elçi, 1982).

2.10. Preparatların Hazırlanması

Preparat hazırlamak için; % 45'lik asetik asitten bir damla lam üzerine konulup keskin bir jiletle kök ucunun koyu viole renk almış olan 1- 2 mm'lik uç kısmı kesilmiştir. % 45'lik asetik asitten ok uçlu iğne yardımıyla bir damla alınarak kesilen kök ucunun üzerine getirilmiş ve sonra kök ucu bu damla içerisinde jilet yardımıyla iyice parçalanmıştır. Bu parçacıkların üzerine lamel kapatılmıştır. Bir elin başparmağı ile lamel oynatmadan tutularak diğer ele alınan kurşun kalemin arka kısmıyla lamele hafif hafif 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 hava kabarcıkları giderilmiştir. Fazla asit kurutma kağıdı ile çekilmiştir. Daha sonra, preparat kurutma kağıdı arasına konulmuş ve lamelin her tarafına aynı şiddetle temas edecek şekilde başparmak ile kuvvetlice bastırılmıştır. Böylece, parçacıkların tek bir hücre tabakası haline gelmesi sağlanmıştır (Elçi, 1982).

2.11. 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 içi kısmına ve kapağın iç tarafına kurutma kağıdı yerleştirilmiştir. Kapağa ve kabın iç çeperlerine yerleştirilen kurutma kağıdı absölü alkol ile nemlendirilmiş ve kabın dip kısmına 3- 4

mm kadar absolü alkol konulmuştur. Alkol buharının uçmasını önlemek için kabın ağzına ve kapağın etrafına vazelin sürülmüştür.

Devamlı yapılmak istenen preparatlara, gerekli bilgilerin yazılı olduğu etiketler yapıştırılmıştır. Preparatlar, yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan şalelere konulmuş ve bir gece 0- 4 °C’de buzdolabında bekletilmiştir. Ertesi gün buradan çıkarılan preparatlar, içine ve kapağına, absolü alkol ile nemlendirilmiş kurutma kağıdı yerleştirilmiş olan petri kutularının içine konulmuştur. Lamelin iki kenarına birer damla kanada balsamı damlatılmış ve bu damlalar lamelin üç kenarını kapatacak şekilde yayılmıştır. Petri kutusunun kapağı kapatılarak 4- 5 gün oda sıcaklığında bekletilmiştir. Böylece kurutulan preparatlar, devamlı preparat haline getirilmiştir (Elçi, 1982).

2.12. Veri Analizlerinin ve İstatistiksel Değerlendirmelerin Yapılması

2.12.1. Mitotik İndeksin Belirlenmesi

Hazırlanan preparatlar mikroskopta 100X büyütmede incelenmiş ve her konsantrasyon ve uygulama için 3 tekrar yapılarak yaklaşık 15000 hücre sayılmıştır. Daha sonra mitoz bölünmedeki hücreler sayılıp mitotik indeks;

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

formülü ile belirlenmiştir.

2.12.2. Kromozom Anormalliklerinin Belirlenmesi

Preparatların mikroskopik gözlemleri sırasında, mikronükleus, karışık metafaz, metafazda ekvatoryal plağın parçalara bölünmesi, metafazda kromozom halkalanmaları ve kromozomların sarmalanamaması, düzensiz anafaz, anafaz ve telofazda kromozom köprüleri, geride kalmış kromozomlar ve telofazda yanlış kutuplaşma gibi kromozom anormalliklerine dikkat edilerek, kromozom anormallikleri yüzdesi;

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

formülü ile belirlenmiştir.

Kromozom anormalliklerinin fotoğrafları, Olympus CX41 Araştırma mikroskopunda 100X büyütme ile ve C- 5060 WZ marka fotoğraf makinesi ile çekilmiştir.

2.12.3. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm parametrelerle ilgili istatistiksel değerlendirme SPSS 14.0 programı kullanılarak Duncan's multiple range testine göre gerçekleştirilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Gibberellin, sitokinin ve etilenin hücre bölünmesi ve hücre uzamasını teşvik ederek büyümeyi artırıcı yönde etki ettikleri bilinmektedir. Ancak EBR, TRIA ve PA'ler gibi hormon ve hormon benzeri aktivite gösteren kimyasalların hücre bölünmesine etkileri tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu nedenle, normal ve tuzlu koşullardaki tohum çimlenmesi sırasında bu kimyasalların mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerindeki etkilerini incelemek ve bunları bilinenlerle karşılaştırmak amacıyla bu çalışma düzenlenmiştir.

3.1. Saf Su Ortamında Tek Başına Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamasının Mitotik İndeks Üzerine Etkileri

Materyal ve Yöntem bölümünde de belirtildiği gibi, çeşitli büyüme düzenleyicileri ile ön uygulamaya tabi tutulan arpa tohumları 20 °C'de ve saf su ortamında çimlendirilmeye bırakılmışlardır. Çimlenmiş tohumlardan elde edilen kök uçları ile preparatlar hazırlanmıştır. Bu preparatlarda yapılan hücre sayım işlemleri sonucunda hesaplanan mitotik indeks değerleri Çizelge 3.1.1'de verilmiştir.

Çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının tümü, saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarının mitotik indeksi üzerinde kontrole (K) göre engelleyici bir etki göstermişlerdir. Diğer bir ifadeyle, kontrol tohumlarının mitotik indeksinin büyüme düzenleyicisi ön uygulamalı tohumlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak tüm büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları göz önüne alındığında mitotik indeks üzerinde E ön uygulaması diğer ön uygulamalara göre daha başarılı olurken, TRIA ön uygulamasının bu parametre üzerinde son derece etkisiz olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3.1.1).

Çizelge 3.1.1. Çeşitli büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra 20 °C’de saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarındaki mitotik indeks değerleri

Büyüme Düzenleyicileri (µM)	Mitotik İndeks
Kontrol (Saf su)	*0.16±0.02 ^d
GA₃	0.07±0.00 ^{abc}
Kin	0.08±0.00 ^{bc}
BA	0.05±0.01 ^{ab}
E	0.09±0.01 ^c
EBR	0.07±0.03 ^{abc}
Put	0.07±0.01 ^{abc}
Spm	0.06±0.01 ^{abc}
Spd	0.05±0.00 ^{ab}
Kad	0.06±0.01 ^{abc}
TRIA	0.04±0.00 ^a

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

3.2. Saf Su Ortamında Tek Başına Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamasının Kromozom Davranışlarına Etkileri

Çeşitli büyüme düzenleyicileriyle ön uygulamaya tabi tutulan ve 20 °C’de saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarından elde edilen kök uçlarından hazırlanan preparatlarda gözlenen kromozom davranışları Şekil 3.2.1 ve Şekil 3.2.2’de gösterilmiştir. Kromozom anormalliklerinin yüzde oranları ise, Çizelge 3.2.1’de verilmiştir.

Yapılan incelemeler sonucunda saf su ortamında çimlendirilen kontrol grubu arpa tohumlarının hücrelerindeki kromozom yapılarında her hangi bir anormalliğe rastlanılmamış ve mitoz bölünmenin tüm evreleri normal şekilde gözlenmiştir (Şekil 3.2.1).



Şekil 3.2.1. Saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarında normal mitoz evreleri: a) Profaz; b) Metafaz $2n = 14$ kromozom; c) Anafaz; d) Telofaz

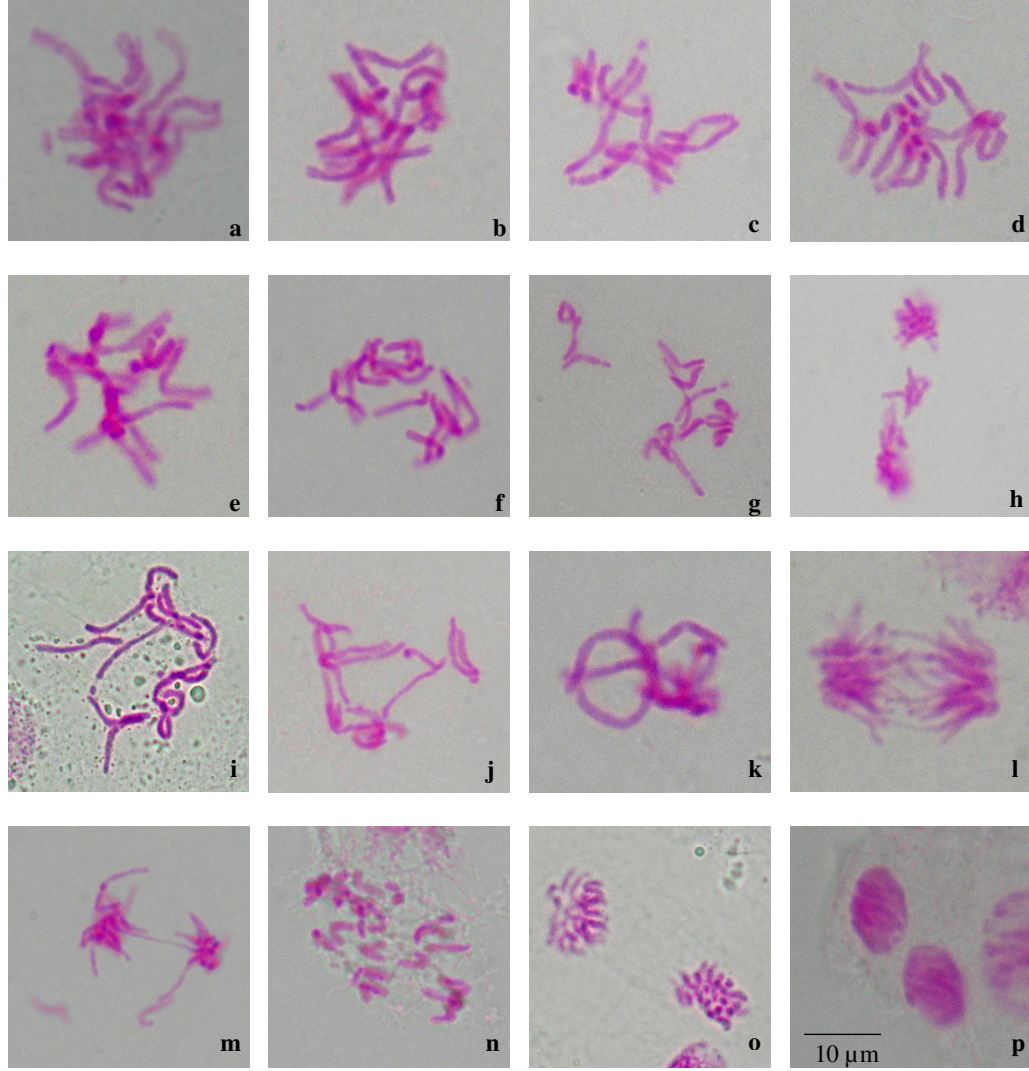
Kromozom anormalliklerini belirlemek üzere yapılan sitolojik incelemeler sonucunda, saf su ortamında çimlendirilen kontrol grubu arpa tohumlarının kromozom yapılarında herhangi bir anormalliğe rastlanılmamasına karşın, çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğunda çeşitli tiplerde kromozom anormallikleri tespit edilmiştir. Ancak GA_3 , BA ve Spd ön uygulamalı tohumlarda ise herhangi bir anormalliğe rastlanmamıştır. Özellikle E ön uygulamalı tohumlarda kromozom anormallikleri yüzdesinin diğer ön uygulamalılarına göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.2.1).

Çizelge 3.2.1. Çeşitli büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları ile saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallikleri yüzdesi

Büyüme Düzenleyicileri (μM)	Kromozom Anormallikleri (%)
Kontrol (Saf su)	* 0.0 ± 0.00^a
GA_3	0.0 ± 0.00^a
Kin	2.53 ± 0.00^f
BA	0.0 ± 0.00^a
E	2.95 ± 0.00^h
EBR	2.73 ± 0.01^g
Put	1.93 ± 0.00^e
Spm	1.51 ± 0.00^c
Spd	0.0 ± 0.00^a
Kad	0.93 ± 0.01^b
TRIA	1.78 ± 0.01^d

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

Söz konusu kromozom anormalliklerinin çoğu; karışık metafaz (a-f), metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi (g, h), metafazda kromozomların sarmalanamaması (i, j), metafazda kromozom halkalanması (k), anafazda kromozom köprüleri (l, m), düzensiz anafaz (n) ve telofazda yanlış kutuplaşma (o, p) şeklindedir (Şekil 3.2.2 a-p).



Şekil 3.2.2. Çeşitli büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları ile saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallikleri: a-f) Karışık metafaz; g, h) Metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi; i, j) Metafazda kromozomların sarmalanamaması; k) Metafazda kromozom halkalanması; l, m) Anafazda kromozom köprüleri; n) Düzensiz anafaz; o, p) Telofazda yanlış kutuplaşma

3.3. Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamalarının Optimum Sıcaklık Olan 20 °C’de Tuzlu Koşullar Altındaki Mitotik İndeks Üzerine Etkileri

Gibberellin, sitokinin ve etilen gibi geleneksel hormonların ve EBR, TRIA ve PA’ler gibi son 20- 30 yılda kullanılmaya başlanan büyüme düzenleyicisi kimyasalların tuzlu koşullar altındaki tohum çimlenmesi sırasındaki mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine etkilerini belirlemek amacıyla bu çalışma düzenlenmiştir.

3.3.1. Tek Başına Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulaması İle Elde Edilen Sonuçlar

Tuzlu koşullar altındaki, çimlenme esnasında mitotik indeks değerine büyüme düzenleyicilerinin tek başlarına etkinlik derecelerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmadan elde edilen mitotik indeks değerleri Çizelge 3.3.1.1’de verilmiştir.

Tuz, konsantrasyon artışına paralel olarak, kontrol ve uygulama gruplarında arpa tohumlarının mitotik indeksini azaltıcı etkisini, çoğunlukla arttırmıştır. Örneğin; saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarının mitotik indeksi 0.16 iken (Bkz. Çizelge 3.1.1), 0.30 m tuzlulukta bu değer, 0.06; 0.35 m’da 0.03; 0.40 m’da 0.02; daha yüksek tuz eşiğinde ise 0.00 olmuştur. 0.30 m’da Kin, 0.35 ve 0.40 m’da GA₃, 0.45 m’da GA₃ ve Kin haricinde çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının tümü tuz stresinin mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede başarılı olamamışlardır (Çizelge 3.3.1.1).

Çizelge 3.3.1.1. Tek başına büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri

Büyüme Düzenleyicileri (μ M)	Mitotik İndeks			
	NaCl (m)			
	0.30	0.35	0.40	0.45
Kontrol (Saf su)	*0.06 $\pm$ 0.00 ^k	0.03 $\pm$ 0.01 ^{fghi}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}
GA₃	0.05 $\pm$ 0.01 ^{jk}	0.04 $\pm$ 0.01 ^{hij}	0.04 $\pm$ 0.01 ^{hij}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}
Kin	0.08 $\pm$ 0.00 ^l	0.03 $\pm$ 0.00 ^{fghi}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}
BA	0.03 $\pm$ 0.01 ^{fghi}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	-	-
E	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}	-
EBR	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}	-	-
Put	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	-
Spm	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}	-
Spd	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	-
Kad	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcdef}	-	-
TRIA	0.03 $\pm$ 0.00 ^{fghi}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}	-	-

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

- işaretli tuz konsantrasyonlarında çimlenme gerçekleşmediğinden çalışılmamıştır.

3.3.2. İkili Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonları İle Elde Edilen Sonuçlar

İkili büyüme düzenleyicisi kombinasyonları ile ön uygulamaya tabi tutulan arpa tohumlarındaki mitotik indeks değerleri Çizelge 3.3.2.1’de verilmiştir.

GA_3 +Kin ön uygulaması haricinde çalışılan büyüme düzenleyicilerinin tümü 0.30 m NaCl’ün mitotik indeksi engelleyici etkisini hafifletmede başarılı olamamışlardır (Çizelge 3.3.2.1). GA_3 +Kin kombinasyonu mitotik indeksi kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat (0.11) arttırmayı başarmıştır.

GA_3 +Kin, GA_3 +BA, GA_3 +Put ve GA_3 +Kad haricindeki büyüme düzenleyicisi uygulamaları, 0.35 ve 0.40 m tuz seviyelerinde de varlık gösterememişlerdir.

0.45 m tuzlulukta ise GA_3 +Kad haricindeki diğer GA_3 ’lü kombinasyonlar tuz stresinin bu parametre üzerindeki engelleyici etkisini değişik derecelerde hafifletmeyi başarmışlardır. Bu tuzlulukta GA_3 ’ün içinde bulunmadığı kombinasyonlar başarı gösterememişlerdir.

Tüm tuz seviyeleri dikkate alındığında ise, en olumlu etkiyi GA_3 +Kin ön uygulamasının yaptığı tespit edilmiştir.

Diğer taraftan tuz stresinin mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede ikili kombinasyonların tek başına ön uygulamalara göre daha başarılı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.3.2.1).

Çizelge 3.3.2.1. İkili büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri

Büyüme Düzenleyicileri (µM)	Mitotik İndeks			
	NaCl (m)			
	0.30	0.35	0.40	0.45
Kontrol(Saf su)	*0.06±0.00 ^m	0.03±0.01 ^{efghijk}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}	0.00±0.00 ^{ab}
GA ₃ +Kin	0.11±0.01 ⁿ	0.10±0.01 ⁿ	0.06±0.01 ^m	0.05±0.01 ^{klm}
GA ₃ +BA	0.04±0.01 ^{hijkl}	0.03±0.01 ^{efghijk}	0.03±0.00 ^{efghijk}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}
GA ₃ +E	0.03±0.01 ^{efghijk}	0.03±0.01 ^{efghijk}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}	0.01±0.00 ^{abcde}
GA ₃ +EBR	0.04±0.01 ^{hijkl}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}
GA ₃ +Put	0.05±0.00 ^{klm}	0.04±0.00 ^{hijkl}	0.03±0.00 ^{efghijk}	0.02±0.00 ^{bcdefgh}
GA ₃ +Spm	0.03±0.00 ^{efghijk}	0.02±0.01 ^{bcdefgh}	0,01±0.00 ^{abcde}	0,01±0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Spd	0.02±0.0 ^{bcdefgh}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kad	0.04±0.00 ^{hijkl}	0.04±0.00 ^{hijkl}	0.03±0.00 ^{efghijk}	0.00±0.00 ^{ab}
Kin+EBR	0.02±0.00 ^{bcdefgh}	-	-	-
Kin+Put	0.02±0.01 ^{bcdefgh}	-	-	-
Kin+Spd	0.03±0.00 ^{efghijk}	-	-	-
Kin+Kad	0.02±0.00 ^{bcdefgh}	-	-	-
Kin+Spm	0.04±0.00 ^{hijkl}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	-
EBR+Spm	0.02±0.01 ^{bcdefgh}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{ab}	-
EBR+Spd	0.03±0.01 ^{efghijk}	-	-	-
EBR+Put	0.01±0.00 ^{abcde}	-	-	-
EBR+Kad	0.01±0.00 ^{abcde}	-	-	-

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

- işaretli tuz konsantrasyonlarında çimlenme gerçekleşmediğinden çalışılmamıştır.

3.3.3. Üçlü Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonları İle Elde Edilen Sonuçlar

Üçlü büyüme düzenleyicisi kombinasyonları ile ön uygulamaya tabi tutulan arpa tohumlarındaki mitotik indeks değerleri Çizelge 3.3.3.1’de verilmiştir.

Çalışılan üçlü büyüme düzenleyicisi kombinasyonlarının tümü 0.30 m NaCl’ün mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede başarısız olmuşlardır.

0.35 m ve 0.40 m tuzlulukta ise GA₃+EBR+Put dışındaki tüm ön uygulamaların etkisiz oldukları gözlenmiştir.

0.45 tuzlulukta ise çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğu kısmen de olsa, tuz stresinin bu parametre üzerindeki engelleyici etkisini hafifletmeyi başarmışlardır.

Tüm tuz seviyeleri dikkate alındığında en olumlu etkiyi 0.35 ve 0.40 m NaCl’de GA₃+EBR+Put ve 0.45 m NaCl’de GA₃+Kin+Kad ön uygulamaları göstermiştir.

Diğer taraftan tuz stresinin mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede üçlü kombinasyonların ikili kombinasyonlara göre daha az başarılı oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 3.3.3.1).

Çizelge 3.3.3.1. Üçlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri

Büyüme Düzenleyicileri (μ M)	Mitotik İndeks			
	NaCl (m)			
	0.30	0.35	0.40	0.45
Kontrol (Saf su)	*0.06 $\pm$ 0.00 ^m	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efghijk}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}
GA ₃ +Kin+Put	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efghijk}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kin+Spm	0.04 $\pm$ 0.00 ^{hijkl}	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efghijk}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kin+Spd	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efghijk}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kin+Kad	0.04 $\pm$ 0.01 ^{hijkl}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}
GA ₃ +Kin+EBR	0.04 $\pm$ 0.01 ^{hijkl}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.01 ^{abcde}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}
GA ₃ +Kin+E	0.03 $\pm$ 0.00 ^{efghijk}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{efghijk}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +EBR+Put	0.05 $\pm$ 0.01 ^{klm}	0.05 $\pm$ 0.00 ^{klm}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{efghijk}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +EBR+Spm	0.04 $\pm$ 0.00 ^{hijkl}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +EBR+Spd	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efghijk}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}
GA ₃ +EBR+Kad	0.04 $\pm$ 0.00 ^{hijkl}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{efghijk}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefgh}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{ab}

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

3.3.4. Dörtlü Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonları İle Elde Edilen Sonuçlar

Dörtlü büyüme düzenleyicisi kombinasyonları ile ön uygulamaya tabi tutulan arpa tohumlarındaki mitotik indeks değerleri Çizelge 3.3.4.1’de verilmiştir.

Çalışılan dörtlü büyüme düzenleyicisi kombinasyonların tümü 0.30 m NaCl’ün mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede etkisiz olmuşlardır.

0.35 ve 0.40 m tuzlulukta ise GA_3 +Kin+EBR+Kad haricinde çalışılan tüm ön uygulamaların başarısız oldukları tespit edilmiştir.

0.45 m gibi yüksek tuzlulukta ise dörtlü kombinasyon ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğu söz konusu tuz seviyesinin mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırmada başarısız olurken, en olumlu etkiyi yine GA_3 +Kin+EBR+Kad ön uygulaması göstermiştir (Çizelge 3.3.4.1).

Diğer yandan dörtlü kombinasyonların, tek başına, ikili ve üçlü kombinasyonlar kadar başarılı olamadıkları tespit edilmiştir (Çizelge 3.3.4.1).

Çizelge 3.3.4.1. Dörtlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri

Büyüme Düzenleyicileri (μ M)	Mitotik İndeks			
	NaCl (m)			
	0.30	0.35	0.40	0.45
Kontrol (Saf su)	*0.06 $\pm$ 0.00 ^j	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefg}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+EBR+Put	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efgh}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefg}	0.01 $\pm$ 0.01 ^{abcde}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+EBR+Spm	0.04 $\pm$ 0.00 ^{ghi}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefg}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefg}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+EBR+Spd	0.05 $\pm$ 0.01 ^{ij}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefg}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefg}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kin+EBR+Kad	0.05 $\pm$ 0.00 ^{ij}	0.04 $\pm$ 0.00 ^{ghi}	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{bcde}
GA ₃ +Kin+E+Put	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefg}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+E+Spm	0.03 $\pm$ 0.00 ^{efgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefg}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefg}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kin+E+Spd	0.04 $\pm$ 0.01 ^{ghi}	0.03 $\pm$ 0.01 ^{efgh}	0.02 $\pm$ 0.00 ^{cdefg}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}
GA ₃ +Kin+E+Kad	0.03 $\pm$ 0.00 ^{efgh}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+E+EBR	0.02 $\pm$ 0.01 ^{cdefg}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.01 $\pm$ 0.00 ^{abcde}	0.00 $\pm$ 0.00 ^{abc}

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

3.3.5. Tüm Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamalarının Tuzlu Koşullar Altındaki Mitotik İndeks Üzerine Etkileri

Bu bölüme kadar olan kısımda tek başına, ikili, üçlü ve dörtlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarına tabi tutulan ve tuzlu koşullar altında çimlendirilen arpa tohumlarının mitotik indeksi üzerine etkileri ayrı başlıklar altında sunulmuştur. Ancak söz konusu büyüme düzenleyicilerinin mitotik indeks üzerindeki etkilerini birbirleriyle de karşılaştırabilmek amacıyla ek bir çizelge düzenlenmiştir (Çizelge 3.3.5.1).

Daha önce belirtildiği gibi tuz, konsantrasyon artışına paralel olarak mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini arttırmıştır. Örneğin; saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarının mitotik indeks değeri 0.16 (Bkz. Çizelge 3.1.1) iken, bu değer 0.30 m tuzlulukta 0.06; 0.35 m tuzlulukta 0.03; 0.40 m tuzlulukta 0.02 ve daha yüksek tuz seviyesi olan 0.45 m’da ise 0.00 olmuştur (Çizelge 3.3.5.1).

Kin ve GA₃+Kin haricinde çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının tümü 0.30 m NaCl’ün mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmeyi başaramamıştır. Söz konusu tuz seviyesinde en olumlu etkiyi GA₃+Kin ön uygulaması göstermiştir. GA₃+Kin ön uygulaması kontrol grubuna göre mitotik indeksi 2 kat arttırmıştır (Çizelge 3.3.5.1).

Çalışılan büyüme düzenleyicilerinin büyük bir çoğunluğu 0.35 ve 0.40 m NaCl’ün mitotik indeks üzerindeki engelleyici etkisini ortadan kaldırmada etkisiz olmuştur. Tek başına büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sadece GA₃ olumlu etki gösterirken, ikili kombinasyonlar arasında özellikle GA₃ ile oluşturulan kombinasyonların daha etkili olduğu belirlenmiştir. Söz konusu tuz seviyelerinde en olumlu etkiyi yine GA₃+Kin ön uygulaması göstermiştir (Çizelge 3.3.5.1).

0.45 m tuzlulukta ise çalışılan büyüme düzenleyicisi n uygulamalarının büyük bir çoğunluğunun mitotik indeks üzerinde olumlu bir etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu tuz seviyesinde en olumlu etkiyi diğer tuz seviyelerinde olduğu gibi yine GA₃+Kin n uygulaması göstermiştir. GA₃+Kin n uygulaması mitotik indeksi kontrol grubuna göre 5 kat arttırmıştır (izelge 3.3.5.1).

Çizelge 3.3.5.1. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamasından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl’lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında mitotik indeks değerleri

Büyüme Düzenleyicileri (µM)	Mitotik İndeks			
	NaCl (m)			
	0.30	0.35	0.40	0.45
Kontrol (Saf su)	*0.06±0.00 ⁱ	0.03±0.01 ^{efghi}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃	0.05±0.01 ^{ghi}	0.04±0.01 ^{ghij}	0.04±0.01 ^h	0.02±0.00 ^{efg}
Kin	0.08±0.00 ^j	0.03±0.00 ^{efghi}	0.02±0.01 ^{cdefg}	0.02±0.01 ^{efg}
BA	0.03±0.01 ^{abcdefg}	0.01±0.00 ^{abcde}	-	-
E	0.02±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{ab}	-
EBR	0.01±0.00 ^{ab}	0.00±0.00 ^{ab}	-	-
Put	0.02±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	-
Spm	0.02±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{ab}	-
Spd	0.02±0.01 ^{abcde}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.01±0.00 ^{abcde}	-
Kad	0.01±0.00 ^{ab}	0.01±0.00 ^{abcde}	-	-
TRIA	0.03±0.00 ^{abcdefg}	0.02±0.01 ^{bcdefg}	-	-
GA ₃ +Kin	0.11±0.01 ^k	0.10±0.01 ^k	0.06±0.01 ⁱ	0.05±0.01 ^h
GA ₃ +BA	0.04±0.01 ^{defgh}	0.03±0.01 ^{efghi}	0.03±0.00 ^{fgh}	0.02±0.00 ^{efg}
GA ₃ +E	0.03±0.01 ^{abcdefg}	0.03±0.01 ^{efghi}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +EBR	0.04±0.01 ^{defgh}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.02±0.00 ^{efg}
GA ₃ +Put	0.05±0.00 ^{ghi}	0.04±0.00 ^{ghij}	0.03±0.00 ^{fgh}	0.02±0.00 ^{efg}
GA ₃ +Spm	0.03±0.00 ^{abcdefg}	0.02±0.01 ^{bcdefg}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Spd	0.02±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kad	0.04±0.00 ^{defgh}	0.04±0.00 ^{ghij}	0.03±0.00 ^{fgh}	0.00±0.00 ^{abc}
Kin+EBR	0.02±0.00 ^{abcde}	-	-	-
Kin+Put	0.02±0.01 ^{abcde}	-	-	-
Kin+Spd	0.03±0.00 ^{abcdefg}	-	-	-
Kin+Kad	0.02±0.00 ^{abcde}	-	-	-
Kin+Spm	0.04±0.00 ^{defgh}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	-
EBR+Spm	0.02±0.01 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{ab}	-
EBR+Spd	0.03±0.01 ^{abcdefg}	-	-	-
EBR+Put	0.01±0.00 ^{ab}	-	-	-
EBR+Kad	0.01±0.00 ^{ab}	-	-	-
GA ₃ +Kin+Put	0.03±0.01 ^{abcdefg}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kin+Spm	0.04±0.00 ^{defgh}	0.03±0.01 ^{efghi}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kin+Spd	0.03±0.01 ^{abcdefg}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kin+Kad	0.04±0.01 ^{defgh}	0.02±0.01 ^{bcdefg}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.02±0.01 ^{efg}
GA ₃ +Kin+EBR	0.04±0.01 ^{defgh}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.01±0.01 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+E	0.03±0.00 ^{abcdefg}	0.03±0.00 ^{efghi}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +EBR+Put	0.05±0.01 ^{ghi}	0.05±0.00 ^j	0.03±0.00 ^{fgh}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +EBR+Spm	0.04±0.00 ^{defgh}	0.02±0.01 ^{bcdefg}	0.02±0.01 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +EBR+Spd	0.03±0.01 ^{abcdefg}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +EBR+Kad	0.04±0.00 ^{defgh}	0.03±0.00 ^{efghi}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+EBR+Put	0.03±0.01 ^{abcdefg}	0.02±0.01 ^{bcdefg}	0.01±0.01 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+EBR+Spm	0.04±0.00 ^{defgh}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.02±0.01 ^{cdefg}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+EBR+Spd	0.05±0.01 ^{ghi}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.02±0.01 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kin+EBR+Kad	0.05±0.00 ^{ghi}	0.04±0.00 ^{ghij}	0.03±0.01 ^{fgh}	0.02±0.00 ^{efg}
GA ₃ +Kin+E+Put	0.02±0.01 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+E+Spm	0.03±0.00 ^{abcdefg}	0.02±0.00 ^{bcdefg}	0.02±0.01 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kin+E+Spd	0.04±0.01 ^{defgh}	0.03±0.01 ^{efghi}	0.02±0.00 ^{cdefg}	0.01±0.00 ^{bcdef}
GA ₃ +Kin+E+Kad	0.03±0.00 ^{abcdefg}	0.00±0.00 ^{ab}	0.00±0.00 ^{ab}	0.00±0.00 ^{abc}
GA ₃ +Kin+E+EBR	0.02±0.01 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.01±0.00 ^{abcde}	0.00±0.00 ^{abc}

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

- işaretli tuz konsantrasyonlarında çimlenme gerçekleşmediğinden çalışılmamıştır.

3.3.6. Tek Başına ve Kombinasyon Halindeki Büyüme Düzenleyicisi Ön Uygulamalarından Sonra Çeşitli Konsantrasyonlardaki NaCl'lü Ortamda Çimlendirilen Arpa Tohumlarındaki Kromozom Anormallikleri

Tek başına, ikili, üçlü ve dörtlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarına tabi tutulup çeşitli konsantrasyonlardaki (0.30- 0.35- 0.40- 0.45 m) NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarından elde edilen kök uçlarından hazırlanan preparatlarda gözlenen kromozom anormallikleri Şekil 3.3.6.1 - 3.3.6.4'de, kromozom anormallik yüzdeleri ise Çizelge 3.3.6.1'de verilmiştir.

Tuz, konsantrasyon artışına paralel olarak kromozom anormallik yüzdesinde artışa neden olmuştur. Saf su ortamında çimlendirilen kontrol tohumlarında herhangi bir kromozom anormalliğine rastlanmazken (Bkz. Çizelge 3.2.1), 0.30 m tuzlulukta 1.33, 0.35 m tuzlulukta 1.57 ve 0.40 m tuzlulukta 3.9 oranında kromozom anormallliği belirlenmiştir. Diğer yandan, 0.45 m tuzlulukta hücre bölünmesi tamamen engellediğinden dolayı kromozom anormallikleri incelenememiştir.

Çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğu 0.30 m NaCl'ün arpa tohumlarının kromozom anormallik yüzdeleri üzerindeki olumsuz etkisini büyük ölçüde hafifletmiştir. Ancak söz konusu tuz seviyesinde GA_3 +Kin+E+Spd ön uygulaması kromozom anormallik yüzdesini kontrol grubuna oranla daha da artırmıştır. 0.30 m tuzluluğun kromozom anormallik yüzdesi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede ikili kombinasyonların özellikle de GA_3 ile oluşturulan kombinasyonların çalışılan diğer kombinasyonlara göre daha başarılı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.3.6.1).

0.35 m tuzluluğun kromozom anormallik yüzdesi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede tek başına (Kin hariç), ikili ve üçlü kombinasyonları tümü değişik derecelerde hafifletmeyi başarırken, dörtlü kombinasyon ön uygulamalarının ise tuz stresinin olumsuz etkisini hafifletmede başarısız oldukları gözlenmiştir. Diğer yandan

tek başına Kin ön uygulaması kromozom anormallik yüzdesi üzerinde artışa neden olmasına rağmen, GA₃ ile birlikte kullanıldığında söz konusu tuzluluğun anormallik yüzdesi üzerindeki olumsuz etkisinin büyük ölçüde ortadan kalktığı gözlenmiştir (Çizelge 3.3.6.1).

Çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları 0.40 m tuzlulukta kromozom anormallik yüzdesi üzerinde 0.30 m tuzluluktakilerle benzer bir etki göstermişlerdir. Yani tuz stresinin kromozom davranışları üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede ikili kombinasyonların özellikle de GA₃ ile oluşturulan kombinasyonların daha başarılı oldukları gözlenmiştir. Ancak GA₃+Kin+EBR+Spm kombinasyonu ise kontrol grubuna göre kromozom anormallik yüzdesi üzerinde artışa neden olmuştur (Çizelge 3.3.6.1).

0.45 m tuzluluk, kontrol grubu tohumlarında hücre bölünmesini tamamen engellediğinden dolayı kromozom anormallikleri incelenememiştir. Ancak çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının büyük bir çoğunluğu kontrol tohumlarında hücre bölünmesinin görülmediği tuz seviyesinde hücre bölünmesini bir dereceye kadar artırmıştır. Diğer yandan GA₃+Kin+E+Spm haricinde çalışılan söz konusu büyüme düzenleyicilerinin büyük bir çoğunluğu yüksek tuzlulukta bile kromozom anormallik yüzdesini 0.30, 0.35 ve 0.40 m tuzluluktaki gibi, yine önemli derecede azaltmıştır (Çizelge 3.3.6.1).

Çizelge 3.3.6.1. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyici ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarındaki kromozom anormallik yüzdeleri

Büyüme Düzenleyicileri (µM)	Kromozom Anormallikleri (%)			
	NaCl (m)			
	0.30	0.35	0.40	0.45
Kontrol (Saf su)	* 1.33±0.00 ^v	1.57±0.00 ^s	3.90±0.00 ^r	#
GA ₃	0.60±0.00 ^m	0.74±0.00 ⁱ	0.68±0.00 ^h	0.58±0.00 ^c
Kin	1.34±0.00 ^v	2.40±0.00 ^z	2.29±0.01 ^p	0.0±0.00 ^a
BA	0.33±0.00 ^{fg}	0.0±0.00 ^a	-	-
E	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	#	-
EBR	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	-	-
Put	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	1.12±0.00 ⁱ	-
Spm	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	#	-
Spd	0.44±0.01 ⁱ	1.32±0.00 ^r	1.31±0.00 ^j	-
Kad	0.0±0.00 ^a	0.68±0.01 ^g	-	-
TRIA	0.50±0.00 ^j	1.23±0.00 ^o	-	-
GA ₃ +Kin	0.15±0.00 ^c	0.05±0.00 ^b	0.0±0.00 ^a	0.31±0.01 ^c
GA ₃ +BA	0.26±0.00 ^c	0.0±0.00 ^a	0.28±0.01 ^d	0.18±0.00 ^b
GA ₃ +E	0.0±0.00 ^a	0.56±0.00 ^f	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +EBR	0.34±0.00 ^{fg}	0.0±0.00 ^a	0.17±0.00 ^b	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +Put	0.12±0.00 ^b	0.0±0.00 ^a	0.40±0.00 ^c	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +Spm	1.18±0.01 ^u	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	1.04±0.00 ^k
GA ₃ +Spd	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +Kad	0.0±0.00 ^a	1.31±0.00 ^p	1.45±0.00 ^m	#
Kin+EBR	0.0±0.00 ^a	-	-	-
Kin+Put	0.0±0.00 ^a	-	-	-
Kin+Spd	0.0±0.00 ^a	-	-	-
Kin+Kad	0.0±0.00 ^a	-	-	-
Kin+Spm	0.56±0.00 ⁱ	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	-
EBR+Spm	0.0±0.00 ^a	0.99±0.01 ^l	#	-
EBR+Spd	0.77±0.00 ^s	-	-	-
EBR+Put	0.0±0.00 ^a	-	-	-
EBR+Kad	0.0±0.00 ^a	-	-	-
GA ₃ +Kin+Put	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	1.31±0.00 ^j	0.80±0.00 ⁱ
GA ₃ +Kin+Spm	0.0±0.00 ^a	0.47±0.00 ^d	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +Kin+Spd	0.44±0.00 ⁱ	0.0±0.00 ^a	0.45±0.00 ^f	0.59±0.00 ^f
GA ₃ +Kin+Kad	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.40±0.00 ^c	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +Kin+EBR	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	#
GA ₃ +Kin+E	0.62±0.00 ⁿ	0.71±0.00 ^h	0.62±0.00 ^g	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +EBR+Put	0.21±0.01 ^d	0.21±0.00 ^c	0.25±0.00 ^c	0.64±0.01 ^g
GA ₃ +EBR+Spm	0.54±0.00 ^k	1.18±0.00 ⁿ	1.42±0.01 ^l	0.65±0.00 ^h
GA ₃ +EBR+Spd	0.75±0.00 ^r	0.54±0.00 ^e	0.0±0.00 ^a	#
GA ₃ +EBR+Kad	0.26±0.00 ^c	0.84±0.01 ^k	1.92±0.00 ⁿ	#
GA ₃ +Kin+EBR+Put	0.62±0.00 ⁿ	1.10±0.00 ^m	0.0±0.00 ^a	#
GA ₃ +Kin+EBR+Spm	0.41±0.00 ^h	1.99±0.00 ^u	4.67±0.00 ^s	#
GA ₃ +Kin+EBR+Spd	0.0±0.00 ^a	2.35±0.00 ^y	0.0±0.00 ^a	0.97±0.00 ^j
GA ₃ +Kin+EBR+Kad	0.84±0.01 ^t	2.30±0.00 ^v	0.0±0.00 ^a	0.41±0.01 ^d
GA ₃ +Kin+E+Put	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	1.93±0.00 ^l
GA ₃ +Kin+E+Spm	0.72±0.00 ^p	1.60±0.00 ^t	1.41±0.01 ^k	10.0±0.00 ^m
GA ₃ +Kin+E+Spd	1.47±0.00 ^y	2.35±0.00 ^y	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a
GA ₃ +Kin+E+Kad	0.68±0.01 ^o	0.79±0.01 ^j	#	#
GA ₃ +Kin+E+EBR	0.35±0.00 ^{fg}	0.0±0.00 ^a	2.06±0.00 ^o	#

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

- işaretli tuz konsantrasyonlarda çimlenme gerçekleşmediğinden çalışılmamıştır.

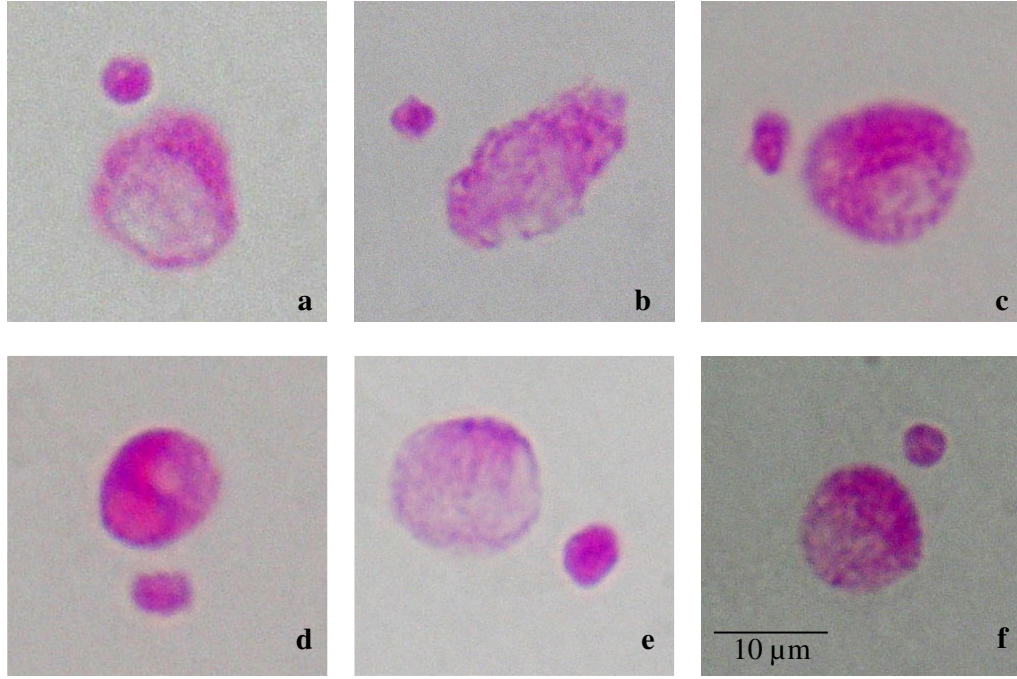
işaretli tuz konsantrasyonlarında mitoz bölünme engellendiğinden kromozom anormallikleri çalışılmamıştır.

Tek başına, ikili üçlü ve dörtlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarına tabi tutularak çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında en sık rastlanan kromozom anormalliklerinin karışık metafaz ve anafazda kromozom köprüleri olduğu tespit edilmiştir.

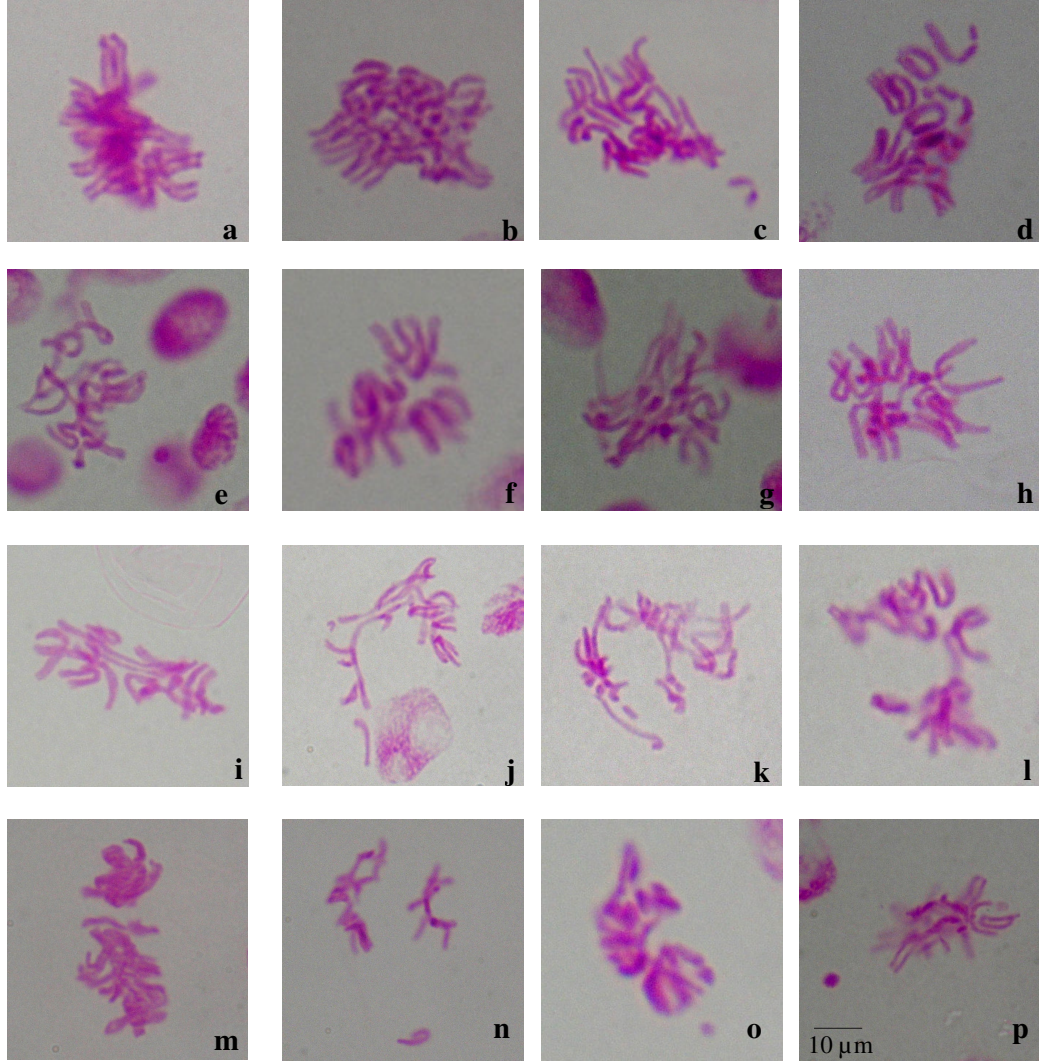
Çalışılan tuz seviyelerinde gerek kontrol gerekse GA₃, Kin, TRIA ön uygulamalı tohumlarda profazda (Şekil 3.3.6.1. a-f) ve metafazda (Şekil 3.3.6.2. o, p) mikronükleus oluşumu ve düzensiz anafaz (Şekil 3.3.6.3. k) gibi anormallikler gözlenmiştir. İkili ve üçlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamalı tohumlarda yukarıdakine benzer anormallikler gözlenmiştir. Ancak tek başına büyüme düzenleyicisi ön uygulamalı tohumlardan farklı olarak mikronükleus oluşumuna sık rastlanılmamakla birlikte, metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi (Şekil 3.3.6.2. l-n) ve genellikle de çok kutuplu anafazlar (Şekil 3.3.6.3. m-p) gözlenmiştir.

Dörtlü büyüme düzenleyicisi ön uygulamalı tohumlarda da kromozom anormallikleri yine karışık metafaz (Şekil 3.3.6.2. a-i) ve anafazda kromozom köprüleri (Şekil 3.3.6.3 a-h) şeklinde olup profazda mikronükleus (Şekil 3.3.6.1. a-f) oluşumunun ikili ve üçlü kombinasyonlara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca çok kutuplu anafaz (Şekil 3.3.6.3. m-p) ve telofazda yanlış kutuplaşmalara (Şekil 3.3.6.4. g-i) da rastlanmıştır.

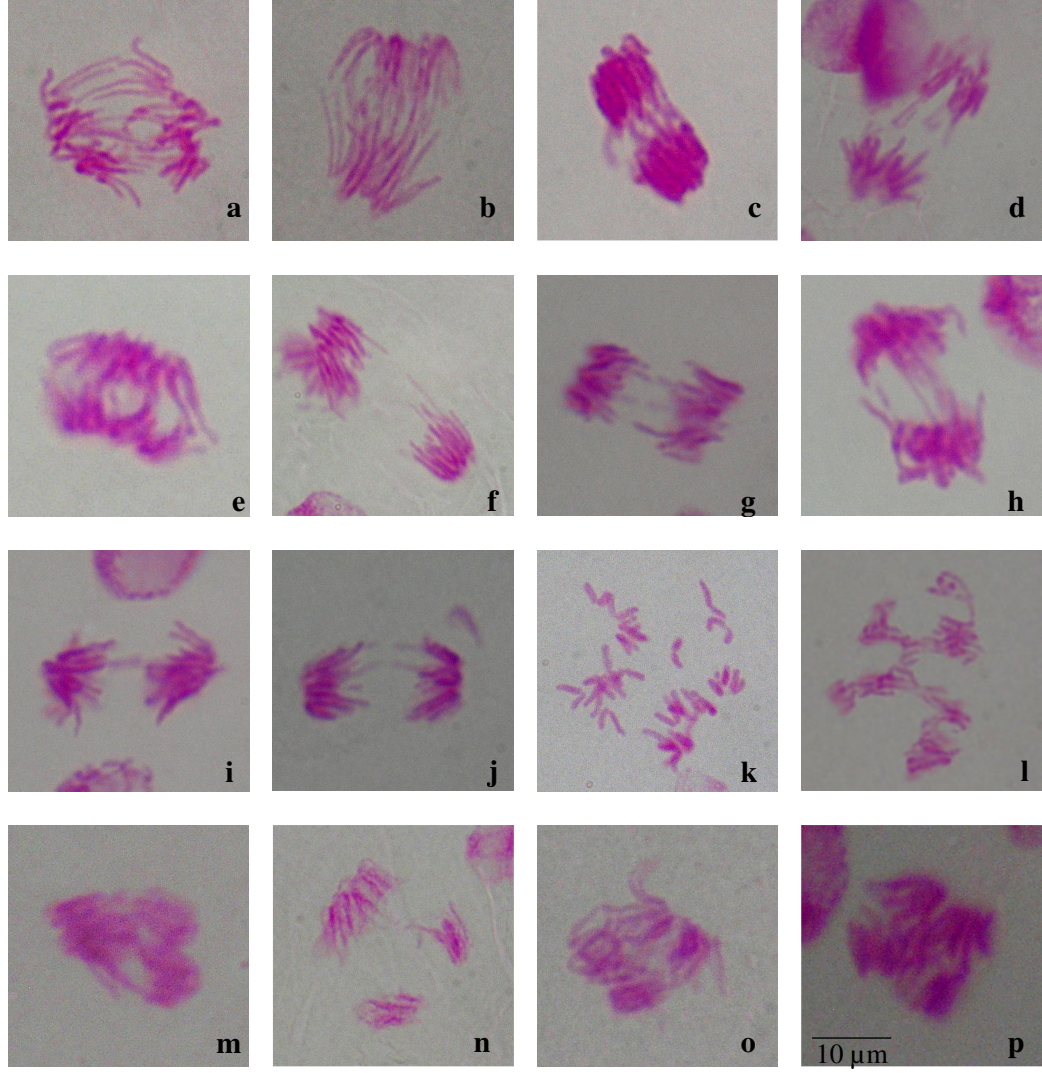
Ayrıca genel olarak anafazda kromozom yapışıklıkları (Şekil 3.3.6.3. l), telofazda kromozom körüleri (Şekil 3.3.6.4. a-c) ve geri kalan kromozomlar (Şekil 3.3.6.4. d-f) da rastlanılan diğer anormalliklerdir.



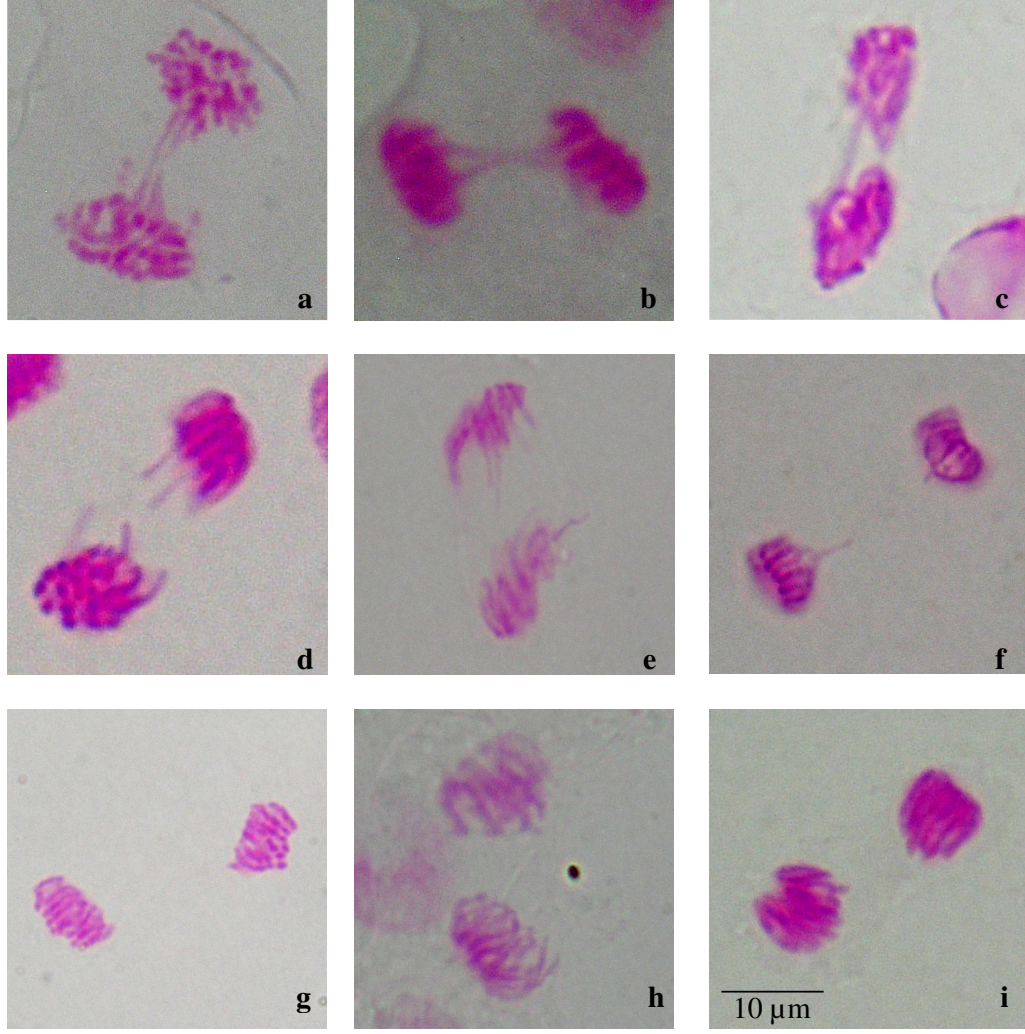
Şekil 3.3.6.1. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında profaz safhasında görülen anormallikler: a-f) Profaz safhasında mikronükleus oluşumu



Şekil 3.3.6.2. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında metafaz safhasında görülen anormallikler: a-i) Karışık metafaz; j-k) Metafazda kromozomların sarmalanamaması; l-n) Metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi; o,p) Metafazda mikronükleus



Şekil 3.3.6.3. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'lü ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında anafaz safhasında görülen anormallikler: a-h) Anafazda kromozom köprüleri; i, j) Anafazda geri kalmış kromozomlar; k) Düzensiz anafaz; l) Anafazda kromozom yapışıklıkları; m-p) Çok kutuplu anafaz



Şekil 3.3.6.4. Tek başına ve kombinasyon halindeki büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarından sonra çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl'li ortamda çimlendirilen arpa tohumlarında telofaz safhasında görülen anormallikler: a-c) Telofazda kromozom köprüleri; d-f) Telofazda geri kalmış kromozomlar; g-i) Telofazda yanlış kutuplaşma

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, yıllardan beri tohum çimlenmesi araştırmalarında kullanılan GA₃, Kin, BA ve E gibi büyüme düzenleyicilerin yanında az çok çalışılmış ve son 20- 30 yılda bulunmuş BR, TRIA ve PA'ler gibi hormon ve hormon benzeri aktivite gösteren büyüme düzenleyicilerinin de gerek normal gerekse tuz stresi koşullarındaki tohum çimlenmesi esnasında mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Kromozomlarla ilgili çalışmalarda, özellikle hücre bölünmesi ve kromozom anormalliklerinin belirlenmesi için çok değişik metotlar geliştirilmiştir. Bu metotların hepsinin ortak yanı hücre bölünmesi sırasında bölünmeyi kontrol edecek ön uygulama çözeltilerinin kullanılmasıdır. Bunun için değişik araştırmacılar tarafından, 8-hidroksikinolin (Rousi, 1961), α -monobromonaftalin (Kuta, 1980; Elçi, 1982), paradiklorbenzen (Elçi, 1982; Sharma ve Gupta, 1982; Tabur vd., 2000, 2002), kolkisin (Rousi, 1960; Guidetta Roti- Michelozzi, 1986; Terziiski ve Dimitrov, 1983) ve erimekte olan buz (Yamamoto, 1973; Ladizinsky ve Hadassa, 1984; Maxted vd., 1991) gibi ön uygulama çözeltileri kullanılmıştır. Çalışmamızda paradiklorbenzenin doymuş çözeltisi ile ön uygulamanın daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Böylece çalışmamızda Elçi (1982), Sharma ve Gupta (1982) ve Tabur vd. (2000, 2002)'un uyguladığı metot esas alınmıştır.

Feulgen ile yapılan boyamalarda kromozomların optimum boyayı almalarının en önemli kurallarından birisi hidroliz süresinin materyale göre doğru belirlenmiş olmasıdır (Elçi, 1982). Bunun için Fox (1969)'un belirttiği gibi en uygun sıcak hidroliz 60 °C'de 1 N HCl içerisinde materyalin 5 ile 20 dakikaya kadar bekletilmesi ve soğuk hidroliz ise 26 °C'de 5 N HCl içerisinde materyalin çeşitli sürelerde bekletilmesiyle yapılmaktadır. Çalışmamızda arpa tohumları için sıcak hidroliz süresi 15 dakika olarak bulunmuştur. Ancak yüksek tuz konsantrasyon gruplarında 15- 18 dakika kadar soğuk hidroliz yapılmıştır. Hidroliz işlemi sonrası kök uçları tekrar

musluk suyu ile yıkanarak gruplara göre değişen sürelerde (1- 1,5 saat) Feulgen içerisinde bekletilmiştir (Elçi, 1982).

Araştırma bulguları bölümünde 3.1 alt başlığı altında da görüldüğü gibi büyüme düzenleyicileri ile muamele edilmemiş (kontrol, K) arpa tohumlarının mitotik indeks değeri 0.16 iken, çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamalarının tümü kontrol tohumlarının ulaştığı bu değere ulaşmayı başaramamışlardır (Bkz. Çizelge 3.1.1). Diğer yandan yapılan sitolojik incelemeler sonucunda, saf su ortamında çimlendirilen arpa tohumlarında kromozom anormallikleri gözlenmemesine karşın, büyüme düzenleyicisi ön uygulamalı tohumlarda genellikle çeşitli tiplerde ve yüzdelerde kromozom anormalliklerine rastlanmıştır (Bkz. Çizelge 3.2.1 ve Şekil 3.2.2). Özellikle de E ön uygulamalı tohumlarda kromozom anormallik yüzdesinin diğer uygulamalara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 3.2.1). Dışarıdan stimülatör büyüme düzenleyicisi uygulamaları stresin olmadığı normal koşullarda faydasızdır.

GA₃, Kin, BA gibi büyüme düzenleyicilerinin hücre bölünmesindeki rolleri herkes tarafından bilinmesine karşın, BR, TRIA ve PA'lerin hücre bölünmesi üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar son derece azdır. Bu nedenle yukarıda bahsedilen büyüme düzenleyicilerinin stres koşulları altında mitotik indekse etkilerine geçmeden önce optimum sıcaklık olan 20 °C'de saf su ortamında yani stressiz koşullardaki çimlenme esnasında mitotik indekse ve kromozom davranışlarına etkilerinin karşılaştırılması uygun bulunmuştur.

Diğer yandan dışarıdan gibberellin (Liu ve Loy, 1976; Besnard-Wibant vd., 1983; VanDerZanden, 1999), sitokinin (Palmer ve Gunning, 1984; Werner vd., 2001; Tomaszewska-Sowa vd., 2002) ve triakontanol (Knowles ve Ries, 1981) uygulamalarının normal koşullar altındaki tohum çimlenmesi esnasında hücre bölünmesini ve dolayısıyla mitotik indeksi teşvik ettikleri rapor edilmiştir.

Ancak etilen, brassinler ve poliaminlerin ise hücre bölünmesi üzerindeki etkileri tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu büyüme düzenleyicilerinin hücre bölünmesi üzerinde olumlu ya da olumsuz yönde etkili olabilecekleri belirtilmiştir. Bazı araştırmacıların söz konusu büyüme düzenleyicilerinin düşük konsantrasyonlarda hücre bölünmesi ve mitotik indeksi teşvik ettiklerini ileri sürmelerine karşın (Costa ve Bagni, 1983; Roth vd., 1989; Rost vd., 1996), bazı araştırmacılar ise yüksek konsantrasyonlarda engelleyici etki yaptıklarını (Barlow, 1976; Gatta vd., 1992; Hu vd., 2000) rapor etmişlerdir.

Söz konusu büyüme düzenleyicilerinin kromozom davranışları üzerine etkileri yeterince çalışılmamasına rağmen; Tomaszewska-Sowa vd. (2002), biber tohumlarıyla yaptıkları çalışmada yüksek konsantrasyonlarda sitokininin tatbikinin geri kalmış kromozom ve anafazda kromozom köprüleri oluşumuna sebep olduklarını ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Ünal vd. (2002) arpada, İsmailoğlu vd. (2004) ise diploid, tetraploid, hekzaploid buğday tohumlarında yaptıkları çalışmalarda poliaminlerin mitotik düzensizliklere neden olduğunu belirtmişlerdir. Gerçekten de yapmış olduğumuz bu çalışmada sitokininlerin karışık metafaz, metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi ve anafazda kromozom köprüleri gibi anormalliklerin oluşumuna sebep oldukları görülmüştür. Diğer yandan poliaminlerin de karışık metafaz, anafazda kromozom köprüleri ve telofazda yanlış kutuplaşma şeklindeki kromozom anormalliklerine neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca GA₃, EBR, TRIA uygulamalarında da karışık metafaz, metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi şeklindeki anormallikler görülmüştür (Bkz. Şekil 3.2.2).

O halde bütün bu çalışmaların bir sonucu olarak; çalışılan bitki büyüme düzenleyicilerinin mitotik indeks ve kromozom anormalliklerini bitki türüne, kullanılan konsantrasyona ve ön uygulama tarzına göre farklı şekilde etkiledikleri söylenebilir.

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. Bu konuyla ilgili günümüze kadar pek çok araştırma yapılmış, ancak tuzluluğun etki mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Gill ve Singh, 1985; Schmidhalter ve Oertli, 1991).

Al-Karaki (2001) ve Ghoulam ve Fores (2001)'e göre tuzluluğun büyüme ve gelişme üzerindeki etkisi iki yoldan olabilir:

1. Tuzun, ortamda oluşturduğu ozmotik basınçtan dolayı tohumlar çimlenebilmek için gerekli suyu alamazlar (Ozmotik etki).
2. Ortamdaki tuz iyonları, embriyo ya da genç fideler için toksik etki yapabilir (Spesifik etki, iyonik etki).

Bu iki mekanizmanın dışında tuzun, büyüme gelişme üzerindeki olumsuz etkilerini daha değişik yollardan da yapması mümkündür. Bunların içinde literatürde en sık rastlanılanlar şunlardır:

- Tuz, mitoz bölünmeyi engellemek suretiyle çimlenmeye ket vurabilir (Nieman, 1965; Bozcuk, 1978; Yasseen vd., 1987).
- Tuz, DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek büyüme ve gelişmeye ket vurabilir (Tal, 1977; Prakash ve Prathapasanen, 1988; Anuradha ve Rao, 2001; Özdemir vd., 2004).
- Tuz, hücre zarının permeabilitesini etkiler (Basu vd., 1988; Chaudhuri ve Choudhuri, 1993; Ellialtıoğlu vd., 1994; Tiburcio vd., 1994).
- Tuz, bitki hücrelerinde solunumu genellikle engeller (Porath ve Poljakoff- Mayber, 1964) bazen de teşvik eder (Brix, 1962).
- Bitki hücrelerine giren Na^+ veya Cl^- iyonları antagonistik etki nedeniyle hücrenin metabolik faaliyetleri için gerekli olan Ca^{++} , K^+ gibi diğer iyonların alınmasına engel olur. Tuz iyonları, bitkiye gerekli iyonlarla rekabet

ederek de onların alınımını engelleyebilir (Greenway ve Munns, 1980; Lynch ve Lauchli, 1984; Tiwari vd., 1997).

- Yüksek tuzluluk, tohumda bulunan ABA gibi doğal engelleyici hormonların konsantrasyonunu arttırıp (Rao vd., 1975; Ungar ve Binet, 1975; Khan, 1978; Yürekli vd., 2001; 2004) gibberellin ve sitokinin gibi stimülatör hormonların seviyesini düşürebilir (Prakash ve Prathapasenan, 1990; El-Mashad ve Kamel, 2001; Yürekli vd., 2001; 2004).
- Tuz, depo dokularının karbonhidrat ve protein rezervlerini harekete geçiren α -amilaz (Muthukumarasamy ve Panneerselvam, 1997; Kaur vd., 1998; Promila ve Kumar, 2000; Ashraf vd., 2002), proteaz (Prisco ve Vieira, 1976) ve RNaz (Sheoran ve Garg, 1978; Gomes ve Sodek, 1988) gibi hidrolitik enzimlerinin aktivitesini engelleyerek çimlenmeye ket vurabilir.
- Tuz, tohumda prolin içeriğini artırarak (Durgaprasad vd., 1996; Rodriguez vd., 1997; Dash ve Panda, 2001), katalaz, peroksidaz ve polifenol oksidaz aktivitelerini azaltarak (Bishnoi vd, 1997; Saha ve Gupta, 1997; Dash ve Panda, 2001) olumsuz etki yapabilir.

Yaptığımız çalışmada da görüldüğü gibi tuzluluk, konsantrasyona bağlı olarak arpa tohumlarının mitotik indeksini azaltmıştır (Bkz. Çizelge 3.3.5.1). Tuzun mitotik indeksi engelleyici etkisi herkes tarafından bilinen bir gerçektir (Huang ve Van Steveninck 1988, 1990; Katsuhara ve Kawasaki, 1996; Lutsenko vd., 2005). Tuzun bilinen, mitoz bölünmeyi engelleyici etkisi (Nieman, 1965; Bozcuk, 1978) bu çalışma ile bir kez daha doğrulanmıştır. Tuz, hücre bölünmesi üzerindeki engelleyici etkisini doğrudan yapabileceği gibi, bu etkiyi arpa tohumlarında yol açtığı içsel absisik asit (ABA) artışı kanalı ile de gerçekleştirebilir (Rao vd., 1975; Ungar ve Binet, 1975; Khan, 1978).

Öte yandan tuzluluğun artan seviyeleri arpa tohumlarının mitotik indeksi üzerinde olduğu gibi kromozom davranışları üzerinde de olumsuz etki göstermiştir. Yaptığımız çalışmada tuzluluğun; profazda mikronükleus oluşumu, karışık metafaz,

metafazda ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi, metafazda kromozomların sarmallanamaması, düzensiz anafaz, anafazda kromozom köprüleri ile telofazda kromozom köprüleri ve yanlış kutuplaşma gibi anormalliklere neden olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 3.3.6.1- 3.3.6.4). Ancak tuz seviyesinin kromozom anormallliği üzerine etkileri yeterince çalışılmamış olmasına rağmen, Tajbakhsh vd. (2006) arpa tohumları ile yaptıkları çalışmada tuzluluğun artan seviyelerinin anafaz safhasında kromozom anormalliklerine sebep olarak hücre bölünmesini geciktirdiğini belirtmişlerdir.

Diğer yandan büyüme düzenleyicilerinin, tuz stresinin mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede farklı derecelerde etkili oldukları ve bu farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. Kin ve GA_3 +Kin haricinde çalışılan büyüme düzenleyicilerinin tümü 0.30 m tuzluluğun mitotik indeks üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede etkisiz olmuşlardır. 0.35 ve 0.40 m tuzlulukta ise ikili kombinasyonların özellikle de GA_3 ile oluşturulan kombinasyonların mitotik indeks üzerinde diğer uygulamalara göre daha başarılı oldukları belirlenmiştir. 0.45 m tuzluluğun mitotik indeks üzerindeki engelleyici etkisini hafifletmede büyüme düzenleyicilerinin büyük bir çoğunluğunun başarılı bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Tüm tuz seviyeleri dikkate alındığında en olumlu etkiyi GA_3 +Kin ön uygulaması göstermiştir (Bkz. Çizelge 3.3.5.1).

Tuz seviyesi arttıkça GA_3 ve Kin, özellikle GA_3 'ün mitotik indeksi kontrole göre teşvik etmesi arpa tohumlarının tuzlu koşullardaki çimlenmesinde bu iki büyüme düzenleyicinin dıştan tatbiki ile tuz stresinin çimlenme engelleyici etkisini mitotik indeksi artırmak yolu ile hafifletilebileceğine işaret edebilir. Gerçekten gerek GA 'lerin gerekse sitokininlerin hücre bölünmesini teşvik ettikleri uzun zamandır bilinmektedir (Bozcuk, 1978; Baroncelli vd., 1988).

Öte yandan diğer uygulamalar da esasen arpa tohumlarının tuzlu koşullardaki çimlenmesinde başarılı olabilmişlerdir (Çavuşoğlu, 2006). Mitotik indeks üzerindeki tuz engellemesini yenemeyen bu teşvik edicilerin uygulamaları, çimlenme üzerindeki

tuz engelini başka yollarla; örneğin tuzun ozmotik etkisini yenerek (Mansour ve Al-Mutawa, 1999; Zapata vd., 2004) veya tuzun hücre uzamasını engelleyici etkisini yenerek (Kaur-Sawhney vd., 1980; Scott, 1984) başarılı olmuş olabilirler.

Tüm tuz seviyelerinde genellikle GA₃'lü kombinasyonların kontrol grubuna göre önemli derecede başarılı olmaları, arpa tohumların tuzlu koşullardaki çimlenmesinde GA₃'ün vazgeçilmez bir yere sahip olduğunu işaret etmektedir. Ayrıca mitotik indeks üzerindeki tuz stresinin yenilmesinde GA₃+Kin kombinasyonunun tek başına GA₃ ve Kin'e nazaran daha başarılı olması, bu iki büyüme düzenleyicinin birlikte bir sinerjizm oluşturdıklarına işaret eder. Gerçekten, özellikle arpa tohumlarının çimlenmesinde tuz seviyelerindeki artışa bağlı olarak bu ikilinin, kombinasyon halinde iken daha etkin olduğu çeşitli araştırmacılarca rapor edilmiş (Kabar ve Baltepe, 1987; Kabar, 1989). Öte yandan tuzun çimlenme esnasında tohumlarda özellikle sitokinin (El-Mashad ve Kamel, 2001; Yürekli vd., 2004), GA'ler (Prakash ve Prathapasenan, 1990; Yürekli vd., 2001) gibi stimülatörlerin içsel miktarını azalttığı düşünüldüğünde dıştan uygulanan bu teşvik edicilerin mitotik aktiviteyi arttırmaları sürpriz olmayıp beklenen bir durumdur.

Üçlü ve dörtlü kombinasyonların genellikle ikili kombinasyonlar kadar başarılı olamamaları, ayrıca her türlü kombinasyon durumunda belirli büyüme düzenleyicisi uygulamalarının başarı göstermeleri tohum çimlenmesi üzerindeki tuz stresinin yenilmesinde kullanılacak her stimülatörün başarılı olamayabileceğini, bu nedenle uygulanacak stimülatör(ler)ün ve konsantrasyon(lar)un ön çalışmalarla belirlenmesi gerektiğine işaret eder. Gerçekten tohum çimlenmesinde tuz stresinin yenilmesinde stimülatörlerin tip(ler)i ve konsantrasyonlarının türden türe değişebileceği çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (Palavan-Ünsal, 1987; Palavan-Ünsal vd., 1990; Mirza ve Bagni, 1991).

Çalışılan büyüme düzenleyicilerinin arpa tohumlarının mitotik indeksi üzerinde olduğu gibi kromozom anormallik yüzdeleri ve kromozom davranışları üzerinde de istatistiksel açıdan önemli etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. 0.30 m tuzluluğun

kromozom anormallik yüzdesi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede ikili kombinasyon ön uygulamalarının özellikle de GA₃ ile oluşturulan kombinasyonların diğer uygulamalara göre daha başarılı oldukları gözlenmiştir. 0.35 m tuzluluğun söz konusu parametre üzerindeki engelleyici etkisini ortadan kaldırmada dörtlü uygulamaların çalışılan diğer ön uygulamalara göre etkisiz olduğu gözlenmiştir. 0.40 m tuzlulukta ise çalışılan büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları 0.30 m tuzluluktakine benzer etkiler göstermişlerdir. 0.45 m tuzluluk ise hücre bölünmesini tamamen engellediğinden dolayı kromozom anormallikleri incelenememiştir (Bkz. Çizelge 3.3.6.1).

Tek başına büyüme düzenleyicisi ön uygulamaları, söz konusu tuz seviyelerinde genellikle profaz ve metafaz safhasında mikronükleus oluşumu, karışık metafaz ve düzensiz anafaz gibi kromozom anormalliklerine sebep olmuştur. İkili ve üçlü kombinasyonlarda ise ilave olarak ekvatoryal plağın iki ve üç parçaya bölünmesi ve çok kutuplu anafazlar gözlenmiştir. Diğer yandan dörtlü kombinasyon uygulamalarının yine karışık metafaz ve anafaz köprüleri şeklinde kromozom anormalliklerine sebep olduğu, mikronükleus oluşumunun tek başına büyüme düzenleyicisi uygulamaları kadar çok olmamakla birlikte, ikili ve üçlü kombinasyonlara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Üstelik çok kutuplu anafaz ile anafaz ve telofazda yanlış kutuplaşmalar da gözlenmiştir (Bkz. Şekil 3.3.6.1-3.3.6.4).

Ancak yapılan literatür çalışması sonucunda söz konusu büyüme düzenleyicileriyle tuzlu koşullar altında çimlendirilen tohumların gerek mitotik indeks gerekse kromozom davranışları üzerindeki etkileri ile ilgili yeterli bilgiye rastlanamamıştır.

Çeşitli büyüme maddeleri farklı türlerde hatta aynı türün bireylerinde bile farklı olaylarda etkili olabilmekte ve farklı miktarda bulunabilmektedirler (Ungar, 1974; Khan ve Weber, 1986; Khan, 1991). Buna göre bir bitkide herhangi bir büyüme gelişme olayında hangi hormon etkin konsantrasyonda ise o hormon işlevini yaparak büyüme gelişme olaylarında sorumlu olmaktadır. Gerçekten Khan (1971)'ın da işaret

ettiği gibi bir olayın bir hormonun mutlak varlığı veya yokluğu ile yönetilmesi muhtemel değildir. Çevre koşullarına tepki olarak bitkide bazı hormonlar daha fazla etkin, bazıları daha az etkin olabilir ya da hiç etkin olmayabilirler. Dolayısı ile hangi hormon en etkin durumda ise ilgili olayda onun iş görmesi daha akla yakın görünmektedir.

Araştırmamızda, çeşitli teşvik edici büyüme maddeleri kullanarak yurdumuz için önemli bir tahıl bitkisi olan arpaya, özellikle memleketimizde büyük bir sorun olan tuz stresine karşı tolerans kazandırılmasının muhtemel mekanizmalarından biri olabilecek mitotik aktivite ile büyüme maddeleri arasındaki etkileşimler irdelenerek literatürdeki bir boşluğun doldurulmasına hizmet edilmeye çalışıldığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle uygun büyüme maddelerinin, özellikle tuzlu arazilerde yetişebilecek bitkiler için kullanılmasının, yurt ekonomisine çok yararlı sonuçlar sağlayacağı düşünülmektedir.

Olayın açıklığa kavuşabilmesi için mitotik aktivite üzerinde doğrudan ve dolaylı olarak etkin olabilen hidrolaz sentezi ve aktivitesi, nükleik asit metabolizması, protein ve enzim sentezi gibi temel metabolik olaylar üzerinde bu kimyasalların etkilerinin araştırılması söz konusu mekanizmanın aydınlığa kavuşmasına hizmet edecektir.

5. KAYNAKLAR

- Al-Karaki, G.N., 2001. Germination, sodium and potassium concentration of barley seeds as influenced by salinity. *J. Plant Nutr.*, 24, 511-522.
- 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 α -Amylase Activity During Germination and Early Cotton Seedling Growth. *Biologia Plantarum*, 45 (4), 589-591.
- Avalbaev, A.M., Bezrukova, M.V., Kildibekova, A.R., Fatkhutdinova, R.A., Shakirova, F.M., 2003. Wheat germagglutinin restores cell division and growth of wheat seedlings under salinity. *Bulg. J. Plant Physiol., Special Issue*, 257-263.
- Baltepe Ş., Mert, H.H., 1973. Bazı *Cucurbitaceae* türlerinin hipokotil büyümesi üzerinde gibberellik asit ve indol asetik asitin etkileri, Tübitak IV. Bilim Kongresi Tebliği.
- Barlow, P.W., 1976. Towards an understanding of the behavior of root meristems. *J. Theor. Biol.*, 57, 433-451.
- Baroncelli, S., Cavallini, A., Lercari, B., Cionini, P.G., D'Amato, F., 1988. Effect of light and gibberellic acid on cell division in the first foliage leaf of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Planta*, 173 (2), 257-262.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M., Chester, E.W., Smith, M., 2003. Ethylene as a possible seed germination cue for *Schoenoplectus hallii* (*Cyperaceae*), a rare summer annual of occasionally flooded sites. *American Journal of Botany*, 90, 620-627.
- Basu, B., Maitra, N., Ghosh, B., 1988. Salinity results in polyamine accumulation in early (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Aus. J. Plant Physiol.*, 15, 777-786.
- Berkes, F., Kışlalıoğlu, M., 1990. *Ekoloji ve Çevre Bilimleri*, İstanbul, 171.
- Besnard-Wibant, C., Noin, M., Zeevaart, J.A.D., 1983. Mitotic activities and levels of nuclear DNA in the apical meristem of *Silene armeria* (strain SI.2) following application of gibberellin A3. *Plant and Cell Physiology*, 24, 1269-1279.
- Bishnoi, N.R., Singh, H., Swaraj, K., 1997. Influence of sodium chloride on nitrogen fixation and enzymes associated with scavenging hydrogen peroxide in

clusterbean root nodules. Indian Journal of Experimental Biology, 35 (2), 193-196.

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 Fak.

Braun, J.W., Khan, A.A., 1976. Alleviation of salinity and high temperature stress by plant growth regulators permeated into lettuce seeds via acetone. Journal of the American Society for Horticultural Science, 101, 716-721.

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.

Chaudhuri, K., Choudhuri, M.A., 1993. Effects on short-term NaCl salinity stress of free radical mediated membrane damage in two Jute species. Indian J. Of Exp. Biology, 31, 327-331.

Chibnall, A.C., Williams, F.F., Latner, A.L., Piper, S.H., 1933. The isolation of n-triacontanol from lucerne wax. Biochem. J., 27, 1885-1888.

Clouse, S.D., Zurek, D., 1991. Molecular analysis of brassinolide action in plant growth and development. Acs-Symposium Series American Chemical Society, 474, 122-140.

Costa, G., Bagni, N., 1983. Effects of polyamines on fruit-set of apple. Hort. Science, 18 (1), 59-61.

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. S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 161s, Isparta.

Çelik, C., 2005. <http://www.izotar.com/bitkidil3.htm#>. IZOTAR A.Ş. Erişim Tarihi: 16.06.2006.

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. Biol. Plant, 44, 587-589.

De Agazio, M., Federico, R., Angelini, R., DE Cesare, F., Grego, S., 1992. Spermidine pretreatment or root tip removal in maize seedlings: effect on K⁺ uptake and tissues modifications. J.Plant Physiol., 140, 741-746.

- De Agazio, M., Ciofi-Luzzatto, A., Grego, S., Rea, E., Zaccaria, M.L., Federico, R., 1995. Inhibition of maize primary root elongation induced by spermidine: effect on cell shape and mitotic index. *Plant Growth Regulation*, 14, 85-89.
- Dhaubhadel, S., Chaudhary, S., Dobinson, K.F., Krishna, P., 1999. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. *Plant Mol Biol.*, 40, 333-342.
- Durgaprasad, K.M.R., Muthukumasamy, M., Panneerselvam, R., 1996. Changes in protein metabolism induced by NaCl salinity in soybean seedlings. *Indian Journal of Plant Physiology*, 2, 98-101.
- Elçi, Ş., 1982. Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji. 3, 37-85. Elazığ.
- Ellialtıoğlu, Ş., Tıprıdamaz, R., Çakırlar, H., 1994. Tuzlu koşullarda yetiştirilen domates genotiplerinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal değişimler, XII Ulusal Biyoloji Kongresi, Edirne, 15-21.
- El-Mashad, A.A., Kamel, E.A., 2001. Amelioration of NaCl stress in *Pisum sativum* *Indian Journal Experimental Biology*, 39(5), 469-475.
- Fox, D.P., 1969. Some Characteristic of The Cold Hydrolysis Technique for Staining Plant Tissues by The Feulgen Reaction. *J. Histo Cytochem.*, 17, 266.
- Gatta, L., Marhitelli, C., Federico, R., 1992. Effect of polyamines and their oxydative product on maize and lentil root growth. *Annals of Botany*, 50, 43-48.
- Ghoulam, C., Fores, K., 2001. Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Seed Sci. Tech.*, 29, 357-364.
- Gill, K. S., Singh, O.S., 1985. Effect of salinity on carbohydrate metabolism during paddy (*Oryza sativa*) seed germination under salt stress condition. *J. Exp. Biol.*, 23, 384-386.
- Giridhar, P., Indu, E.P., Ravishankar G.A., Chandrasekar A., 2004. Influence of Triacntanol on somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L. and *Coffea canephora*. P ex.Fr. In *Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant*, 40, 200-203.
- Gomes-Filho, E., Sodek, L., 1988. Effect of salinity on ribonuclease activity of *Vigna unguiculata* cotyledons during germination. *Journal of Plant Physiology*, 132, 307-311.
- Greenway, H., Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31, 149-190.

- Grove, M.D., Spencer, F.G., Rohwedder, W.K., Mandava, N.B., Worley, J.F., Warthen Jr, J.D., Steffens, G.L., Flippen-Anderson, J.L., Cook Jr, J.R., 1979. Brassinolide, a plant growth promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, 281, 216-222.
- Guidetta Roti- Michelozzi, G., 1986. Biosystematic studies on the *Vicia villosa* complex in Europe. *Candollea*, 41, 399-411.
- Haktanır, K., Cangir, C., Arcak Ç., Arcak, S., 2000. Toprak Kaynakları ve Kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası. 17-19 Ocak 2000, 203-229, Ankara.
- Hardegree, S.P., Emmerich, W.E., 1990. Effect of polyethylene glycol exclusion on the water potential of solution-saturated filter paper. *Plant Physiology*, 92, 462-465.
- 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.
- Howell, W.M., Keller III, G.E., Kirkpatrick, J.D., Jenkins, R.L., Hunsinger, R.N., McLaughlin, E.W., 2007. Effects of the plant steroidal hormone, 24-epibrassinolide, on the mitotic index and growth of onion (*Allium cepa*) root tips. *Genet. Mol. Res.*, 6 (1), 50-58.
- Hu, Y., Bao, F., Li, J., 2000. Promotive effect of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD3-induction pathway in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 24, 693-701.
- 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. *Physiol Plant*, 73, 525-533.
- Huang, C.X., van Steveninck, R.F.M., 1990. Salinity induced structural changes in meristematic cells of barley roots. *New Phytol.*, 115, 17-22.
- İsmailoğlu, I., Ünal, M., Palavan-Ünsal, N., 2004. effects of spermidine, spermine and cyclohexylamine on mitotic activity of 2X, 4X and 6X wheats. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3, 83-88.
- Jiang, W., Liu, D., 2000. Effects of Pb²⁺ on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65, 786-793.
- Kabar, K., 1987. Alleviation of salinity stress by plant growth regulators on seed germination, *J. Plant Physiol.*, 128, 179-183.
- Kabar, K., Baltepe, Ş., 1987. Alleviation of Salinity Stress on Germination of Barley Seeds by Plant Growth Regulators. *Doğa TU J. Biol.*, 11, 108-117.

- Kabar, K., 1989. Interactions Among Salt (NaCl) , Kinetin, and Gibberellic Acid in the Germination of Lettuce Seeds, Doğa TU J. Botany, 13, 296-300.
- 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.
- Kaur, S., Gupta, A.K., Kaur, N., 1998. Gibberellin A₃ reverses the effect of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by enhancing amylase activity and mobilization of starch in cotyledons. Plant Growth Regulation, 26, 85-90.
- Kaur-Sawhney, R., Flores, H.E., Galston, A.W., 1980. Polyamine induced DNA synthesis and mitosis in oat leaf protoplast. Plant Physiol., 65, 368-371.
- Khan, A.A., 1971. Cytokinin: Permissive role in seed germination. Science, 171, 853-859.
- Khan, A.A., 1978. Incorporation of bioactive chemicals into seeds to alleviate environmental stress. Acta Hort., 83, 225-234.
- Khan, M.A., 1991. Studies on germination of *Cressa cretica*. Pakistan. Journal of Weed Science Research, 4, 89-98.
- Khan, M.A., Weber, D.J., 1986. Factors influencing seed germination in *Salicornia pacifica* var. *Utahensis*, Am. J. Bot., 73, 1163-1167.
- Knowles, N.R., Ries, S.K., 1981. Rapid Growth and Apparent Total Nitrogen Increases in Rice and Corn Plants following Applications of Triacntanol. Plant Physiol., 68 (6), 1279-1284.
- Kumaravelu, G., Livingstone, V.D., Ramanujam, M.P., 2000. Triacntanol-Induced Changes in the Growth, Photosynthetic Pigments, Cell Metabolites, Flowering and Yield of Green Gram. Biologia Plantarum, 43 (2), 287-290.
- Kuta, E., 1980. Karyological studies on the genus *Vicia* L. Acta Biol., Cracov Ser Botanica, 22, 81- 89.
- Kwiatowski, J., 1998. Salinity Classification, Mapping and Management in Alberta. Her Majesty The Queen in The Right of Alberta.
- Ladizinsky, G., Hadassa, V.O., 1984. Genetic relationships between wild and cultivated *Vicia ervilia* (L.) Willd. Bot. Jour. of the Linn. Soc., 89, 97-100.
- Liu, P.B.W., Loy, J.B., 1976. Action of gibberellic acid on cell proliferation in the subapical shoot meristem of watermelon seedlings. American Journal of Botany, 63 (5), 700-704.

- Lutsenko, E.K., Marushko, E.A., Kononenko, N.V., Leonova, T.G., 2005. Effects of fusaric acid on the early stages of sorghum growth at high NaCl concentrations. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52, 332-337.
- Lynch, J., Lauchli, A., 1984. Potassium transport in salt-stressed barley roots. *Planta*, 161, 295-301.
- Mansour, M.M.F., Al-Mutawa, M.M., 1999. Stabilization of plasma membrane by polyamines against salt stress. *Cytobios*, 100, 7-17.
- 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.
- Mirza, J.I., Bagni, N., 1991. Effects of exogenous polyamines and difluoromethylornithine on seed germination and root growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation*, 10, 163-168.
- Miyazawa, Y., Nakajima, N., Abe, T., Sakai, A., 2003. Activation of cell proliferation by brassinolide application in tobacco BY-2 cells: effects of brassinolide on cell multiplication, cell-cycle-related gene expression, and organellar DNA contents. *J. Exp. Bot.*, 54, 2669-2678.
- Muthukumarasamy, M., Panneerselvam, R., 1997. Effect of triadimefon and salinity stress on carbohydrate metabolism in radish seedlings. *Indian J. Plant Physiol.*, 2, 242-244.
- Mutlu, F., Bozcuk, S., 2000. Tuzlu koşullarda ayçiçeği tohumların çimlenmesi ve erken büyüme üzerine dışsal spermin'in etkileri. *Turkish Journal of Biology*, 24, 635-643.
- Nieman, R.H., 1965. Expansion of bean leaves and its suppression by salinity. *Plant Physiol.*, 40, 156-161.
- Oh, M.H., Clouse, S.D., 1998. Brassinosteroid affects the rate of cell division in isolated leaf protoplasts of *Petunia hybrida*. *Plant Cell Rep.*, 17, 921-924.
- 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.
- Palavan-Ünsal, N., 1987. Polyamine metabolism in the root of *Phaseolus vulgaris* interaction of the inhibitors of polyamine biosynthesis with putrescine in growth and polyamine biosynthesis. *Plant Cell Physiology*, 28, 565-572.

- Palavan-Ünsal N., Zehir, Z., Sağlam, S., 1990. Inhibition of alpha-amylase release from germinating wheat embryos by abscisic acid cyclohexylammonium, polyamines and ethylene. In: FLORES HE. ARTECA RN. SHANNON JC. (Eds.) Biochemistry, Physiology and Interactions. American Society of Plant Physiologist, 353-357.
- Palmer, M.V., Gunning, B.E.S., 1984. Cytokinin-induced mitosis in cultured explants of *Helianthus tuberosus* L. tuber tissue. Aust. J. Plant Physiol., 11, 1-6.
- Piazza, P., Procissi, A., Jenkins, G.I., Tonelli, C., 2002. Members of the cp1/pl1 regulatory gene family mediate the response of maize aleurone and mesocotyl to different light qualities and cytokinins. Plant Physiology 128, 1077-1086.
- Porath, E., Poljakoff-Mayber, A., 1964. Effect of salinity on metabolic pathways in pea root tips. Israel J. Bot., 13, 115-121.
- Powell, J.N., Grant C.J., Robinson, S.M., Radford, S.G., 1973. A comparison with halothane of the hormonal and anaesthetic properties of ethylene in plants. Br. J. Anaesth, 45 (7), 682-690.
- Prakash, L., Prathapasanen, G., 1988. Effect of NaCl salinity and putrescine on shoot growth, tissue ion concentration and yield of rice. J. Agronomy & Crop Science, 160, 325-334.
- Prakash L., Prathapasanen G., 1990. Interactive effect of. NaCl salinity and gibberellic acid and gibberellin like substances and yield of rice (*Oryza sativa* L. var. G.R.3). Proc. Indian Acad. Sci., 100, 173-181.
- Prisco, J.T., Vieira, G.H.F., 1976. Effects of NaCl salinity on nitrogenous compounds and proteases during germination of *Vigna sinensis* seeds. Physiologia Plantarum, 36, 317-320.
- Promila, K., Kumar, S., 2000. *Vigna radiata* seed germination under salinity. Biologia Plantarum, 43 (3), 423-426.
- Rao, V.S., Sankhla, N., Khan, A.A., 1975. Additiveergistic effects of kinetin and ethrel on germination, thermodormancy and polyribosome formation in lettuce seeds. Plant Physiol., 56, 263-266.
- Redmann, R.E., 1974. Osmotic and specific ion effect on the germination of alfalfa. Canadian Journal of Botany, 52, 803-808.
- Ries, S.K., Wert, V.F., Sweeley, C.C., Leavitt, R.A., 1977. Triacantanol: a new naturally occurring plant growth regulator. Science, 195, 1339-1344.
- Rodriguez, H.G., Roberts, J.K.M., Jordan, W.R., Drew, M.C., 1997. Growth, water relations and accumulation of organic and inorganic solutes in root of maize seedlings during salt stress. Plant Physiol., 113, 881-893.

- Rost, S., Frank, C., Beck, E., 1996. The chloroplast envelope is permeable for maltose but not for maltodextrins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1291, 221-227.
- Roth, P.S., Bach, T.J., Thompson, M.J., 1989. Brassinosteroids: potent inhibitors of transformed tobacco callus cultures. *Plant Sci.*, 59, 63-70.
- Rousi, A., 1960. Cytotoxonomical studies on *Vicia cracca* L. and *V. tenuifolia* Roth. I. Chromosome numbers and karyotype evolution. Department of Biology, University of Turku and Department of Horticulture, Agricultural Research Centre, Pukkio, Finland.
- Rousi, A., 1961. Cytotoxonomical studies on *Vicia cracca* L. and *V. tenuifolia* Roth. I. Chromosome numbers and karyotype evolution. *Hereditas*, 47, 81-110.
- Saha, K., Gupta, K., 1997. Effect of NaCl-salinity on ethylene production and metabolism in sunflower seedlings. *Indian J. Plant Physiol.*, 2, 127-130.
- Sala, C., Sala, F., 1985. Effect of brassinosteroid on cell division and enlargement in culture carrot (*Daucus carota* L.) cells. *Plant Cell Rep.*, 4, 144-147.
- Salisbury, F.B., Ross, C.W., 1992. *Plant Physiology*. Belmont, CA: Wadsworth. 357-407, 531-548.
- 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 stres. *Plant and Soil*, 132, 243-251.
- Scott, T.K., 1984. Hormonal regulation of development. II the functions of hormones from the level of the cell to whole plant. In *Encyclopaedia of Plant Physiology*. New Series. Berlin: Springer-Verlag, 180-185.
- Sharma, P.C., Gupta, P.K., 1982. Karyotypes in Some Pulse Crops. *The Nucleus*, 25, 181- 185.
- Sheoran, I.S., Garg, O.P., 1978. Effect of salinity on the activities of RNase, DNase and protease during germination and early seeding growth of mung bean. *Physiol. Plant*, 44, 171-174.
- Sheoran, I.S., 1980. Changes in amylase during germination and early seedling growth of mungbean (*Vigna radiata* L. Eilczek) under different salts. *Indian Journal of Plant Physiology*, 23, 169-173.
- Smith, T.A., Best, G.R., 1977. Polyamines in barley seedlings. *Phytochemistry*, 16, 814-843.

- Somen, C.K., Seethalakshmi, K.K., 1991. Growth response of seedlings of *Acacia*, *Ailanthus* and *Casuarina* to triacontanol (vipul). Indian Journal of Forestry, 14, 46-50.
- Suresh, B., Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., Ravishankar, G.A., 2004. Polyamine and methyl jasmonate-influenced enhancement of betalaine production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* grown in a bubble column reactor and studies on efflux of pigments. Process Biochem., 39, 2091-2096.
- Tabur, S., Civelek, Ş., Bağcı, E., 2000. Cytotaxonomic Studies On Some *Vicia* L. Species Groving in Eastern Mediterranean and Soutern Aegean Regions", I Acta Bot. Gallica (2), 159-174.
- Tabur, S., Civelek, Ş., Bağcı, E., 2002. Cytotaxonomic Studies On Some *Vicia* L. Species Groving in Eastern Mediterranean and Soutern Aegean Regions II", Acta Bot. Hungarica, 44 (1-2), 185-204.
- 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.
- Tal, M., 1977. Physiology of polyploid plants: DNA, RNA, protein and abscisic acid in autotetraploid and diploid tomato under low and high salinity. Bot. Gaz., 138.
- Terziiskii, 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. Biochem. Soc. Trans., 22, 455.
- Tiwari, B.S., Bose, A., Ghosh, B., 1997. Photosynthesis in rice under a salt stres. Photosynthetica, 34, 303-306.
- Tobe, K., Li, X., Omasa, K., 2002. Effects of sodium, magnesium and calcium salts on seed germination and radicle survival of a halophyte, *Kalidium caspicum* (*Chenopodiaceae*). Australian Journal of Botany, 50, 163-169.
- 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.
- Tomaszewska-Sowa, M., Drozdowska, L., Szota, M., 2002. Effect of cytokinins on *in vitro* morphogenesis and ploidy of pepper *Capsicum annuum* L. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Agronomy, 5, Issue 1.

- Tuncay, H., 1983. Türkiye Toprakları. E.Ü. Ziraat Fak. Teksir Yayınları No: 69, Bornova, İzmir.
- Ungar, I.A., 1974. The effect of salinity and temperature on seed germination and growth of *Hordeum jubatum*. Can. J. Bot., 52, 1457-1462.
- Ungar, I.A., Binet, P., 1975. Factors influencing seed dormancy in *Spergularia media* (L.) C. Presl. Aquatic Botany, 1, 45-55.
- Ünal, M., Palavan-Ünsal, N., Tüfekçi, M.A., 2002. Role of putrescine and its biosynthetic inhibitor on seed germination root elongation and mitosis in *Hordeum vulgare* L. bull Pure and App Sci Sec. B-Botany, 21, 33-38.
- VanDerZanden, A.M., 1999. Oregon State University Extension Service, Master Gardener Handbook, Chapter 1, Botany Basics, İnternet Sitesi: <http://extension.oregonstate.edu/mg/botany/hormones.html> Erişim Tarihi: 04.05.2006.
- Weast, R.C., Astle, M.J., 1980. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 61st edition. C-379. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., Schmülling, T., 2001. Regulation of plant growth by cytokinins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98, 10487-10492.
- Worley, J.F., Mitchell, J.R., 1971. Growth responses induced by brassins (fatty plant hormones) in bean plants. J. Am. Soc. Hort. Sci., 96, 270-273.
- Yamamoto, K., 1973. Karyotaxonomical studies on *Vicia* I. on the karyotype and character of some annual species of *Vicia*. Japan J. Genetics, 48, 315-327.
- Yasseen, B.T., Jurjee J.A., Sofajy, S.A., 1987. Changes in some growth processes induced by NaCl. in individual leaves of two barley cultivars. Indian. Journal of Plant Physiology, 30, 1- 6.
- Younis, A.F., Hatata, M.A., 1971. Studies on the effects of certain salts on germination, on growth of root, and on metabolism. I. Effects of chlorides and sulfates of sodium, potassium and magnesium on germination of wheat grains. Plant and Soil, 34, 183-200.
- Yürekli, F., Türkan, I., Porgali, Z.B., Topçuoğlu, F., 2001. Indoleacetic acid, gibberellic acid, zeatin and abscisic acid levels in NaCl-treated tomato species differing in salt tolerance. Israel Journal of Plant Science, 49 (4), 269-277.
- Yürekli, F., Porgali, Z.B., Türkan I, 2004, Variations in abscisic acid, indole-3acetic acid, gibberellic acid and zeatin concentrations in two bean species subjected to salt stress. Acta Biologia Cracovensia Series Botanica, 46, 201-212.

- Zapata, P.J., Serrano, M., Pretel, A.T., Amoros, A., Botella, M.A., 2004. Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. *Plant Sci.*, 167, 781–788.
- Zhu, J.K., 2001. Over expression of a delta-pyroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in transgenic rice. *Trends Plant Science*, 6, 66-72.

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı : Kıymet DEMİR

Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 1979

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Isparta Sağlık Meslek Lisesi Hemşirelik Bölümü, 1997

Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü, 2003

Yüksek Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, 2007

Çalıştığı Kurum ve Yıl : Süleyman Demirel Üniversitesi
Araştırma ve Uygulama Hastanesi, 1997-2007

Uşak İl Çevre ve Orman Müdürlüğü, 2007- Devam ediyor