

**KANOLA BİTKİSİNE ÇEŞİTLİ
STRES UYGULAMALARI SONUCUNDA
OLAN DEĞİŞİKLİKLERİN EMBRİYO
KÜLTÜRÜ İLE SAPTANMASI**

Yasin KÖYCÜ
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
Ağustos-2006

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Yasin Köycü'nün "Kanola Bitkisine Çeşitli Stres Uygulamaları Sonucunda Olan Değişikliklerin Embriyo Kültürü ile Saptanması" başlıklı **Biyoloji** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 10.07.2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Yard. Doç. Dr. BANU A. EKMEKÇİ
Üye	: Doç. Dr. GÜLER ÇOLAK
Üye	: Yard. Doç. Dr. EMEL SÖZEN

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET**Yüksek Lisans Tezi****KANOLA BİTKİSİNE ÇEŞİTLİ STRES UYGULAMALARI SONUCUNDA
OLAN DEĞİŞİKLİKLERİN EMBRİYO KÜLTÜRÜ İLE SAPTANMASI****Yasin KÖYCÜ****Anadolu Üniversitesi****Fen Bilimleri Enstitüsü****Biyoloji Anabilim Dalı****Danışman: Yard. Doç. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ****2006, 44 sayfa**

Bu yüksek lisans çalışmasında farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri ve farklı konsantrasyonlardaki tuzun *Brassica napus* L. (kanola)'nın gelişimi üzerinde oluşturduğu stres embriyo kültürü tekniği kullanılarak incelenmiştir. En iyi gelişim bir sitokin olan Kinetin ile elde edilmiştir. α -NAA, IAA ve gibberellik asit gövde gelişimini arttırmış fakat kök gelişimi üzerinde yeterli etki gösterememiştir. Sentetik bir oksin olan 2,4-D en az etki gösteren büyüme düzenleyicisi olmuş, hatta gelişimi olumsuz yönde etkilemiştir. Yüksek konsantrasyonlardaki tuzun kanola üzerinde stres oluşturduğu, gelişimi yavaşlattığı fakat engellemediği saptanmıştır. Kanolanın tuz stresine karşı toleranslı olduğu ve ortamda bulunan düşük konsantrasyondaki tuzun kanolanın gelişimini olumlu yönde etkilediği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kanola, Tuz Stresi, Bitki Büyüme Düzenleyicileri, Embriyo Kültürü, Stres Fizyolojisi

ABSTRACT**Master of Science Thesis****DETERMINING THE MODIFICATIONS RESULT FROM DIFFERENT
STRESS APPLICATIONS ON CANOLA BY USING EMBRYO CULTURE****Yasin KÖYCÜ****Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program****Supervisor: Asist. Prof. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ****2006, 44 pages**

In this master of science thesis study, the effects of different plant growth regulators and the stress caused by different salt concentrations on the growth of *Brassica napus* L. (canola) are investigated by using embryo culture technique. The best growth is obtained with Kinetin which is a kind of cytokinin. α -NAA, IAA and gibberellic acid induced the shoot growth but did not have sufficient effect on root development. A kind of synthetical auxin, 2,4-D, was the least effective growth regulator, even it had negative effect on growth. It is found that high concentrations of salt caused stress on canola, decelerated development, but did not inhibit growth. The study demonstrated that canola is tolerant to salt stress and low salt concentration positively affects the growth.

Keywords: Canola, Salt Stress, Plant Growth Regulators, Embryo Culture, Stress Physiology

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tezini tamamlamamda değerli bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren danışman hocam; Sayın Yard. Doç. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ'ye, Fen Bilimleri Enstitüsü Sekreteri Sayın Serpil YILDIRIM'a ve bana her zaman destek olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yasin KÖYCÜ

Ağustos, 2006

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Embriyonun Yapısı	4
1.2. Çimlenme	4
1.3. Kallus Oluşumu	5
1.4. Kararma ve Salgılama	5
1.5. Bitki Büyüme Maddeleri	6
1.5.1. Oksinler.....	6
1.5.2. İndol-3 Asetik Asit (IAA).....	7
1.5.3. Naftalen Asetik Asit (NAA)	8
1.5.4. 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D)	9
1.5.5. Kinetin	9
1.5.6. Gibberellinler	10
1.6. Stres Fizyolojisi	11
1.6.1. Stresin tanımı ve çeşitleri	11
1.6.2. Stresin dereceleri	13
1.6.3. Stresle ilgili kavramlar	13
1.6.4. Tuz Stresi	14
1.6.5. Tuz stresine tolerans metabolizması	16
1.6.6. Tuz stresine karşı toleransta moleküler mekanizmalar	18

2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
2.1. Materyal	19
2.2. Yöntem	19
2.2.1. Sterilizasyon	20
2.2.2. MS besiyerinin hazırlanması ve sterilizasyonu	20
2.2.3. Tohumların yüzey sterilizasyonu, embriyoların steril ortamda çıkartılması ve ekimi.....	22
3. BULGULAR.....	23
3.1. Farklı Bitki Büyüme Maddelerinin Kanola Bitkisinin Gelişimine Etkileri	23
3.2. <i>Brassica napus</i> L. (Kanola)'da Tuz Stresi	31
4. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. IAA'nin kimyasal formülü.....	8
1.2. α -NAA'in kimyasal formülü.....	8
1.3. 2,4-D'nin kimyasal formülü.....	9
1.4. Kinetin'in kimyasal formülü.....	9
1.5. Gibberellik asit (GA_3)'ün kimyasal formülü.....	10
2.1. Kanola bitkisinin genel görünüşü.....	19
2.2. Kanola çiçeği	19
3.1. α -NAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri	24
3.2. Kinetin içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri.....	24
3.3. IAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri.....	25
3.4. GA_3 içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri.....	25
3.5. 2,4-D içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri.....	26
3.6. α -NAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü.....	26
3.7. Kinetin içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü.....	27
3.8. IAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü.....	27
3.9. GA_3 içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü.....	28
3.10. 2,4-D içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü.....	28
3.11. Ortalama gövde uzunlukları.....	29
3.12. Ortalama kök uzunlukları.....	29
3.13. Yaşayan bitki sayısı.....	30
3.14. %3 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları.....	32
3.15. %2 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları.....	32
3.16. %1,5 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları.....	33
3.17. %1 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları.....	33
3.18. % 0,5 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları	34

3.19. %3 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü.....	34
3.20. %2 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü.....	35
3.21. %1,5 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü.....	35
3.22. %1 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü.....	36
3.23. % 0,5 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü.....	36
3.24. NaCl içermeyen MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü.....	37
3.25. Tuz stresine bağlı ortalama gövde uzunlukları.....	37
3.26. Tuz stresine bağlı ortalama kök uzunlukları.....	38
3.27. Tuz stresine bağlı canlı bitki sayısı.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. Kaynaklarına göre bitkileri etkileyen stres çeşitleri	12
2.1. Murashige & Skoog (MS) besiyeri bileşiminde bulunan kimyasal maddeler ve konsantrasyonları.....	21
3.1. Ortalama gövde uzunlukları.....	29
3.2. Ortalama kök uzunlukları.....	29
3.3. Yaşayan bitki sayıları.....	30
3.4. Tuz stresine bağlı ortalama gövde uzunlukları	37
3.5. Tuz stresine bağlı ortalama kök uzunlukları.....	38
3.6. Tuz stresine bağlı canlı bitki sayıları.....	38

1. GİRİŞ

Yirminci yüzyılın ikinci yarısına damgasını vuran ve daha şimdiden hayatımıza girmeye başlayan biyoteknolojinin tıp, eczacılık, gıda, tarım, hayvancılık, veterinerlik, madencilik, ormancılık, şehircilik, su arıtımı vb, alanlarda yararları ve yeni kullanım yerleri her gün artmaktadır. Bilim ve mühendislik yöntemlerini kullanarak ve biyolojik ajanlardan yararlanarak maddelerden yeni ürünler elde etmek, ürünleri değiştirmek veya özel kullanım amaçlı mikroorganizmaları geliştirmek amacıyla kullanılan teknolojiler olarak tanımlanabilen biyoteknolojinin uygulama alanları içinde en hızlı gelişme potansiyeline sahip olanlarından birisi bitki biyoteknolojisidir. Bitki biyoteknolojisi ise çeşitli doku kültürü ve genetik mühendisliği tekniklerini kullanarak bitkilerin moleküler düzeyde iyileştirilmesini amaçlamaktadır.

Dünya nüfusu her geçen gün hızla artmaktadır. Normal bir artış hızıyla 2025 yılında 8,3 milyara ve 2100 yılında da 11 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir. Buna paralel olarak 21. yüzyılın sonunda dünyadaki mevcut kaynaklar insanların gelecekteki ihtiyaçlarını karşılamakta yeterli olmayacaktır. (Babaoğlu 2001). Dünya üzerindeki tarım alanları sınırlı olduğu için bitki ıslahına verilen önem giderek artmaktadır. Bitki ıslahının en önemli amaçlarından biri verim ve kaliteyi artırmaktır (Algan ve Aygün 2001). Bitki ıslahı sayesinde kültürü yapılan bitkilerin verim kabiliyetlerini arttırmak, ürün kalitesini düzeltmek ve masrafları azaltmak, hastalıklar ve zararlılar nedeniyle oluşan ürün kayıplarını azaltmak, uygun olmayan çevresel şartlara dayanıklı bitkiler elde etmek mümkündür.

Dünya nüfusunun beslenmesinde en çok kullanılan yaklaşık 30 bitki grubu içinde en önemlileri tahıllar, baklagiller, endüstri bitkileri, sebzeler ve meyve ağaçlarıdır. Ancak buğday, çeltik, mısır ve patatesin üretim miktarlarının toplamı diğer ürünlerin toplamından daha fazladır. Bununla beraber dünya florasında yaklaşık 250 bin bitki türünün bulunduğu fakat bunlardan sadece 3000 adedinin besin değerine sahip olduğu bildirilmektedir (Babaoğlu, 2001). Bu nedenle mevcut bitkileri en iyi şekilde değerlendirmenin yolu bitki ıslahıdır.

Bitki biyoteknolojisinin en önemli uygulama alanlarından birisi doku kültürüdür. Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besi yeri ortamında,

bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir. Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik varyabilite oluşturmak doku kültürünün temel amaçları arasında sayılabilir. Bu nedenle bitki doku kültürleri genetiksel iyileştirme çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretiminde çeşitli doku kültürü teknikleri rutin olarak uygulanmaktadır.

Bitki doku kültürlerinin bitki ıslahındaki uygulama alanları: somatik hücre melezlemesi, gen transferi, hastaliksız bitki elde etmek için meristem kültürü, mikro çoğaltım, sentetik tohum üretimi, sekonder metabolit üretimi ve özellikle süs bitkilerinin elde edilmesinde kullanılan kimeralar şeklinde sıralanabilir. Doku kültürü ayrıca protoplast izolasyonu, hücre, doku ve bitki beslenmesi, sitogenetik çalışmalar, morfogenesis çalışmaları ve biyolojik azot fiksasyonu gibi temel araştırmalarda da kullanılmaktadır.

Doku kültüründe ovul ve embriyo kültürü, meristem kültürü, anter ve polen kültürü, kallus ve hücre kültürü ve protoplast kültürü gibi teknikler uygulanmaktadır.

Embriyo kültüründe en kolay yöntem, embriyonun doğal yeri olan ovaryumda, ya da izole edilmiş tohum taslağında gelişimini sağlamaktadır. Eğer tohum taslağı uygun besleyici ortama konursa zigotun olgunlaşarak gelişmesi mümkün olur. Bitki embriyogenezi konusundaki araştırmalar son yıllarda izole embriyoların aseptik kültürlerde incelenmesi şeklinde yapılmaktadır (Palavan-Ünsal 1993).

Kanola (*Brassica napus* L.) ekonomik önemi gittikçe artan değerli bir tarım bitkisidir. Diğer adı da kolzadır. Bu çeşitler ilkönce Kanada'da ıslah edilmesi nedeniyle Kanada ve yağ (oil) isimlerinin birlikte kullanılması ile kanola adını almıştır (Anonim). Kanola, bitkisel yağ kaynağı olarak yağlı tohumlu bitkiler olan ayçiçeği, soya, pamuk ve yer fıstığı arasında üretim açısından üçüncü sıraya sahiptir. Dünya'da yıllık üretimi 22 milyon ton civarındadır. Ülkemizde de bitkisel yağ açığını kapatmak amacıyla kanola tarımının yaygınlaşması için çalışmalar yapılmaktadır (Süzer 2001a).

Ülkemizde rapiska, rapitsa, isimleriyle de bilinen kanola, kışlık ve yazlık olmak üzere iki fizyolojik döneme sahip bir yağ bitkisidir. Kanola danesinde bulunan % 38-50 yağ ve % 16-24 protein ile önemli bir yağ bitkisidir. Önceden kolza olarak isimlendirilen çeşitlerde bulunan % 45-50 oranındaki insanlar ve hayvanlar için toksik olan erüsik asit ve glukosinolat içeriği, ıslah çalışmaları ile % 0 düzeyine düşürülerek bitkisel yağ ihtiyacı için üretime alınmıştır (Algan 1990, Shahidi 1990).

Kanola çeşitlerinden elde edilen bitkisel yağ besin değeri ve içeriği bakımından zeytinyağı ve yerfıstığı yağının kalitesine yakın olup, dünya kanola üretiminin önemli bir kısmı insan beslenmesinde kullanılmaktadır. Doymuş yağ oranı oldukça düşüktür (%7), dengeli bir omega-3 ve omega-6 yağ asidi dağılımına sahiptir (Anonim). Bu nedenle margarinlerde kullanılabilir. Ayrıca yağlayıcılarda ve plastik sanayinde de kullanımı vardır (Adamsen ve Coffelt 2005). Kanola tohumlarında yağ çıkarıldıktan sonra geriye kalan küspe değerli bir hayvan yemidir. Çiçekleri ise arıcılık açısından önemlidir (Atakişi 1991).

Alternatif enerji kaynağı olarak da Kanola yağından Biyodizel üretimi son yıllarda hızla artmaktadır. Kanola tohumlarından soğuk presleme ile elde edilen ham yağ metanol ile katalizör eşliğinde normal basınç ve ısıda estere dönüştürülür. 1 kg tohumdan 450 gr yağ çıkmaktadır ve metanol ile reaksiyondan sonra 450 gr biyodizel yakıt elde edilebilmektedir (Süzer 2001b).

Tuz stresi gıda ürünlerinin üretimi için giderek artan bir sorun haline gelmektedir. Yanlış sulama nedeniyle tarım alanları giderek tuzlanmakta ve bitkiler daha fazla tuz maruz kalmaktadır. Tuzluluk tarım, ormancılık ve mera gelişimi gibi etkinlikleri tehdit etmektedir (Ramoliya ve Pandey 2004).

Bu çalışmada çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olan ve önemi giderek artan Kanola bitkisinin doku kültürü ile üretiminde hangi bitki büyüme maddelerinin kullanılmasının uygun olacağı ve farklı tuz konsantrasyonlarının kanola bitkisinin gelişimi üzerinde oluşturduğu stres embriyo kültürü tekniği kullanılarak incelenmiştir.

1.1. Embriyonun Yapısı

Döllenmeden sonra olgunlaşıp gelişen tohum taslağı ve içinde oluşan embriyo tohum denilen yapıyı meydana getirir. Tohumun içerdiği besin maddeleri onun çimlenip fotosentetik olarak etkin bir organizma şeklini almasını sağlar. Döllenmeden sonra tohum taslağı ve endosperm büyümesi beraber gider, endosperm miktarının birden artışı embriyo kesesinin gelişmesi ile paralellik gösterir. Endosperm miktarı en yüksek düzeye ulaştığında embriyo gelişmeye başlar, endosperm sürekli azalırken tohum taslağı ve embriyoda birbirine paralel bir artış görülür.

Döllenmiş yumurta hücresinin (zigotun) gelişmesi ile bütün bitkiyi oluşturma potansiyeline sahip olan embriyo meydana gelir. Embriyo bitkinin küçük bir yavrusudur. Çimlenmeden sonra embriyo genç bitkiyi verir. (Karamanoğlu 1973). Kapalı tohumlu bitkiler çenek (kotiledon) sayısına göre çift çenekli (Dicotyledonae) ve tek çenekli (Monocotyledonae) sınıflarına ayrılırlar. Embriyoda başlıca şu kısımlar bulunur:

1. Kotiledon veya çanak (yapraksı yapı)
2. Plumula (gövdeyi verecek olan meristem bölgesi)
3. Radikula (kökü verecek olan meristem bölgesi)
4. Hipokotil (kotiledonların alt kısmındaki kısa eksen)
5. Epikotil (kotiledon ile plumula arasındaki kısa eksen)

Süspansör proembriyonun radikular ucunda bulunan geçici bir yapıdır. Bu yapı embriyoyu embriyo kesesine bağlar ve uygun bir besi ortamı olan endospermin içine doğru iter. Bazı familyalarda endosperm yoktur, embriyo çok iyi gelişmiş olan süspansör emeçleri içerir (Akman 1998a).

1.2. Çimlenme

Çimlenme biyolojik anlamda, elverişli koşullarda tohum embriyosundan normal bir bitki meydana getirebilme yeteneğinde olan yapıların ortaya çıkması şeklinde tanımlanır. Diğer bir deyimle tohum gömleğinden radikulanın belirimi

çimlenme olayının en önemli kriteri olarak kabul edilir. Çimlenme olayını su, ışık, gazlar, sıcaklık, teşvik ediciler ve ket vurucular gibi etmenler etkiler.

Kuru tohum son derece düşük metabolizmaya sahiptir. Kuru tohumun su içeriği %5–10 arasındadır ve metabolizma potansiyel olarak korunmaktadır. Kuru tohumlar sulu bir ortama konduğunda (uygun sıcaklık ve oksijen) çimlenme sürecinin birbirini izleyen dört kademedен oluştuğu ortaya çıkar: suyun emilimi, enzim sistemlerinin oluşması, büyümenin başlaması ve kök belirimi ile fidenin büyümesi.

1.3. Kallus Oluşumu

Embriyo kültürlerinde, tohumdan embriyonun çıkartılması sırasında ya da besi ortamına ekim yapılırken embriyo üzerinde yaralar meydana gelebilmektedir. Bu yaralar embriyonun ilerleyen gelişim aşamalarında uygun koşullarda kallus oluştururlar. Bitkiler kesik yüzeyler üzerinde kök oluşturma yetenekleri bakımından birbirinden farklıdır. Yaralanma sonucu oluşan kesik yüzeylerde kallus oluşması ile adventif kökler meydana gelir. Bunlara yara kökleri denir. Adventif kökler bitkilerin vejetatif olarak üremesine yardımcı olur. Bunlar aşı ve çelikle üretmeden ayrı olarak doku kültürünün temelini oluştururlar (Aslanargun 1992).

1.4. Kararma ve Salgılama

Bitkilerin birçoğu doğal olarak fenolik bileşikler bakımından zengindir ve bu maddeler genellikle engelleyici maddeler olarak bilinmektedirler. Polifenollere ilave olarak bitkiler kumarinler, terpenoidler ve steroidler gibi diğer bazı engelleyici bileşikleri de içerebilirler. Bu engelleyiciler bitkiler üzerinde cüceleşme ve hatta ölüm gibi çeşitli fitotoksik etkilere sahiptirler.

Dokular ana bitkiden ayrılıp eksplant hazırlanması sırasında yaralanırlar; bu durum çoğunlukla hava tarafından okside edilen, peroksidazlar tarafından okside edilen veya polifenoloksidazlar tarafından okside edilen ve hem dokularda hem de kültür ortamında kahverengileşmeye veya kararma ile sonuçlanan çeşitli

bileşiklerin açığa çıkmasına neden olur. Bitki zarar gördüğünde (eksplant hazırlanmasında olduğu gibi) fenolik bileşikler, plastidlerle ve diğer organellerle karışık bir halde vakuollerin içerisinde büyük miktarda depolanırlar ve okside olmuş polifenollerin meydana gelmesiyle de koyu renk pigmentasyonu görülmeye başlanır. Okside olmuş bu bileşikler, enzim aktivitesini etkilemekte; böylece eksplantı öldürücü kararına sonucu ortaya çıkmaktadır (Elliathıoğlu 2000).

1.5. Bitki Büyüme Maddeleri

Bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde rol oynayan en önemli iç faktörler bitki hormonları veya bitki büyüme maddeleri ya da düzenleyicileridir. Bitkilerde meydana gelen belli başlı büyüme düzenleyicileri: Oksinler, Giberellinler, Sitokininler, Absisik asit ve Etilen'dir. Büyüme düzenleyici faaliyetlerinde bulunan birkaç bileşik daha bitkilerde bulunmuştur. Fakat birçok bitki türlerinde bunların buldukları yer gösterilememiştir ve bitki metabolizmasındaki rolleri tam olarak açıklanmamıştır (Aslanargun 2002).

Bitki büyüme maddeleri bitki içerisinde taşınma özelliğine sahip olup gittiği doku ve organlarda büyüme ve farklılaşmaya neden olurlar. (Akman ve Darıcı 1998). Taşınma mesafesi yapraktan tomurcuğa taşınma gibi nispeten uzun olabileceği gibi apikal meristemden alttaki hücrelere taşınma gibi daha kısa uzaklıkta da meydana gelebilir. Genellikle bitki büyüme maddelerinin içsel konsantrasyonları 1µM veya daha azdır. (Palavan-Ünsal 1993). Bitkinin büyüme ve gelişmesi daima kontrol altındadır.

1.5.1. Oksinler

Oksinler çok düşük konsantrasyonlarda koleoptil segmentleri veya fidelerin hipokotilleri gibi duyarlı bitki organlarının uzunlamasına büyümesini teşvik eden bileşiklerdir. İlk olarak keşfedilen bitki büyüme maddeleridir (Street ve Öpik 1984). Basit olarak indol-3-asetik asit (IAA) olarak tanımlanmışlardır. Oksin sentezi, gövdenin apeksinde, uç tomurcukların genç yapraklarında ve meristem hücrelerinde gerçekleşir. Ayrıca internodların uzamasını sağlayan interkalar

meristemler de aktif oksin sentez yerleridir. Oksin bitkide, sentezlendiği yerden köklere kadar gider ve yolda bir bozulmaya uğramaz.

Bir oksinin etkisi büyük ölçüde dokulardaki veya ortamdaki konsantrasyonuna bağlıdır. Genellikle hücre uzamasına etki eder. Gövdeler ve çiçek saplarında oksinin etkisi en hassas hücrelerde, yani subapikal uzama bölgelerinde bulunan hücrelerde belirgin bir uzamaya sebep olur.

Oksinler bitkilerde fototropizma olayında rol oynarlar. Fototropizma, karanlık yüzle aydınlık yüz arasındaki büyüme farkının sonucudur, buradaki bükülmelerin oksin dağılışının eşit olmaması sonucu meydana geldiği düşünülmektedir.

Oksin, dokulara ve bunların farklılaşmasına çok değişik şekillerde etki eder. Oksin iletim dokularının oluşumunu (histogenez) kolaylaştırır; değişik dozlarda, tomurcukların gelişimini engeller veya hızlandırır ve nihayet köklerin oluşumunu (rizogenez) uyarır (Akman ve Darıcı 1998).

Oksinlerin bitkiler üzerindeki diğer etkileri genel olarak şu şekilde sıralanabilir: oksinler hücre bölünmesini teşvik ederler, bazı türlerde partenokarpik meyve gelişimini sağlarlar, kesilmiş parçaların köklenmesini sağlarlar, bazen yaprak absisyonu ve senesensi engellerler, çiftleşeyli çiçeklerin cinsiyetini etkilerler ve morfogenezde rol oynarlar (Street ve Öpik 1984).

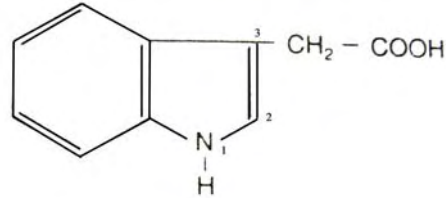
Yerçekimi hareketine karşı oksinler yan dalların toprağa bakan yüzünde birikerek sürekli hücre büyümesini sağlarlar. Bu şekilde dalların sürekli yukarıya doğru yönelmesini temin ederler.

Köklerde ise durum gövdedekinin tam tersinedir. Daha düşük konsantrasyonlardaki oksinler daima üst kısımlardaki hücrelerin büyümelerini sağlarlar.

Bitki sürgünlerinde yan gözlerin büyümesi, apikal ve terminal gözlerin oksin meydana getirmesi sonucu engellenir. Eğer apikal göz uç alma veya budama ile kesilirse, hemen yan gözler büyümeye başlar ve çok dallı bir bitki meydana gelir. Eğer ucu kesilmiş dalın kesme yüzüne oksin uygulanırsa yan gözlerin büyümesi engellenir. Böylece apikal gözünün meydana getirdiği oksinle yan gözlerin büyümelerinin engellenmesine "Apikal Dominansi" denir. Oksinler apikal baskınlıkta aktiftirler (Aslanargun 2002).

1.5.2. İndol-3 Asetik Asit (IAA)

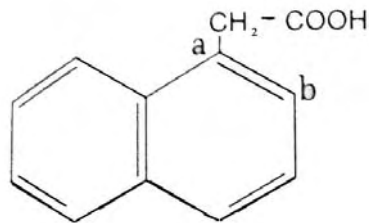
Bitki dokularında teşhis edilen en önemli doğal oksin İndol-3-asetik asit (IAA)'tir (Şekil 1.1). Diğer indol bileşikleri de bitki dokularında doğal oksin olarak bulunurlar. Fakat bunların IAA'in türevleri olduğu tahmin edilir.



Şekil 1.1 IAA'nin kimyasal formülü (Akman ve ark. 2001)

1.5.3. α -Naftalen Asetik Asit (α -NAA)

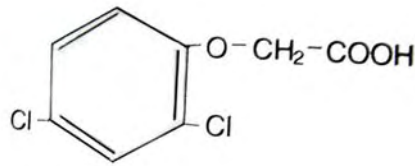
α -naftalen asetik asit özellikle doku kültüründe en çok kullanılan sentez oksinidir (Şekil 1.2). Bu hormon IAA'dan biraz daha etkilidir. Yüksek dozda az toksiktir ve IAA ile kullanılandan 2-5 defa daha az dozda kullanılarak benzer etkiler elde edilir.



Şekil 1.2. α -NAA'in kimyasal formülü (Akman ve ark. 2001)

1.5.4. 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D)

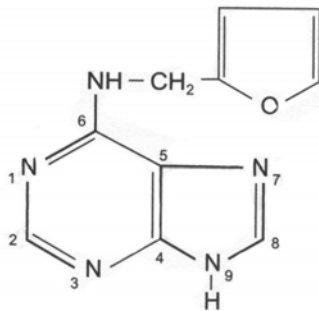
2,4-D sentetik olarak elde edilen fenoksiasetik asit türevi bir oksindir (Şekil 1.3). Muhtemelen en fazla kullanılan sentetik oksindir. IAA kadar hızlı metabolize edilemediği için oldukça etkilidir. Mısır gibi monokotiller tarafından kolayca metabolize edilebildikleri için dikoltil yabancı otlara karşı herbisid olarak kullanılır. (Taiz ve Zeiger 2002).



Şekil 1.3. 2,4-D'nin kimyasal formülü (Akman ve ark. 2001)

1.5.5. Kinetin

Kinetin (6-furfurilaminopurin) DNA'nın otoklavdan geçirilmesi ile elde edilmiştir (Şekil 1.4). Doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan sentetik bir sitokinidir. Sitokinlerin en önemli özellikleri DNA'dan sentetik olarak elde edilmeleridir.



Şekil 1.4. Kinetin'in kimyasal formülü (Akman ve ark. 2001)

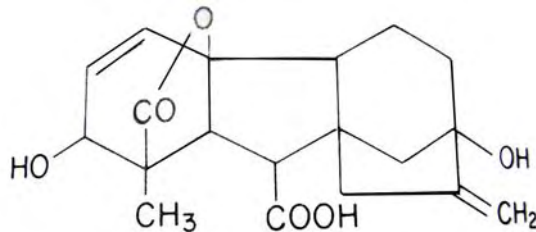
Sitokininler bitki dokularında özellikle hücre bölünmeleri sırasında ortaya çıkan ve 6-Adenin türevleri olan organik maddelerdir. Bitkilerde doğal olarak görülen on beş civarında doğal sitokinin bilinmektedir (Street ve Öpik 1984). Bir sitokinin olan Kinetin 1956'da keşfedilmiştir (Akman ve Darıcı 1998). Sitokininler özellikle doku kültürleri ile çoğaltmada hücre bölünmesini teşvik ederler. Sitokinin çok küçük konsantrasyonları dahi dokularda hücre sayısı ve kuru ağırlığı artırır (Aslanargun 2002).

Sitokininlerin organizma düzeyindeki etkileri şu şekilde sıralanabilir: Yan tomurcukların oluşumunu başlatırlar ve tepe tomurcuğunun dominansinin neden olduğu engellemeyi azaltırlar. Buna karşılık köklerin gelişimini sınırlarlar. Partenokarpi ve çiçeklenmeyi teşvik eder ve senesensi geciktirirler.

Çok sayıda tohumun dormansisini kaldırır, bunların çimlenmesini de kolaylaştırmaktadır. Elverişsiz fotoperiodik koşullarda, bazı türlerde çiçek taslaklarının gelişimine yol açarlar. Proplastidlerin kloroplastlara dönüşümünü uyarırlar, klorofilin döngüsünü yavaşlatırlar ve etli yaprakların yaşlanmasını geciktirirler. Bu etkiler içinde hücre büyümesi ve yeni tomurcukların oluşumu biyolojik olarak en önemli olaylar olarak görünmektedir (Akman ve Darıcı 1998).

1.5.6. Gibberellinler

Bitki büyümesini teşvik eden hormonlardan tipik bir şekilde uzamayı etkileyen gibberellinlerdir. Bu madde ilk kez 1926'da Japonlar tarafından *Gibberella fujikuroi* adlı özel bir küf mantarında tespit edilmiştir (Önder 1985). Bir Ascomycetes türü olan bu parazit mantar, konak bitkide Bakanea hastalığı denen devleşmeye neden olmaktadır (Akman ve ark. 2001).



Şekil 1.5. Gibberellik asit (GA₃)'ün kimyasal formülü (Street ve Öpik 1984)

Gibberellinler kimyasal yapıda diterpenoid olarak tanımlanır. Bugüne kadar yapılan araştırmalarla gibberellinlerin 125'den fazla değişik tipinin varlığı saptanmıştır (Taiz ve Zeiger 2002). Yapılan araştırmalarla gibberellinlerin sentez merkezlerinin embriyo, genç yapraklar ve kök ucu gibi yapılar olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca farklı ortam şartları, Gibberellik asidin kimyasal yapısı (Şekil 1.5), gibberellinlerin biyosentezini etkiler.

Yapılan birçok araştırma, gibberellinlerin bazı enzimlere etkisini ortaya koymuştur, özellikle gibberellin, nişastayı parçalayan α -amilaza etki ederek glikoza dönüşümünü hızlandırır. Glikozun artmasına bağlı olarak Krebs çemberi hızlanır ve solunumun bu fazında meydana gelen ATP sentezleri de artar. Enerji çoğalınca bitkideki sentez olayları da hızlanır. Gibberellinin bu etkisinden başka, en önemli özelliklerinden birisi de uzamayı hızlandırması ve kalıtsal cüceliği (nanizm) ortadan kaldırmasıdır. Bundan başka, çiçeklenmeyi hızlandırdığı, bitkiyi erkeklik yönünde etkilediği, vernalizasyonun yerini tuttuğu, meyvelenmeyi çabuklaştırdığı ve partenokarpik meyve gelişmesine sebep olduğu saptanmıştır. Bu bulgulara ek olarak, gibberellinlerin organlardaki uyku halini kaldırdığı, çimlenmeyi hızlandırdığı, absisyona ket vurduğu da kanıtlanmıştır. Bunlardan başka birçok veri gibberellinlerin etkilerini oksinlerle birlikte çalışarak gösterdiklerini ortaya koymuştur (Önder 1985).

1.6. Stres Fizyolojisi

1.6.1. Stresin tanımı ve çeşitleri

Hem doğal hem de tarımsal koşullarda bitkiler sıklıkla çevresel streslere maruz kalırlar. Hava sıcaklığı gibi bazı çevresel faktörler sadece birkaç dakika içinde stres oluşturabilirken, toprak suyu içeriği ve topraktaki mineral eksikliği gibi diğerler faktörlerin stres oluşturması günler hatta haftalar sürebilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde optimal olmayan iklim ve toprak koşullarının neden olduğu stresten dolayı, tarla ürünlerinin genetik potansiyellerinin yalnızca % 22'si kadar ürün verdiği tahmin edilmektedir (Boyer 1982).

Ayrıca, toprak ve iklimin, bitki türlerinin dağılımını nasıl sınırlandırdığını belirlemede stres büyük bir rol oynar. Bu nedenle, bitkilerin çevresel strese uyum ve aklimasyon mekanizmaları ile stres yaralanmaları altında yatan fizyolojik süreçleri anlamak, hem tarım hem de çevre açısından büyük bir öneme sahiptir.

Stres, değişik şekillerde tarif edilmekle birlikte kısaca; canlılarda hasar meydana getiren güç (potansiyel) olarak tarif edilir. Bu zarar metabolizma sonucu meydana gelir. Sonuçta bir bitkinin veya organın büyümesinde ve verimliliğinde azalmaya, hatta ölüme neden olabilir (Kocaçalışkan 2002). Çizelge 1.1 bitkileri etkileyen stres çeşitlerini gösterilmektedir.

Çizelge 1.1. Kaynaklarına göre bitkileri etkileyen stres çeşitleri (Kocaçalışkan 2002)

<u>A. Fiziksel</u>	<u>B. Kimyasal</u>	<u>C. Biyolojik</u>
1. Kuraklık	1. Tuzluluk	1. Alleopati
2. Sıcaklık	2. Besin	2. Rekabet
3. Işınlr	3. Hava kirliliği	3. Parazitizm
4. Elektromanyetik alan	4. Pestisitler	4. İnsan tahribi
5. Rüzgar ve fırtına	5. Herbisitler	5. Hayvan tahribi
6. Toprak yapısı	6. Toprak pH'sı	6. Hastalıklar

Stres kısaca bitki üzerinde olumsuz etki yapan herhangi bir dışsal faktördür. Çoğu durumda stresin miktarı bitkinin hayatta kalma, ürün verme, gelişimi (biyomas birikimi) ile ve ya birincil asimilasyon süreçleri ile ölçülür.

Eğer strese maruz kalma nedeni ile tolerans artıyorsa bitkinin aklimatize olduğu (ortama uyduğu) söylenir. Aklimatizasyon adaptasyonla aynı anlama gelmez. Adaptasyon pek çok jenerasyon sonunda bir seçim süreci ile kazanılan, genetik olarak belirli bir dirençlilik düzeyini belirtmek için kullanılır.

Çevresel strese adaptasyon ve aklimasyon, bitkinin anatomik ve morfolojik düzeyinden, hücresel, biyokimyasal ve moleküler düzeyine kadar pek çok entegre olaylarla sonuçlanır. Strese hücresel cevap hücre döngüsü ve hücre bölünmesinde, endomembran sisteminde ve hücrenin vakuolizasyonunda, hücre duvarının yapısında hücrelerin strese toleransını sağlayan değişiklikleri içerir. Biyokimyasal düzeyde bitkiler çevresel stresi bitirmek için metabolizmalarını çeşitli şekillerde

değiştirirler. Bu değişiklikler prolin ve glisin-betain gibi osmoregülatör bileşiklerin yapımını içerir. Stres sinyalinin algılanmasını tolerans sağlayan genomik cevaplarla ilişkilendiren moleküler olaylar son yıllarda yoğun şekilde araştırılmaktadır (Taiz ve Zeiger 2002).

1.6.2. Stresin dereceleri

Eğer bitkiler herhangi bir stres kaynağına maruz değilseler, bu durumda stresten söz edilemez. Bu şekilde optimum şartların bulunmasına bazı fizyologlarca “sıfır stres” adı verilmektedir. Stresin dereceleri çok geniş sınırlar içindedir. Sıfır stresten, ılımlı ve şiddetli strese kadar değişen dereceleri vardır. Ancak tabiatta bitkiler için tamamen stressiz bir ortam çok zor bulunur. Stresin şiddeti yanında bitkinin strese maruz kalma süresi de önemlidir.

Stresin dereceleri bitki türüne göre değişmektedir. Yani bir bitki türünde şiddetli strese sebep olan bir stres faktörü, bir başka türde ılımlı strese ya da sıfır strese sebep olabilir. Stresin derecesi, canlı sistemlerdeki metabolik olayların değişimine etki eden enerji miktarına da bağlıdır. Bir bitkinin tümü veya bazı kısımları (tohumlar, dormant tomurcuklar ve dormant hücreler) strese karşı dirençli olabilirken bazı kısımlar (meristem dokular, sukkulent organlar, genç fideler) ise strese karşı duyarlıdırlar. Meristemler; canlı, ince çeperli, faal, protoplazması bol, nukleus iri olduğu için daha çok etkilenir. Destek doku hücreleri kalın çeperli, sitoplazması az ve hücrelerinin %50'sinden fazlası koful olduğu için strese dayanıklıdırlar.

1.6.3. Stresle ilgili kavramlar

Tolerans (esneklik): Bir bitkinin uygun olmayan çevre şartlarına maruz kalması durumunda, hayatını devam ettirmesi ve strese tahammülü olarak tarif edilir. Daha ziyade bitkinin genotipi ile ilgilidir.

Aklımasyon (uyum): Yeni bir çevreye maruz kalan bitkideki kalıtsal olmayan değişiklikler olarak tarif edilebilir. Bir stres faktörü metabolizmayı

değişikliğe uğratabilir ve bunun sonucu olarak bitki morfolojisinde de bir değişiklik meydana gelebilir. Fakat bu durumda da bitki hayatını devam ettirebilir.

Avoidans (korunma): Stresten sakınma ve korunma anlamına gelir. Eğer stres kaynağı ile bitki dokusu veya organı arasında fiziki bir engel varsa, stres yeteri kadar etkili olmaz. Bu şekilde bitki kendini stresten korumuş olur. Kalıtsal olabilir veya olmayabilir (Önder ve Yentür 1999).

1.6.4. Tuz Stresi

Tuzluluk bitki gelişimini ve verimliliğini sınırlandıran başlıca çevresel faktörlerdendir. (Allakhverdiev ve ark. 2000). Dünya yüzeyindeki suyun büyük bir kısmı çoğu çiçekli bitki için zararlı olan miktarda (%3) NaCl içeren tuzlu deniz suyudur. Doğal koşullar altında kara bitkileri tuzlu ve tatlı suların karıştığı veya birbirinin yerini aldığı deniz kıyısına yakın yerlerde, tropik mangrove bataklıklarında, tuz gölleri civarında yüksek yoğunlukta tuza maruz kalırlar (Street ve Öpik 1984). Kara içindeki topraklar ise gün geçtikçe insan etkisi ile yanlış sulama sonucunda tuzlu hale gelmektedir. Bu nedenle bitkiler tuz stresine maruz kalırlar ve tuzluluk geniş alanların kullanımını sınırlandırır. Dünya üzerindeki sulanan tarım alanlarının 1/3'nin tuzdan etkilendiği tahmin edilmektedir (Taiz ve Zeiger 2002). Bu topraklarda buharlaşma ve terleme saf suyu topraktan uzaklaştırır ve su kaybı toprakta tuz birikmesine neden olur (Akman ve ark. 2001).

Tuzlu topraklar ile normal topraklar arasındaki geçiş kademelidir. Bitkiler için uygun tuzlulukta olan topraktaki NaCl konsantrasyonu %0,5 civarındadır. Bu tür topraklarda gelişebilen bitkilere glikofitler denir (Street ve Öpik 2004). Topraktaki tuz yoğunluğu glikofitlerinin tuz yoğunluk eşiğinin üzerine çıktığında gelişme bozukluğu, yaprak rengi bozukluğu ve kuru ağırlık kaybı gibi belirtiler görülür. Halofitler ise %0,5'den daha yüksek NaCl konsantrasyonlarına dayanabilirler. Fakat hemen hemen tüm tarımsal bitkiler glikofittir. Halofitlerin büyük bir kısmı fakültatiftir, fakat gelişme için en az %0,5'lik NaCl'e ihtiyaç duyan obligat halofitler de mevcuttur.

Toprakta biriken tuz bitki fonksiyonuna ve toprak yapısına zarar verir. Bazı bölgelerde NaCl'nin yanı sıra Mg^{+2} , Ca^{+2} ve SO_4^{-2} de esas olarak tuzluluğa

katılır. Sodyumlu toprağın yüksek Na^{+2} yoğunluğu sadece direkt olarak bitkiye zarar vermez, ayrıca porosite ve su geçirgenliğini düşürerek de toprak yapısını bozar.

Pek çok bitki tuzu hücrelerinin dışında tutmak veya hücre içindeki varlığını tolere etmek için mekanizmalar geliştirmiştir. Bir bitkideki tuz stresinin başlangıcında ve gelişiminde tüm metabolizma etkilenir. İlk cevap yaprak yüzey artışıdır ve stres yoğunlaştıkça büyüme kesintiye uğrar. Stres ortadan kalktığında gelişim devam eder. Tuz stresine özellikle de NaCl ye maruz kalan bitkilerde hücre büyümesi için önemli olan karbonhidratların sentezini sağlayan fotosentez oranı da düşüktür (Parida ve Das 2005).

Tuzluluk hassas türlerde gelişmeyi ve fotosentezi yavaşlatır. Mısır, soğan, salata fasulye gibi bitkiler tuza karşı çok hassastır. Pamuk ve arpa orta derecede hassasiyet gösterirken şeker pancarı ve hurma gibi bitkiler ise tuza karşı toleranslıdır.

Tuz zararı hem osmotik etkileri hem de spesifik iyon etkilerini içerir. Kök bölgesindeki çözünmüş tuzlar toprak su potansiyelini düşüren düşük osmotik basınç oluştururlar. Bitkilerin genel su dengesi bundan etkilenir çünkü yapraklar toprak ve yapraklar arasındaki inişli gradient su potansiyeli farklılığını devam ettirmek için daha düşük su potansiyeli oluşturmaya ihtiyaç duyarlar.

Na^+ , Cl^- veya SO_4^{2-} 'nin zararlı düzeydeki yoğunlukları hücrelerde biriktiği zaman spesifik iyon etkileri oluşur. Tuzsuz koşullar altında, yüksek bitkilerin hücrelerinin sitosollerinde birçok enzimin optimum seviyede çalıştığı iyonik ortam olan 100-200 mM K^+ ve 1-10 mM Na^+ içerirler.

Na^+ 'un K^+ 'un anormal oranı ve total tuzun yüksek yoğunlukları enzimleri inaktif hale getirir ve protein sentezini engeller. Yüksek yoğunluklarda Na^+ pamuğun kök tüylerinin plazma zarındaki Ca^{+2} 'in yerini alır, bu durum plazma zarının geçirgenliğinde K^+ 'un hücrelerde sızıntısının belirlenmesi ile belirlenen değişikliklerle sonuçlanır.

Yüksek yoğunluklardaki Na^+ ve/veya Cl^- kloroplastlarda biriktiği zaman fotosentez engellenir. Fotosentetik elektron taşınmasının tuzlara karşı hiç hassas olmaması nedeniyle ya karbon metabolizması ya da fotofosforilasyon etkilenebilir. Tuza toleranslı bitkilerden elde edilen enzimlerde tuza hassas

glükofitlerden elde edilen enzimler kadar NaCl'un varlığına hassastırlar. Bu nedenle, halofitlerin tuzlara direnci tuz-direnç metabolizma mekanizmasının sonucu değildir. Bunun yerine diğer mekanizmalar tuz zararlarının engellenmesinde görev alır.

Bitkiler tuzun zararlarından korunmak için farklı stratejiler kullanırlar. Bitkiler tuz zararını meristemlerden, özellikle dallarda ve aktif büyüyen ve fotosentez yapan yapraklardan tuzu içeri almayarak azaltırlar. İyonların kök apoplastından ksileme ve daha sonra terleme akımı ile dallara taşınması iyonların kaspari şeridini geçebilmesi için simplastik yolu gerektirmesi ile sınırlanır. Bitkiyi korumak için ksileme iyon hareketinin ne kadar kısıtlanması gerektiği stresin ciddiyetine ve spesifik bitkinin dallardaki iyonlarla başa çıkabilme kapasitesine bağlıdır.

Na iyonları köklere pasif taşınma ile girerler (elektrokimyasal potansiyel farklılığı üzerinden hareket ederek), böylece kök hücreleri Na⁺'un dışarıdaki solüsyona aktif taşınması için enerji harcarlar. Buna karşın Cl⁻ kök plazma zarının bu iyonu düşük geçirgenliği nedeniyle içeri alınmaz. Na⁺'un yapraklara hareketi; Na'un köklerden dallara hareketi sırasında transpirasyon akımından (ksilem özü) emilimi ile daha da azalır. Bazı tuza dirençli bitkiler, (*Tamarix* sp. ve *Atriplex* sp.) iyonları kökleriyle içeri almamazlık edemezler ancak bunun yerine yaprak yüzeylerinde tuz bezlerine sahiptirler. İyonlar, tuzun kristalleştiği ve artık zararsız olduğu bu bezlere taşınır (Akman ve Darıcı 1998).

1.6.5. Tuz stresine tolerans metabolizması

Bitkiler tuz stresinin üstesinden gelmek için moleküler ve biyokimyasal mekanizmalar geliştirirler. Tuz tolerans sağlayan ürünlere ve süreçlere götüren biyokimyasal yollar muhtemelen sinerjik olarak iş görürler (Iyengar ve Reddy 1996). Biyokimyasal stratejiler ise iyonların seçici birikimini veya dışa atılımını, iyonların köklerden alınıp yapraklara taşınmasının kontrolünü, iyonların hücresel ve tüm bitki düzeyinde bölümlendirilmesini, uygun çözünen sentezini, fotosentetik yolda değişimi, membran yapısındaki değişimleri, antioksdatif enzimlerin indüksiyonunu ve bitki hormonlarının indüksiyonunu içerir.

İyon düzenlemesi ve bölümlendirilmesi sadece normal gelişim için değil tuz stresi altında da büyük önem taşır çünkü stres iyon homeostasisini altüst eder (Adams ve ark. 1992). İster glikofit isterse halofit olsun bitkiler sitoplazmada aşırı miktarda tuzu tolere edemezler ve bu nedenle aşırı tuzu vakuolde biriktirerek veya farklı dokularda bölümlendirerek metabolik fonksiyonlarını kolaylaştırırlar. Glikofitler sodyum alımını sınırlandırır veya yaşlı dokularda depo ederler (Cheeseman 1988).

Uygun çözünenlerin artan biyosentezi: Vakuollerdeki iyonik dengeyi sağlamak için sitoplazma düşük molekül ağırlıklı bileşikleri biriktirir çünkü bunlar normal biyokimyasal reaksiyonlara katılmazlar, bunun yerine biyokimyasal reaksiyonda suyun yerine geçerler (Hasegawa ve ark. 2000).

Şekerler (gukoz, fruktoz, sukroz) ve nişasta gibi karbonhidratlar tuz stresi altında birikirler, bunların temel fonksiyonu osmotik koruma, osmotik ayarlama ve karbon depolamadır.

Tuza maruz kalan bitkide amino asitler, amidler, imino asitler proteinler poliaminler gibi bir miktar azot taşıyan bileşikler birikir. Bu bileşikler bitki türüne göre değişir. Bu bileşiklerin birikme nedenleri ozmotik ayarlama, hücrel makromoleküllerin korunması, azot depolama, hücrel pH'nin sürdürülmesi ve hücrelerin detoksifikasyonu olarak sayılabilir.

Bitki hormonlarının indüksiyonu: Yüksek tuz konsantrasyonu ABA ve sitokininler gibi bitki büyüme maddelerinin düzeylerinde artışa neden olur. ABA tuz stresinde indüklenen genlerin değişiminden sorumludur.

Fotosentetik yolda değişme: Tuz stresi su potansiyelini azaltarak fotosentezi engeller. Bu nedenle tuz toleransının temel amacı tuzlu koşullar altında su kullanımının etkinliğini arttırmaktır. Bunun için fakültatif halofitler fotosentez tiplerini C₃ den CAM (Crassulean Asit Metabolizması)'a çevirirler. Böylece stomalarını gece açarak transpirasyonla su kaybını azaltırlar. *Atriplex lentiformis* gibi bazı bitkiler ise fotosentez tiplerini C₃ den C₄ e çevirirler (Zhu ve Meinzer, 1999).

1.6.6. Tuz stresine karşı toleransta moleküler mekanizmalar

Tuz stresine karşı toleransta moleküler mekanizmalar da farklı genlerin ve proteinlerin indüksyonu ile olur. Tuz stresine tolerans multigenik özelliktedir ve tuz stresi proteinlerini kodlayan farklı fonksiyonel gruplara ayrılarak kategorize edilen bir miktar gen bulunmaktadır. Bu genler; fotosentetik enzimleri kodlayan genler, uygun çözünenlerin sentezinden sorumlu genler, vakuol ayırıcı enzimleri kodlayan genler ve radikal bulucu genlerdir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada bitki materyali olarak kanola (*Brassica napus* L.) bitkisinin tohumları kullanılmıştır. Tohumlar kanola tarımının yapıldığı Çanakkale'nin Gelibolu ilçesine bağlı Bolayır Beldesinden temin edilmiştir. Kanola Brassicaceae (Cruciferae) familyasından bir yıllık otsu bir bitkidir. Alt yaprakları beyaz tüylü, genellikle krem ya da açık sarı renkli çiçekleri olan bir türdür (Şekil 2.1 ve 2.2) (Seçmen ve ark. 1995).



Şekil 2.1. Kanola bitkisinin genel görünüşü (Anonim)



Şekil 2.2. Kanola çiçeği (Anonim)

2.2. Yöntem

Birinci deneyde Kinetin, IAA, gibberellik asit (GA_3), 2,4-D ve α -NAA gibi bitki büyüme maddelerinin kanola tohumlarının gelişimine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla her biri 0,1 mg/l farklı büyüme düzenleyici madde içeren MS (Murashige ve Skoog 1962) besiyeri hazırlanmıştır. Kanola embriyoları normal MS besi ortamında 3 gün süre ile geliştirilmiş ve daha sonra da farklı bitki büyüme maddelerini içeren bu steril geliştirme kaplarına aktarılarak gelişimleri gözlenmiştir (Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5). Her bir bitki büyüme maddesi için

beş adet kanola bitkiciği içeren iki adet geliştirme kabı kullanılmıştır. Bitkiciklerin gelişimleri iki hafta boyunca gözlenmiş ve kök ve gövde uzunlukları ve yaşayan bitkiciklerinin sayısı kaydedilmiştir.

İkinci deneyde ise tuzun kanola embriyolarının gelişimlerine etkileri incelenmiştir. Bunun için içerisinde %3, %2, % 1,5, %1 ve %0,5 (W/V) oranında tuz (NaCl) bulunan MS besi yerleri ve kontrol için de normal MS besi yeri kullanılmıştır. Büyüme düzenleyici olarak 0,1mg/l Kinetin kullanılmıştır. Her bir konsantrasyon için 5'er embriyo içeren 4 petri kutusu kullanılmıştır (Şekil 3.14, 3.15, 3.16, 3.17 ve 3.18) Embriyoların gelişimi dört hafta boyunca izlenmiş; kök ve gövde uzunlukları ile yaşayan embriyo sayıları düzenli olarak kaydedilmiştir.

2.2.1. Sterilizasyon

Bitki doku kültürü laboratuvarı çalışmaya başlamadan önce her gün %10'luk zefiranlı su ile paspaslanmıştır. Ayrıca steril kabin içinde bulunan 2600 A°luk UV lambası kullanarak çalışma ortamı steril edilmiştir.

Çalışmalar sırasında sterilizasyona önem verilmiştir. Steril eldiven, binoküler, steril maske steril kabin içine konulmuş, steril kabin içindeki 2600 A° luk UV lambası, laboratuvarın tamamını steril eden 2600 A° luk UV lamba kullanılmıştır. Sterilizasyon işleminden sonra kabinin bulunduğu odaya girerken önlük giyilmiş ve galoş takılmıştır. %10'luk alkol çözeltisi püskürtme aleti ile kabinin içine ve özellikle kenarlarına püskürtülmüştür. Çalışmaya başlamadan önce steril eldivenler giyilmiş, steril maske takılmıştır. Kullanılan pens, bisturi spatül gibi aletler her işlemten sonra %96'lık alkole batırılıp bek ateşinde yakılarak steril edilmiştir.

2.2.2. MS besiyerinin hazırlanması ve sterilizasyonu

Bitki doku kültürü çalışmalarında besi ortamında su, inorganik ve organik bileşikler bulunmaktadır. Kimyasal maddelerin farklı miktarlarda kullanılarak uygulayıcıların adları ile anılan çok sayıda besi ortamı bileşimi bulunmaktadır. Bu embriyo kültürü çalışmasında MS (Murashige ve Skoog) besi ortamı kullanılmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Murashige & Skoog (MS) besiyeri bileşiminde bulunan kimyasal maddeler ve konsantrasyonları

Makro elementler	(mg/lt)
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1800
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Na ₂ Edta	37,5
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8
Mikro Elementler	
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ ·4H ₂ O	8,6
KI	0,86
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ ·7H ₂ O	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
Organik Bileşikler	
Sucrose	30000
Agar	10000
Glycines	2
İnositol	100
Nikotinik asit	0,5
Pridoksin-HCl	0,5
Thiamin-HCl	0,1

Besi ortamının döküleceği temiz petri kapları 180 °C'deki kuru havalı fırında 3 saat süre ile steril edilmiştir. Daha sonra ekim sırasında kullanılacak olan saf su bir cam balona konmuş ve ağzı pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Besi ortamı 120°de 1,5 atmosfer basınçta 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. İşlemin tamamlanmasından sonra besiyerinin sıcaklığı 40°C'ye düştüğünde hormonlar eklenip karıştırılmıştır. Steril kabin içinde, besiyeri bek alevinin yanında steril petri kutularına dökülmüştür.

2.2.3. Tohumların yüzey sterilizasyonu, embriyoların steril ortamda çıkartılması ve ekimi

1- Embriyosu çıkarılacak olan kanola tohumların testalarının yumuşaması için bir gün suda bekletilmiştir. Yumuşaması sağlanan tohumlar daha sonra steril kabin içine alınmıştır.

2- Steril kabin içinde 3 beher hazırlanmıştır. Bir tanesine %3'lük sodyum hipoklorat (çamaşır suyu), ikincisine %75'lik alkol ve diğerine steril saf su konmuştur.

3- Bu üç beherde tohumlar sırası ile önce çamaşır suyunda 5 dakika, %75'lik alkolde 5 dakika ve steril saf suda 5 dakika bekletilmiştir. Sonra stereo mikroskop altında, alkollenip alevden geçirilmiş pens ve bisturiler yardımıyla tohum kabuğu ve testası ayrılmıştır. Çıkartılan embriyo pens ile bek yanında içinde besiyeri bulunan petrilere ekilmiştir.

4- Her petri kutusuna 5 embriyo ekilmiş ve petriler parafilm ile sarılmıştır. Etiketlenen petriler 25°C'ye ayarlı iklim kabinine konulmuştur.

5- Daha sonra gelişen embriyolar birinci deneyde yeni besi ortamına aktarılmış ve fotoperiyot uygulamasına geçilmiştir.

6- Fotoperiyot için toplam 80W'lık beyaz flüoresans lambalar ile aydınlanan iklim kabini kullanılmıştır. Aydınlik ve karanlık periyotlar 14 saat aydınlık 10 saat karanlık uygulaması şeklinde yapılmıştır.

3. BULGULAR

Bitki geliştirme kapları ve petri kutularında kök ve gövde uzunlukları ile canlı bitki sayısı her hafta ölçülmüştür. Deneyler sırasında bazı petri ve plastik geliştirme kaplarında kontaminasyonlar olduğu gözlenmiştir. Ayrıca bazı embriyoların çevresinde aktarma ve taşıma sırasında oluşan yaralar nedeniyle kallus oluşumu ve buna bağlı olarak salgılanma görülmüştür. Kontamine olan kaplardaki embriyolar hesaplamalara katılmamıştır.

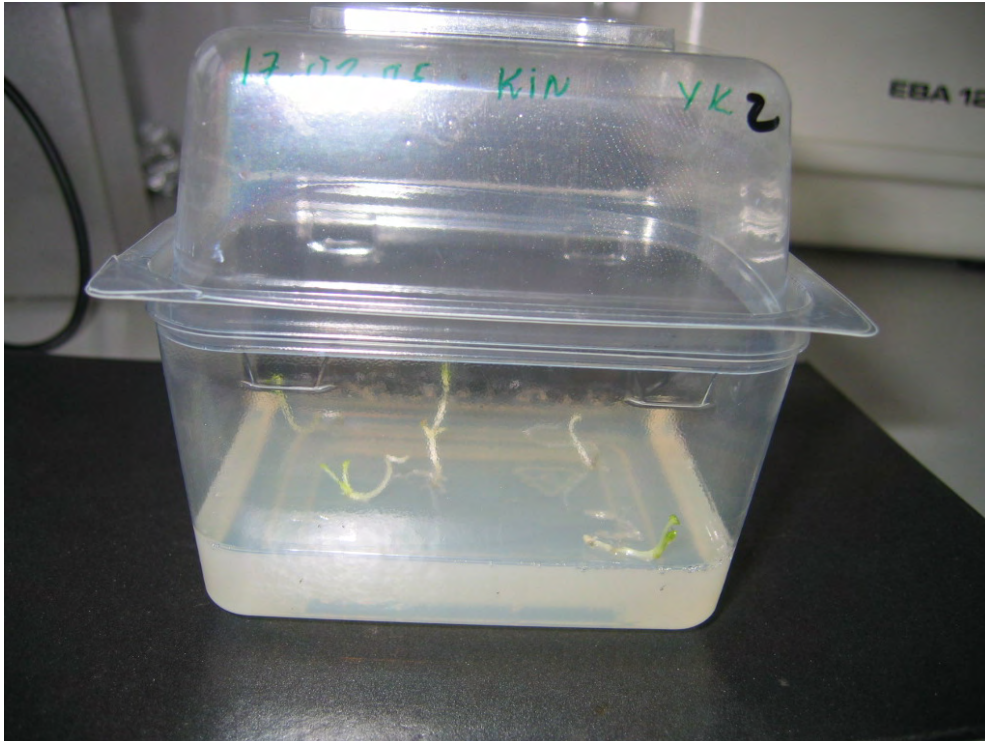
3.1. Farklı Bitki Büyüme Maddelerinin Kanola Bitkisinin Gelişimine Etkileri

Birinci haftanın sonunda en iyi gövde gelişimi Kinetin ve GA₃ içeren besiyerlerinde görülmüştür. Diğer geliştirme kaplarında ise gövde gelişimi kinetinin yarısı kadar olmuştur (Çizelge 3.1). Kinetin hariç kök gelişiminde önemli bir artış olmamıştır (Çizelge 3.2). IAA, α -NAA ve GA₃ içeren besiyerlerinde canlı bitki sayısında azalmalar görülmüştür. α -NAA'lı ve IAA'lı besiyerinde 1, GA₃'lide 2, Kinetinli besiyerinde 3 bitkicide yaprak oluşumu başlamıştır. 2,4-D içeren geliştirme kaplarında salgılama oluşmuştur.

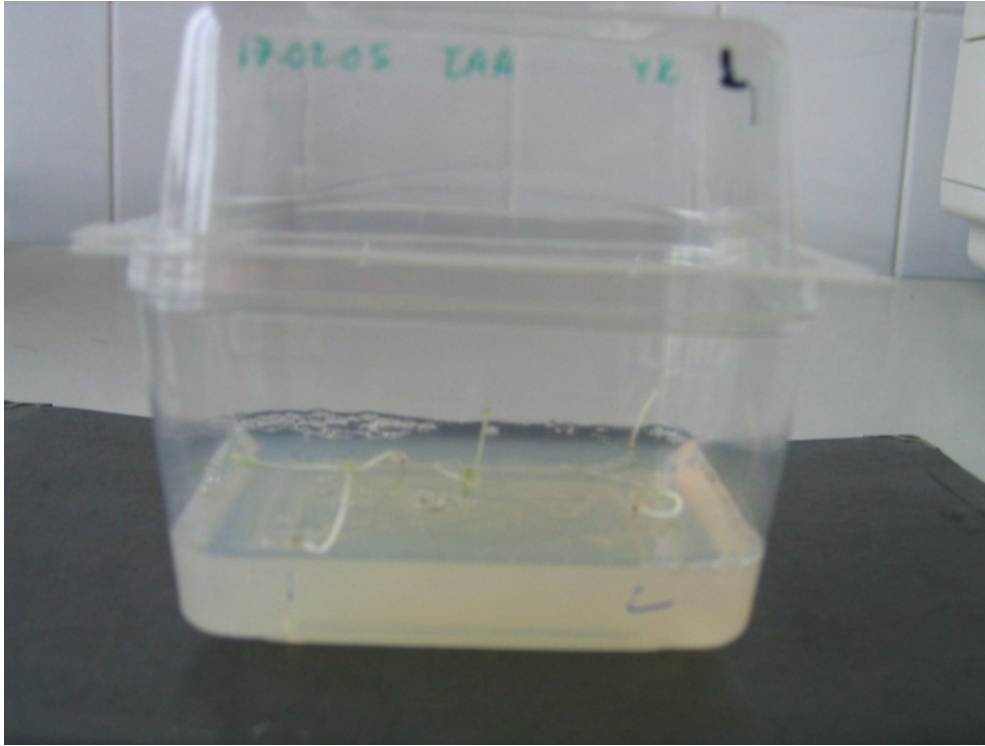
İkinci haftada ise 2,4-D ve GA₃ içeren besiyerinde gövde gelişimi hemen hemen durmuştur (Şekil 3.9 ve 3.10). α -NAA ve Kinetinli besiyerlerindeki hızlı gövde artışı gözlenmiştir (Şekil 3.6 ve 3.7). Tüm geliştirme kaplarında kök gelişimleri neredeyse durmuştur. Sadece Kinetin ve IAA içeren geliştirme kaplarında çok az kök uzaması saptanmıştır (Çizelge 3.2). IAA ve 2,4-D içeren besiyerlerinde bitki sayısının azaldığı görülmüştür. 2,4-D içeren besiyerinde sadece bir bitkicik kalmıştır (Çizelge 3.3). 2,4-D ve IAA içeren besiyerlerinde salgılama ve kallus oluşumu olmuş ve buna bağlı olarak gelişim oldukça yavaşlamıştır (Şekil 3.8 ve 3.10).



Şekil 3.1. α -NAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri



Şekil 3.2. Kinetin içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri



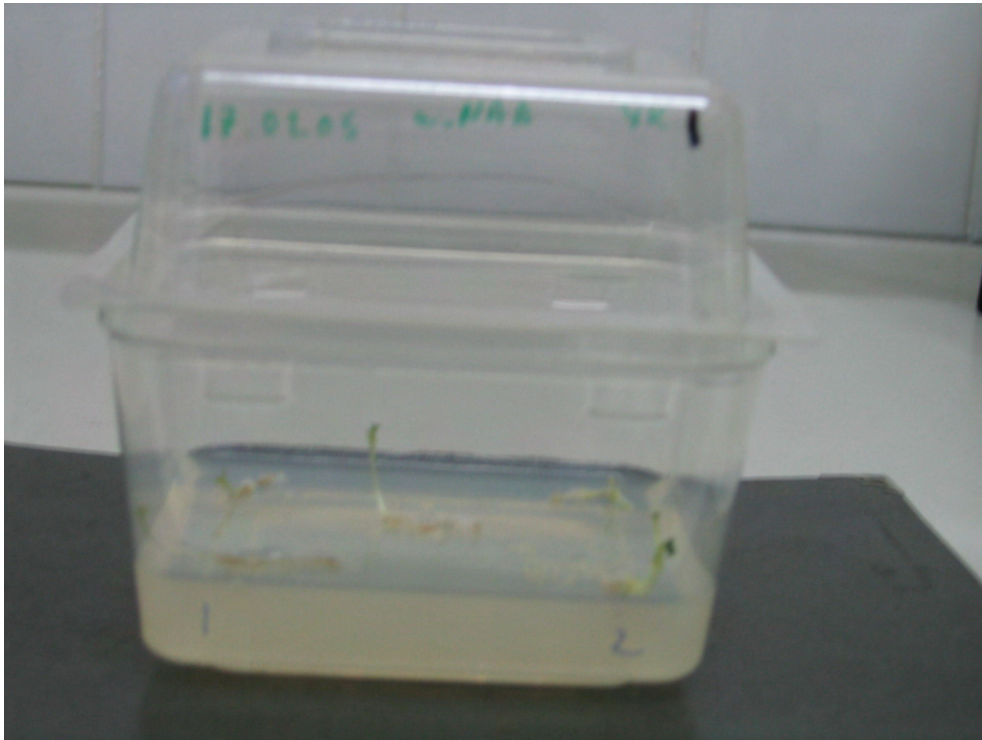
Şekil 3.3. IAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri



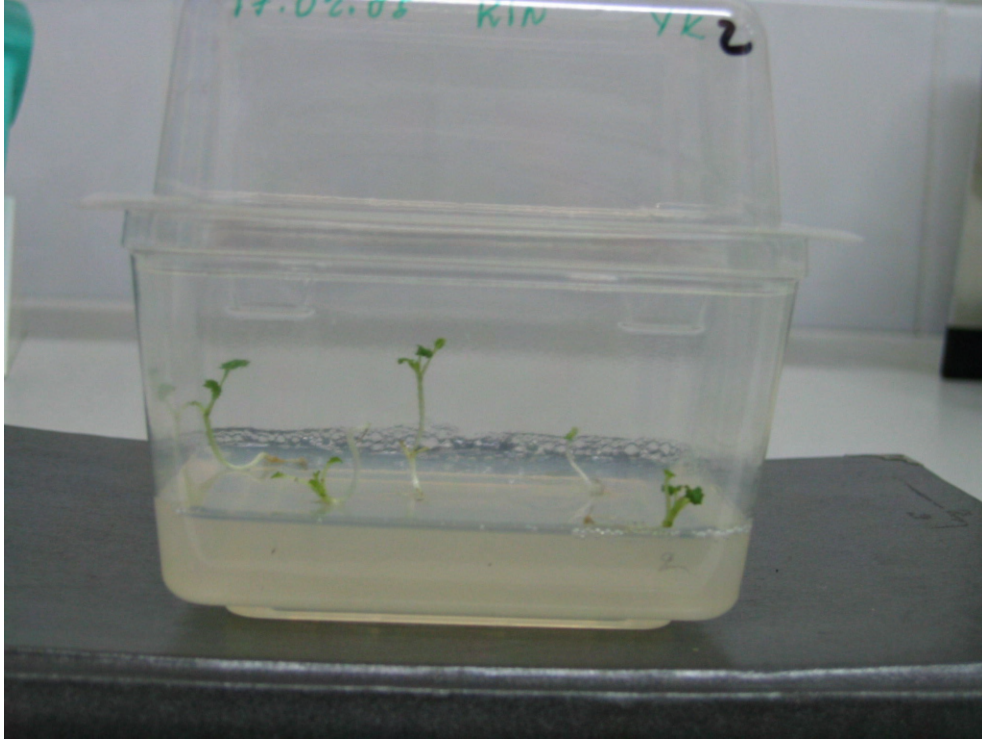
Şekil 3.4. GA₃ içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri



Şekil 3.5. 2,4-D içeren MS besiyerindeki kanola bitkicikleri



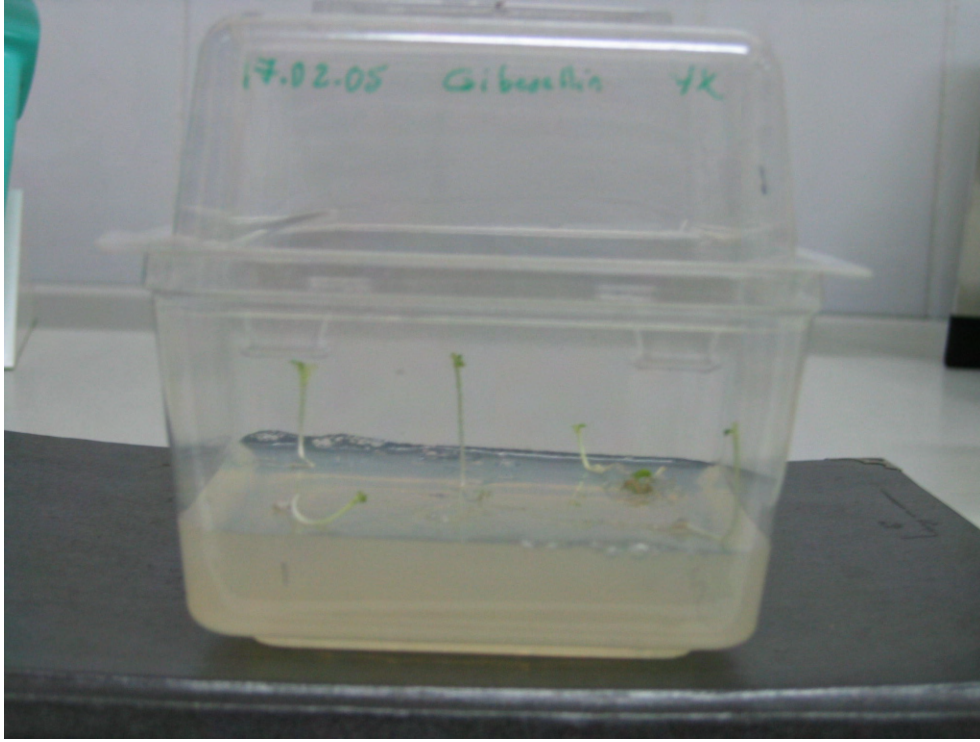
Şekil 3.6. α -NAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü



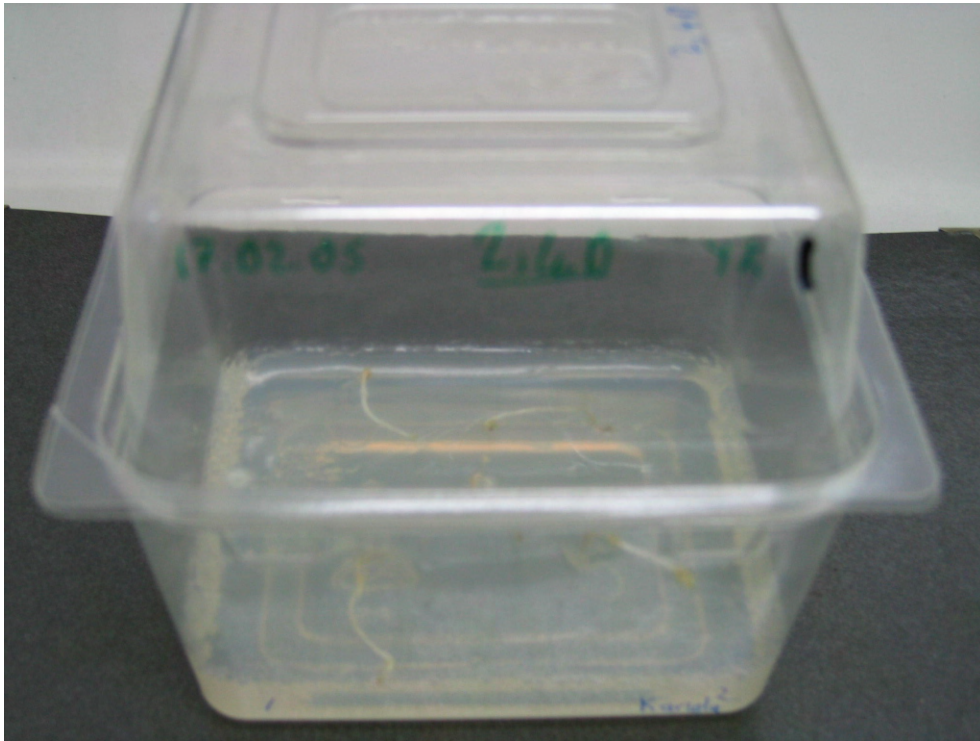
Şekil 3.7. Kinetin içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.8. IAA içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü



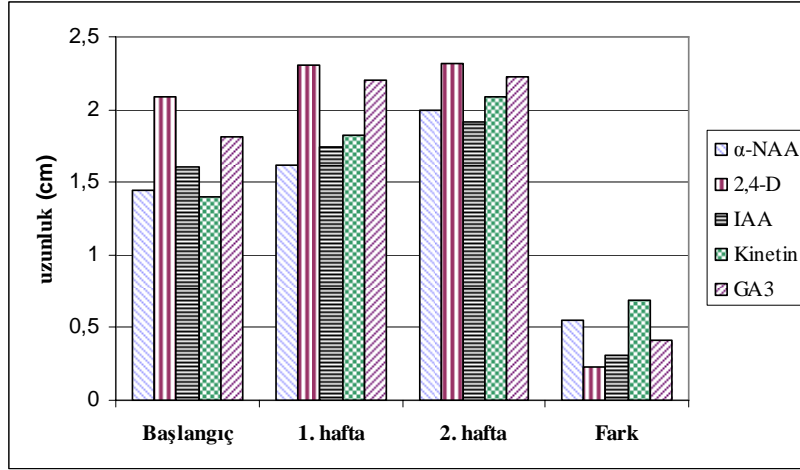
Şekil 3.9. GA₃ içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.10. 2,4-D içeren MS besiyerindeki kanola bitkiciklerinin 2 hafta sonraki görünümü

Çizelge 3.1. Ortalama gövde uzunlukları

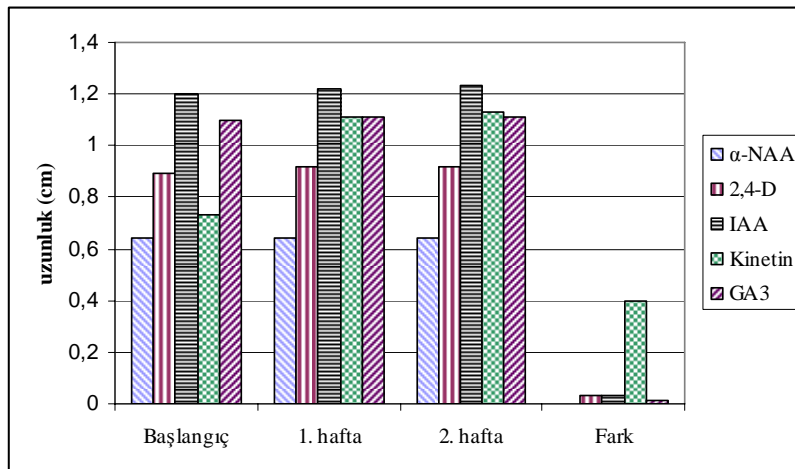
	α -NAA	2,4-D	IAA	Kinetin	GA ₃
Başlangıç	1,45	2,09	1,60	1,40	1,81
1. hafta	1,62	2,31	1,74	1,82	2,20
2. hafta	2,00	2,32	1,91	2,09	2,22
Fark	0,55	0,23	0,31	0,69	0,41



Şekil 3.11. Ortalama gövde uzunlukları

Çizelge 3.2. Ortalama kök uzunlukları

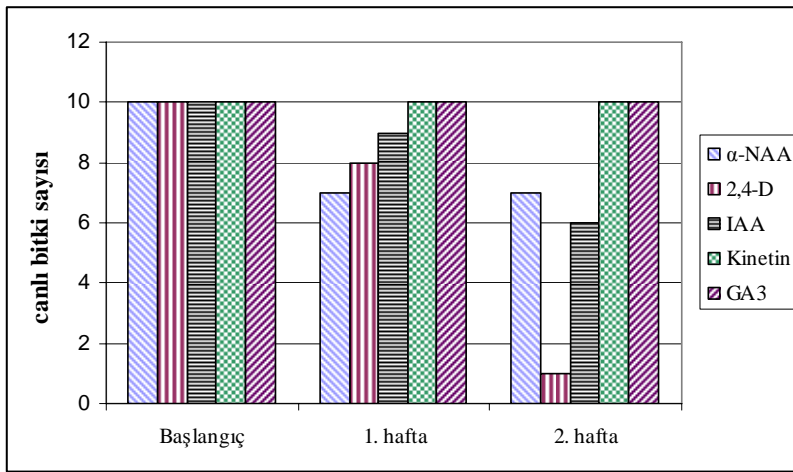
	α -NAA	2,4-D	IAA	Kinetin	GA ₃
Başlangıç	0,64	0,89	1,20	0,73	1,10
1. hafta	0,64	0,92	1,22	1,11	1,11
2. hafta	0,64	0,92	1,23	1,13	1,11
Fark	0	0,03	0,03	0,4	0,01



Şekil 3.12. Ortalama kök uzunlukları

Çizelge 3.3. Yaşayan bitki sayıları

	α -NAA	2,4-D	IAA	Kinetin	GA ₃
Başlangıç	10	10	10	10	10
1. hafta	7	8	9	10	10
2. hafta	7	1	6	10	10



Şekil 3.13. Yaşayan bitki sayıları

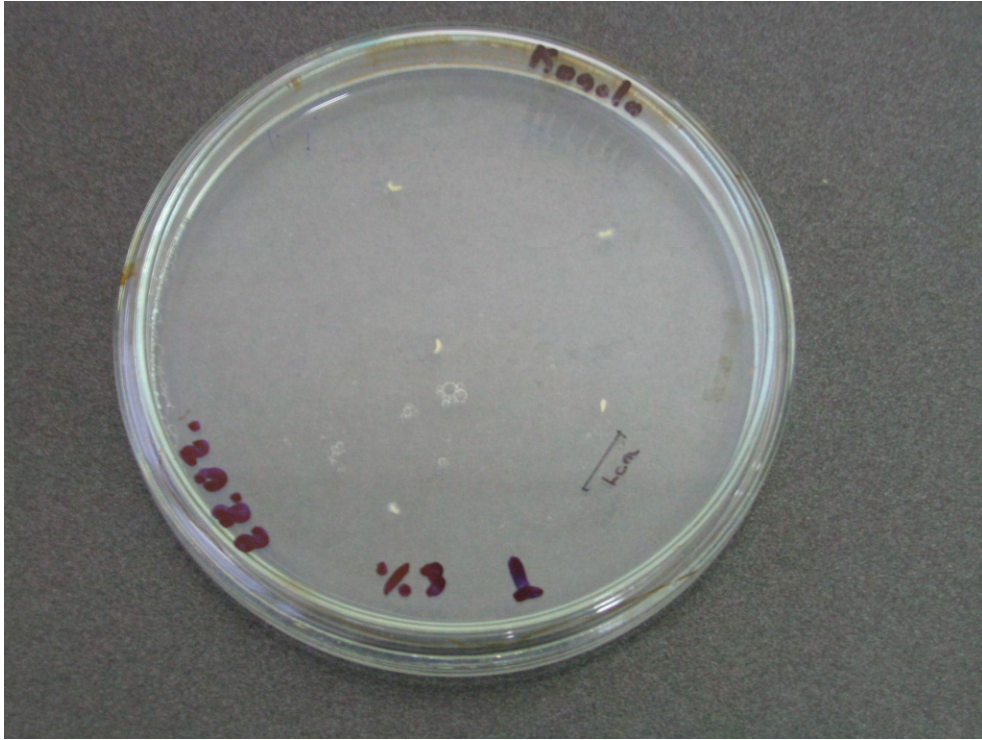
3.2. *Brassica napus* L. (Kanola)'da Tuz Stresi

Kanola embriyolarının farklı oranda tuz içeren besiyerlerine ekiminden bir hafta sonra en fazla gövde gelişimi %0,5 tuz içeren besiyerinde en az gelişme ise %3 oranında tuz içeren besiyerlerinde ölçülmüştür (Çizelge 3.4). Kök gelişiminde de en iyi gelişim %0,5 tuz içeren petrilere görülmüştür. %3 ve %2 oranında tuz içeren petrilere kök gelişimi oldukça azdır (Şekil 3.14 ve 3.15). Tuz içermeyen kontrol grubunda ise gelişim ileri düzeydedir (Çizelge 3.5). %3, %2, %1,5 ve %1 oranında tuz içeren petrilere canlı bitki sayısında azalma görülmüştür (Çizelge 3.6). %2 tuz içeren bir petrideki embriyolarda tüylü kök yapısı geliştiği gözlenmiştir.

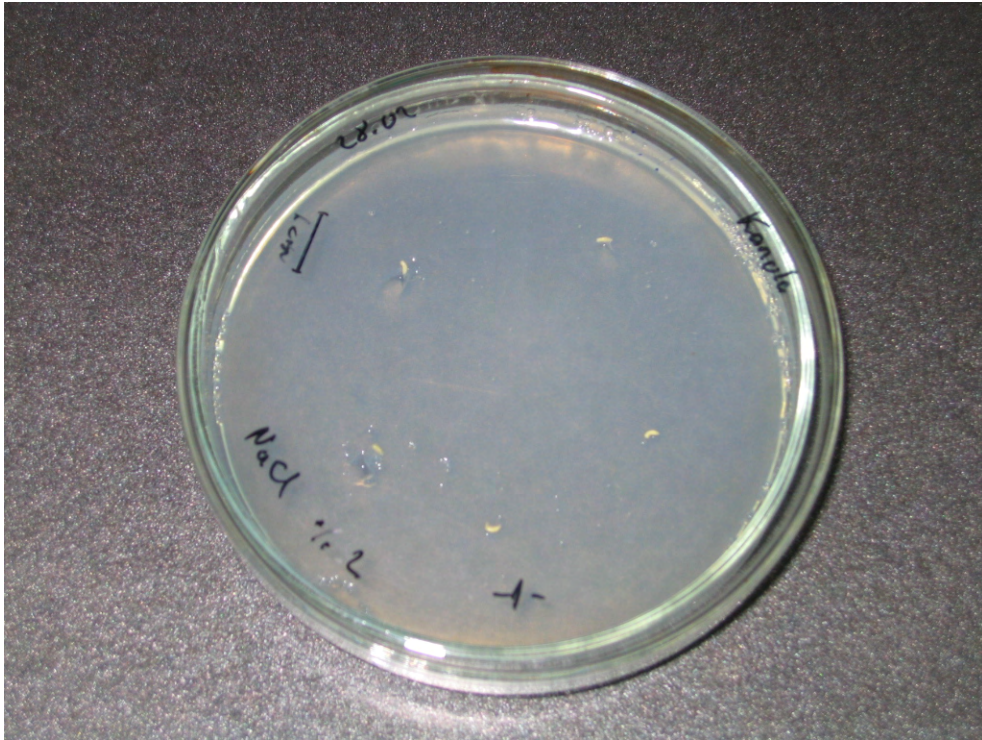
İkinci haftada gövde gelişimi azalarak devam etmiştir. En fazla artış %2 ve %1 oranında tuz içeren petrilere ölçülmüştür. Kontrol ve %0,5 tuz içeren besiyerlerinde gövde gelişimi yavaşlamıştır (Çizelge 3.4). %3 tuz içeren bir petride kontaminasyon başlamıştır. Kök gelişimi %2'lik petrilere hemen hemen durmuştur. %1,5 ve %1 tuz içeren besiyerlerinde kök gelişimi hızlı devam etmesine karşın kontrol (Şekil) ve %0,5 tuz içeren besiyerlerinde yavaş kök gelişimi saptanmıştır (Çizelge 3.5). %1,5 ve %1'lik petrilere bitki sayısı azalmıştır (Çizelge 3.6). Ayrıca %2'lik ve kontrol petrilere bazı embriyolarda yaprak oluşmuştur.

Üçüncü haftada gövde uzunluğunda en fazla artış yine %1 oranında tuz içeren petrilere görülmüştür. Diğer besiyerlerinde gövde büyümesi az olmuştur. Kontrol ve %0,5'lik petrilere gövde uzunluğu ortalamaları eşitlenmiştir. Kök gelişimlerine bakıldığında üçüncü haftada % 3, %1,5 ve % 0,5 oranında tuz içeren petrilere oldukça hızlı bir artış olmuştur. %2'lik petrilere ise kök gelişimi durmuştur (Çizelge 3.5). %2 tuz içeren besiyerlerinde canlı bitki sayısı 18'den 11'e inmiştir. Tüm petri kaplarında yaprak oluşumu görülmüştür.

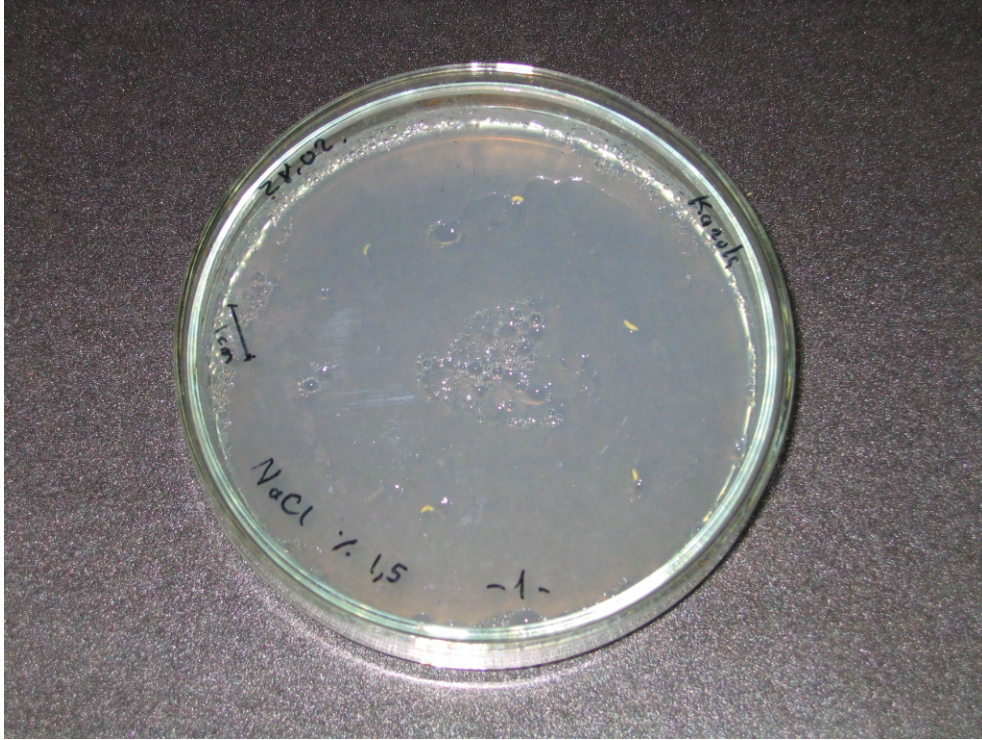
Dördüncü haftanın sonunda %3 ve %1 tuz içeren petrilere gövde gelişimi diğerlerine göre daha fazla olmuştur (Şekil 3.19). Son haftada % 0,5 tuz içeren petrilere kök uzunluklarında oldukça fazla bir artış görülmüştür (Şekil 3.23). Canlı bitki sayısı %1 tuz içeren besiyerinde 15'e düşmüş, diğer besiyerlerinde değişme olmamıştır (Çizelge 3.6). %2 oranında tuz içeren bir petride kontaminasyon oluşmuştur.



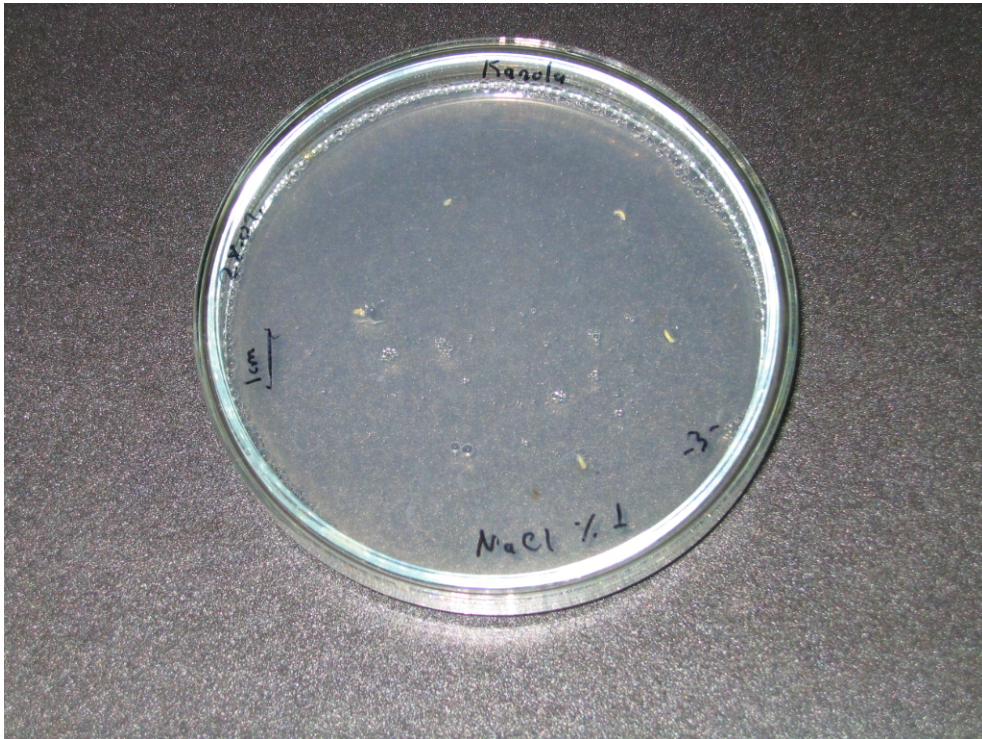
Şekil 3.14. %3 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları



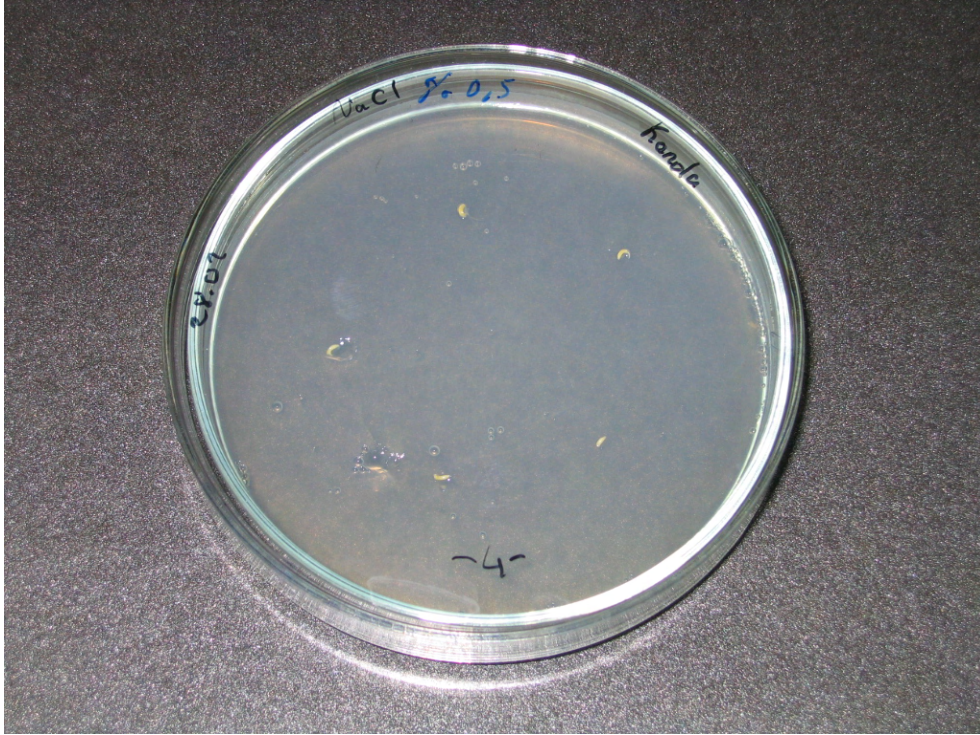
Şekil 3.15. %2 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları



Şekil 3.16. %1,5 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları



Şekil 3.17. %1 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları



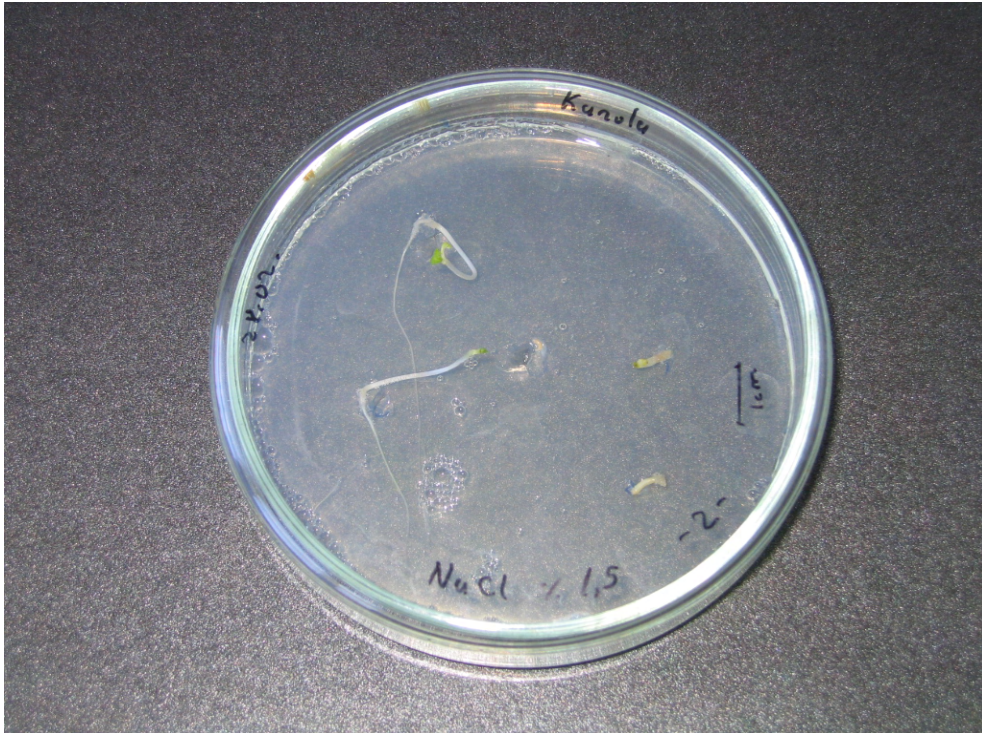
Şekil 3.18. %0,5 NaCl içeren MS besiyerine ekilen kanola embriyoları



Şekil 3.19. %3 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.20. %2 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.21. %1,5 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.22. %1 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü



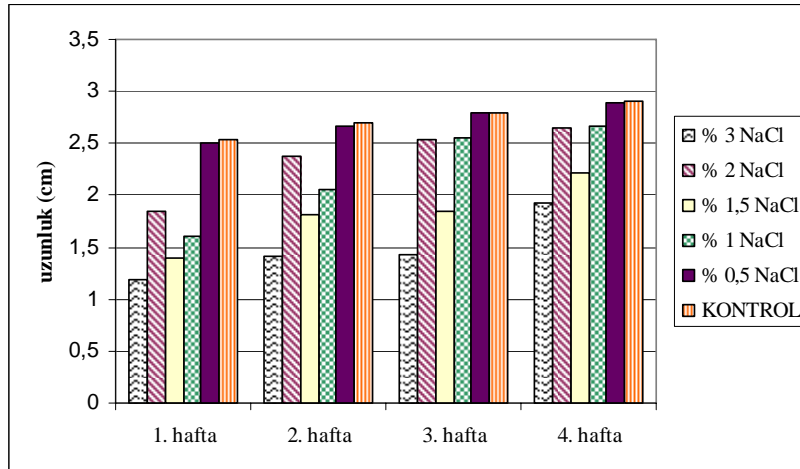
Şekil 3.23. %0,5 NaCl içeren MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.24. NaCl içermeyen MS besiyerindeki kanola embriyolarının 4 hafta sonraki görünümü

Çizelge 3.4. Tuz stresine bağlı ortalama gövde uzunlukları

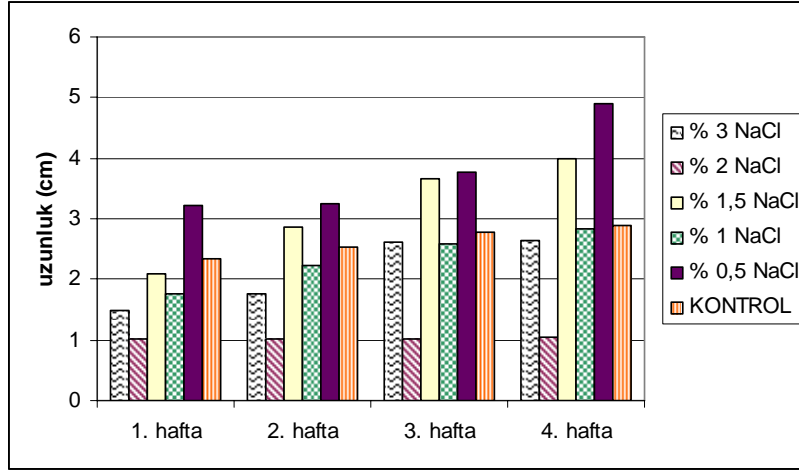
	% 3 NaCl	% 2 NaCl	% 1,5 NaCl	% 1 NaCl	% 0,5 NaCl	KONTROL
1. hafta	1,19	1,84	1,40	1,60	2,51	2,54
2. hafta	1,42	2,38	1,82	2,06	2,67	2,69
3. hafta	1,43	2,54	1,85	2,55	2,80	2,80
4. hafta	1,92	2,65	2,22	2,66	2,89	2,90



Şekil 3.25. Tuz stresine bağlı ortalama gövde uzunlukları

Çizelge 3.5. Tuz stresine bağlı ortalama kök uzunlukları

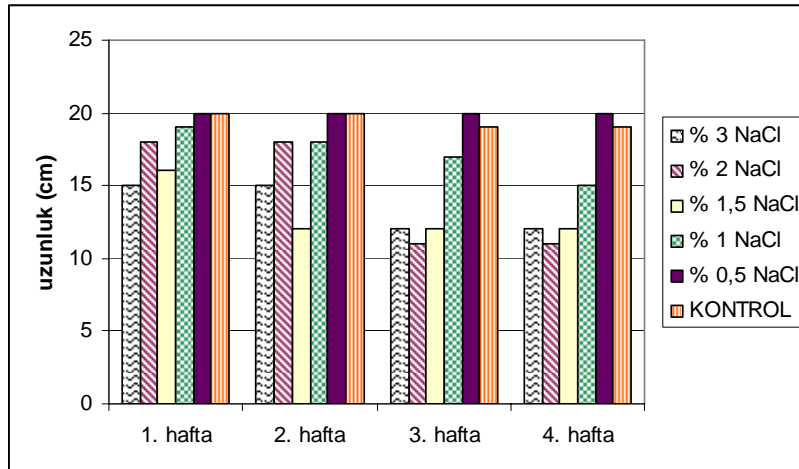
	% 3 NaCl	% 2 NaCl	% 1,5 NaCl	% 1 NaCl	% 0,5 NaCl	KONTROL
1. hafta	1,50	1,02	2,10	1,77	3,21	2,34
2. hafta	1,75	1,03	2,87	2,22	3,26	2,54
3. hafta	2,61	1,03	3,65	2,60	3,78	2,79
4. hafta	2,64	1,04	3,99	2,84	4,91	2,90



Şekil 3.26. Tuz stresine bağlı ortalama kök uzunlukları

Çizelge 3.6. Tuz stresine bağlı canlı bitki sayıları

	% 3 NaCl	% 2 NaCl	% 1,5 NaCl	% 1 NaCl	% 0,5 NaCl	KONTROL
1. hafta	15	18	16	19	20	20
2. hafta	15	18	12	18	20	20
3. hafta	12	11	12	17	20	19
4. hafta	12	11	12	15	20	19



Şekil 3.27. Tuz stresine bağlı canlı bitki sayıları

4. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada *Brassica napus* L. (kanola) bitkisinin tohumlarından çıkartılan embriyolar *in-vitro* koşullarda kültüre alınmış, MS besiyerinde embriyo kültürü tekniği kullanılarak ilk aşamada 2,4-D, Kinetin, IAA, α -NAA ve GA₃ bitki büyüme maddelerinin embriyoların gelişimine etkileri; ikinci aşamada ise farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarının embriyolar üzerinde oluşturduğu stres incelenmiştir.

Farklı büyüme maddelerinin etkileri araştırılırken embriyoların normal MS besi ortamında bir süre gelişmeleri sağlanmış daha sonra da gelişen bitkicikler farklı büyüme maddeleri içeren geliştirme kaplarına aktararak gelişimleri gözlenmiştir. Birinci haftada en iyi gövde gelişimi Kinetin ve GA₃ de gözlenmiştir (Şekil 3.2 ve 3.4). İkinci haftada ise GA₃ içeren besiyerindeki gövde gelişimi yavaşlamış, buna karşın Kinetin ve α -NAA besiyerlerinde artmıştır. İki hafta sonunda en iyi gövde gelişimi Kinetin ve α -NAA; en az gelişme ise 2,4-D büyüme maddelerini içeren geliştirme ortamlarında gözlemiştir (Şekil 3.11). Kinetin doku kültürlerinde gelişimi hızlandırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir oksin olan α -NAA subapikal uzama bölgelerinde bulunan hücrelerde belirgin bir uzamaya neden olmaktadır (Akman ve ark 2001).

Kök gelişimine bakıldığında ise en iyi gelişim yine Kinetin içeren besiyerinde elde edilmiştir. Diğer büyüme düzenleyicilerinin kök gelişimi üzerinde fazla bir etkisi olmamıştır (Şekil 3.12). Sitokininlerin esas sentez yeri kökün apikal meristemine yakın bölgeleridir ve normal fizyolojik konsantrasyonlarda Kinetin kök oluşumunu sınırlandırır (Taiz ve Zeiger 2002). Fakat düşük konsantrasyonlarda mitoz ve farklılaşmaya uygulanmış uyarı nedeniyle böyle olumlu bir etki ortaya çıkmış olabilir (Akman ve ark 2001). Diğer yandan Mauseth (1991)'e göre sitokininler doku kültürlerinde kök ve tomurcuk oluşumunu stimüle ederler. Oksinlerin kök gelişimine ve uzamasına etkileri konsantrasyona göre farklılık göstermektedir. Optimum konsantrasyonun altında olumlu etki gösterirken optimum değer üzerindeki konsantrasyonlar zehir etkisi yapabilir. Bu da IAA, α -NAA ve 2,4-D içeren besiyerlerinde kök gelişiminin

neden az olduğunu açıklayabilir. Gibberellinlerin ise kök oluşumuna etkisi yoktur (Akman ve ark. 1998).

İki hafta sonunda yaşayan bitki sayısı GA_3 ve Kinetinde değişmemiş, 2,4-D de ise sadece bir bitki kalmıştır (Şekil 3.13). Sentetik bir oksin olan 2,4-D tarımda herbisid olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Taiz ve Zeiger 2002). Muhtemelen bu herbisid etkisi kanola bitkilerinin yaşamasını engellemiştir. IAA ve α -NAA içeren besiyerlerinde yaralanma sonucunda oluşan salgılama sonucunda canlı bitki sayısında azalma görülmüştür. Bu salgılama sonucu bitkiciklerin ölme sebebinin bitki tarafından üretilen ve gelişimi engelleyici etkisi olduğu bilinen polifenoller olabileceği düşünülmektedir (Elliatlıoğlu 2000).

Bu sonuçlara genel olarak bakıldığında, gerek gövde gerekse kök uzunluğu bakımından kanola bitkisinin en iyi miktarda Kinetin içeren MS besiyerinde geliştiği görülmektedir. α -NAA de gövde gelişiminde iyi sonuçlar vermiş fakat kök uzamasında ve canlılıkta yeteri düzeyde etki gösterememiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise farklı tuz konsantrasyonlarının kanola üzerinde oluşturduğu stres incelenmiştir. Bu amaçla farklı oranlarda NaCl içeren MS besiyerlerinde kanola embriyolarının gelişimi dört hafta süre ile izlenmiştir.

Birinci haftada en az gövde gelişimi %3 oranında NaCl içeren besiyerinde görülmüştür. En iyi gelişme ise %0,5 oranında NaCl içeren MS besin ortamda ve tuz içermeyen kontrol grubunda olmuştur. 2., 3. ve 4. haftalarda gövde gelişimleri aynı oranda artarak devam etmiştir (Şekil 3.20, 3.21 ve 3.22). Deney sonunda en iyi gövde gelişimi kontrol grubu ve %0,5 tuz içeren MS besiyerlerinde ölçülmüştür (Şekil 3.25). Tuz konsantrasyonu arttıkça kanola bitkiciklerinin gövde gelişiminde azalma olmuştur. Artan NaCl konsantrasyonu kanolada strese sebep olmuş gelişimi azaltmıştır. Ancak %2'lik besiyerindeki gelişim %1 ve %1,5 tuz içerenlere göre daha fazladır.

Ortalama kök uzunluklarına bakıldığında en iyi gelişim %0,5 NaCl içeren besiyerinde elde edilmiştir (Şekil 3.26). Bu gelişim kontrol grubundan daha fazladır. %2 oranında NaCl içeren besiyerinde kök gelişimi birinci haftanın sonunda hemen hemen durmuştur.

Canlı bitki sayılarına bakıldığında tuz konsantrasyonundaki artışın neden olduğu stres daha belirgin olarak görülmektedir. (Şekil 3.27). Kontrol grubu ve

%0,5 NaCl içeren besiyerlerinde bitkilerin neredeyse tamamı hayatta kalırken, daha yüksek oranda tuz içeren % 2 ve % 3 lük besiyerlerinde bitkilerin yaklaşık yarısı ölmüştür.

Bu sonuçlara genel olarak bakıldığında tuz konsantrasyonundaki artışa paralel olarak tuzun neden olduğu stresin de arttığı görülür. Tuz stresinin gövde gelişimi üzerindeki etkisi ile köklerin gelişimi üzerindeki etkisi aynı düzeyde olmamıştır. Kök gövdeye göre daha az etkilenmiştir. Bajii, Kinet ve Lutts (1998) bir halofit bitki olan *Atriplex halimus* L. ile yaptıkları tuz stresi çalışmasında kökün gövde ve yapraklara oranla daha az etkilendiğini bulmuşlardır. Benzer şekilde Ramoliya ve Pardey (2003)'e göre de topraktaki tuzluluk kök gelişimini gövdeye oranla daha az baskılamaktadır.

Artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak kanola bitkiciklerinde stres oluşmuş, kök ve gövde gelişimi yavaşlamış fakat zamanla bitkicikler ortamdaki tuza tolerans göstermişlerdir. Kanola glikofit bir bitki olmasına rağmen % 3 gibi yüksek oranda tuz içeren ortamda gelişebilmiştir. Bu da kanolanın tuza dayanıklı olduğunu göstermiştir (Şekil 3.19). Puppala ve arkadaşlarının (1999), farklı sıcaklıklarda tuz stresinin kanolaya etkilerini inceledikleri çalışmalarına göre de kanola tuza orta derecede toleranslıdır. Tuz içermeyen kontrol grubuna kıyasla kanola embriyoları %0,5 NaCl içeren ortamda daha iyi gelişmişlerdir (Şekil 3.18, 3.23 ve 3.24). Street ve Öpik (1984)'e göre de bitkiler için uygun tuzlulukta olan topraktaki NaCl konsantrasyonu %0,5 civarındadır.

Bu bulgulara göre kanola bitkisinin doku kültürü ile üretiminde büyüme düzenleyici madde olarak Kinetin kullanılması uygun olacaktır. Farklı büyüme düzenleyicileri kanola embriyoları üzerinde farklı etkiler yapmıştır. Bitkilerde büyüme ve gelişme farklı hormonların dengesine göre düzenlenir, buna göre Kinetin ile birlikte başka bir büyüme maddesinin kullanılması gelişime sinerjik veya antagonistik etki yapabilir.

Ortamda bulunan düşük miktarda tuzun kanola gelişimini olumlu etkilediği görülmüştür, buna göre hafif tuzlu topraklarda kanola üretimi yapılabilir. Artan tuz stresine bağlı olarak kanolanın istenilen özelliklerinden olan yağ içeriğinin nasıl etkilendiği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Adams, P., Thomas, J.C., Vernon, D.M., Bohnert H.J. ve Jensen, R.G. (1992), *Distinct cellular and organismic responses to salt stress*, Plant Cell Physiol, **33**, 1215–1223.
- Adamsen, F.J. ve Coffelt, T.A. (2005), *Planting date effects on flowering, seed yield, and oil content of rape and crambe cultivars*, Industrial Crops and Products, **21**, 293–307.
- Anonim (2005), *Canola*, <http://www.biobasics.gc.ca/english/view.asp?x=744>
- Anonim (2005), *Canola Production*,
http://www.canola-council.org/health_nutritional.html
- Akman, Y. ve Darıcı, C. (1998), *Bitki Fizyolojisi*, Ankara.
- Akman, Y., Küçüködük, M., Düzenli, S. ve Tuğ, G.N. (2001), *Bitki Fizyolojisi*, Ankara.
- Akman, Y. (1998a), *Bitki Biyolojisine Giriş*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, N., Inaba M. ve Murata, N. (2000), *Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in Synechococcus sp*, Plant Physiol, **123**, 1047–1056.
- Algan, N. (1990), *Kanola tarımında çeşit sorunu ve agroteknik yöntemler*, TOKB, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Menemen, İzmir.
- Algan, N. ve Aygün, H. (2001), *Bazı fizyolojik kışlık kanola genotiplerinde verim ve verim komponentleri arasındaki ilişkiler*, Ege Üni. Ziraat Fakültesi dergisi, **38**, 9–15.
- Aslanargun, B.A. (2002), *Bitki Büyüme Fizyolojisi*, Anadolu Üniv. Fen Fakültesi Yayınları, Eskişehir.
- Aslanargun, B.A. (1992), *Petunia x Hybrida Üzerinde Meristem Kültürü Çalışmaları*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Atakişi, İ. K. (1991), *Yağ bitkileri yetiştirme ve ıslahı*, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları, Tekirdağ.
- Babaoğlu, M., Gürel E. ve Özcan, S. (2001), *Bitki Biyoteknolojisi*, Selçuk Üniv. Basımevi, Konya.

- Bajji, M., Kinet, J.M. ve Lutts, S. (1998), *Salt stress effects on roots and leaves of Atriplex halimus L. and their corresponding callus cultures*, Plant Science, **137**, 131–142.
- Boyer, J.S. (1982), *Plant productivty and environment*, Science, **218**, 443–448.
- Cheeseman, J.M. (1988), *Mechanism of salinity tolerance in plants*, Plant Physiol, **87**, 547–550.
- Elliatioğlu, Ş. (2000), *Doku kültürü uygulamalarında kararmayı engelleme yöntemleri*, Biyoteknoloji Dergisi, **24**, 38–39.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu J.K. ve Bohnert, H.J. (2000), *Plant cellular and molecular responses to high salinity*, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. **51**, 463–499.
- Iyengar, E.R.R. ve Reddy, M.P. (1996), *Photosynthesis in highly salt-tolerant plants*, Handbook of photosynthesis (Ed: Pesserkali M., Dekar, M. ve Rose B.), USA, 897–909.
- Karamanoğlu, K. (1973), *Genel Botanik*, Çağlayan Kitapevi, İstanbul.
- Kocaçalışkan, İ. (2002), *Bitki Fizyolojisi*, 2. Baskı, Kütahya.
- Mauseth, J.D. (1991), *Botany: An Introduction to Plant Biology*, Philadelphia: Saunders, A.B.D.
- Murashige, T. ve Skoog, F. (1962), *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*, Physiol. Plant., **15**, 473-497.
- Önder, N. (1985), *Genel Bitki Fizyolojisi*, İstanbul Üni. Fen Fak Basımevi, İstanbul.
- Önder N. ve Yentür, S. (1999), *Bitkilerin Büyüme Gelişme Farklılaşma ve Hareket Fizyolojisi*, İ. Ü. Yayınları, İstanbul.
- Palavan-Ünsal, N. (1993), *Bitki Büyüme Maddeleri*, İ.Ü. Basımevi, İstanbul.
- Parida, A.K. ve Das, A.B. (2005), *Salt tolerance and salinity effectson plants: a review*, Ecotoxicology and Environmental safety, **60**, 324–349.
- Puppala, N., Fowler, J.L., Poindexter, L. ve Bhardwaj, H.L. (1999), *Evaluation of salinity tolerance of canola germination*, Perspectives on new crops and new uses (Janick J.), ASHS Press, 251–253, Alexandria, VA.

- Ramoliya, P.J. ve Pandey, A.N. (2003), *Effect of salinization of soil on emergence, growth and survival of seedlings of Cordia rothii*, For. Ecol. Manage. **176**, 185–194.
- Ramoliya, P.J., Patel, H.M. ve Pandey, A.N. (2004), *Effect of salinization of soil on growth and macro- and micro-nutrient accumulation in seedlings of Salvadora persica (Salvadoraceae)*, Forest Ecology and Management, **202**, 181-193.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. (1995), *Tohumlu Bitkiler Sistematiği*, Ege Üniv.Basımevi, Bornova-İzmir.
- Shahidi, F. (1990), *Rapeseed and Canola: Global Production and Distribution*, Crop Yearcargo Bulletin, No.260, Kanada.
- Street, H.E. ve Öpik, H. (1984), *The Physiology of Flowering Plants*, Athenaeum Press, London, İngiltere.
- Süzer, S. (2001a), *Kanola Tarımı*, Marmara'da Tarım, **77**, 38–43.
- Süzer, S. (2001b), *Destek Kapsamına Alınan Kanola Tarımı*, CİNİETARIM, **38**, 38–39.
- Taiz, L. ve Zeiger, E. (2002), *Plant Physiology*, Sinauer Associates Inc Publisher, Sunderland Massachusetts, A.B.D.
- Zhu, J. ve Meinzer F.C. (1999), *Efficiency of C-4 photosynthesis in Atriplex lentiformis under salinity stress*, Aust. J. Plant Physiol, **26**, 79–86.