

ORIGANUM ONİTES VE ORİGANUM MAJORANA
BİTKİLERİ İLE MERİSTEM KÜLTÜRÜ
KULLANILARAK STRES FİZYOLOJİSİ ÇALIŞMASI

Esen DÜZER

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak-2010

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ORİGANUM ONİTES VE ORİGANUM MAJORANA

**BİTKİLERİ İLE MERİSTEM KÜLTÜRÜ KULLANILARAK STRES
FİZYOLOJİSİ ÇALIŞMASI**

Esen DÜZER

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ

2010, 45 sayfa

Bu yüksek lisans çalışmamızda farklı konsantrasyonlardaki NaCl'ün *O.onites* ve *O.majorana*'nın gelişimi üzerinde oluşturduğu stres meristem kültürü tekniği kullanılarak incelenmiştir. % 0.01, % 0.02, % 0.03 gr konsantrasyonlarındaki NaCl' ün bitkiler üzerinde gelişimi yavaşlattığı saptanmıştır. % 0.01 gr NaCl içeren besiyerlerinde kök ve yaprak uzunlukları artarken *O.onites* ve *O.majorana*'nın tuz stresine karşı toleranslı olduğu ve ortamda bulunan değişik konsantrasyonlardaki tuzun bitkilerin gelişimini yavaşlattığı fakat tamamen durdurmadığı bulunmuştur. *O.majorana*'da normal MS, % 0.02 ve % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerinde klorofil ve karotenoid miktarları tayin edilmiştir. Tuz içeriği arttıkça klorofil-a ve klorofil-b miktarlarında azalma, karotenoid miktarında artış görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Origanum onites*, *Origanum majorana*, Tuz Stresi, Meristem Kültürü, Stres Fizyolojisi

ABSTRACT

Master Thesis

STRESS PHYSIOLOGY STUDY OF *ORIGANUM ONİTES* AND *ORIGANUM MAJORANA* PLANT WITH USE MERISTEM CULTURE

Esen DÜZER

Anadolu University

Science Institute

Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ

2010, 45 pages

In this study, stress effects of NaCl in different concentrations on the development of *O.onites* and *O.majorana* by using meristem culture. It was determined that 0.01 %, 0.02 %, 0.03 % g concentrations of NaCl decrease the development of the plants. Other hand, on the 0.01 % g NaCl concentration, length of root and leaves increased. It was determined that, *O.onites* ve *O.majorana* could tolerate NaCl, and different concentrations of NaCl decrease the development of the plants, but not completely abort. Chlorophyll and carotenoid concentrations were determined in the *O. majorana*, which cultured in normal MS, 0.02 % and 0.03 % g salt containing culture mediums. As the amount of salt increases, a reduction in the amount of chloropyll-a and chloropyll-b and an increase in the amount of carotenoids has been observed.

Keywords: *Origanum onites*, *Origanum majorana*, Salt Stress, Meristem Culture, Stress Physiology

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tezini tamamlamamda değerli bilgi ve tecrbesiyle bana yol gösteren danışman hocam; Sayın Yard. Doç. Dr. Banu Aytl EKMEKÇİ' ye, Uzm. Dr. Ferhat ALTUNSOY' ya ve bana her zaman destek olan aileme arkadaŐlarımaya teşekkür ederim.

Esen DÜZER

Ocak, 2010

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.2. Meristemin Yapısı	3
1.3. Kararma	5
1.4. Stres Fizyolojisi	5
1.4.1. Stresin Tanımı	5
1.4.2. Stresin dereceleri	7
1.4.3. Stresle İlgili Kavramlar	7
1.4.4. Tuz Stresi	8
1.4.5. Tuz stresine bağlı klorofil azalması	
1.4.6. Tuz stresine tolerans metabolizması	13
2. MATERYAL VE YÖNTEM	14
2.1. Materyal	14
2.2. Yöntem	16
2.2.1. Sterilizasyon	17
2.2.2. MS besiyerinin hazırlanması ve sterilizasyonu	17
2.2.3. Meristemlerin yüzey sterilizasyonu ve ekimi	19

3. BULGULAR	20
3.1. <i>Origanum onites</i> ve <i>Origanum majorana</i> 'da Tuz Stresi	20
3.2. <i>Origanum majorana</i> 'da klorofil-a, klorofil-b ve karotinoid ölçümü	
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Origanum majorana</i>	16
Şekil 3.1. MS besiyerine ekilen <i>O. majorana</i> eksplantları.....	21
Şekil 3.2. MS besiyerine ekilen <i>O. majorana</i> eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri	22
Şekil 3.3. MS besiyerine ekilen <i>O. majorana</i> eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	22
Şekil 3.4. MS besiyerine ekilen <i>O. onites</i> eksplantlarının 1 hafta sonraki görünümleri	23
Şekil 3.5. MS besiyerine ekilen <i>O. onites</i> eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	23
Şekil 3.6. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantları	24
Şekil 3.7. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri	24
Şekil 3.8. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 3 hafta sonraki görünümleri	25
Şekil 3.9. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	25
Şekil 3.10. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantları	26
Şekil 3.11. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri	26
Şekil 3.12. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 3 hafta sonraki görünümleri	27
Şekil 3.13. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	27
Şekil 3.14. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantları	28

Şekil 3.15. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünümü.....	28
Şekil 3.16. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünümü.....	29
Şekil 3.17. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları	30
Şekil 3.18. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları	31
Şekil 3.19. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	32
Şekil 3.20. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları.....	33
Şekil 3.21. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları	34
Şekil 3.22. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	35
Şekil 3.23. <i>O.majorana</i> 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Murashige & Skoog (MS) besiyeri bileşiminde bulunan kimyasal maddeler ve konsantrasyonları.....	18
Çizelge 3.1. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları	29
Çizelge 3.2. <i>Origanum onite</i> 'de NaCl stresine bağlı kök uzunlukları	30
Çizelge 3.3. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	31
Çizelge 3.4. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı yaprak uzunlukları	32
Çizelge 3.5. <i>Origanum majorana</i> 'd NaCl stresine bağlı kök uzunlukları	33
Çizelge 3.6. <i>Origanum majorana</i> NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	34
Çizelge 3.7. <i>O.majorana</i> 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları.....	36

1. GİRİŞ

Kekik ülkemiz ekonomisine önemli katkı sağlayan, gıdalarımızı çeşnilendiren ve sağlığımız için önemli özelliklere sahip bir bitkidir. Türkiye, Dünya Bitki Ticaretinde, Çin ve Hindistan'dan sonra üçüncü ülke durumundadır. Çeşitli adlarla ihraç edilen bitkiler arasında "Kekik" adıyla toplanıp satılanların miktarı ise 8 000 tona civarındadır. Bu rakama, yurt içinde baharat ve çay olarak tüketilen 1 000 tonu ve uçucu yağ üretiminde kullanılan 1 000-1 500 tonu da ilave edilecek olursak, Türkiye'nin kekik üretim miktarı 10 000 tona ulaşmaktadır (Başer, 2001). Türk kekiği kalitesini dünyaya kabul ettirmiştir. Ülkemizdeki işletme tesislerinde üretilen kekik; temiz olması ve yüksek oranda yabancı madde taşımaması nedeniyle kabul görmektedir (Olivier W.G., 1997; Oflaz, 2001).

Kekik bitkisinin bu kadar önemli bir bitki olması nedeniyle gelişimi üzerinde hangi durumların strese neden olduğu araştırma konumuzdur. Bitkisel üretimlerde gerekli olan toprak ve su, içerdikleri yoğun tuz miktarı nedeni ile zaman zaman sorun olmakta ve yetiştiriciliği sınırlandıran en önemli faktörler arasında yer alabilmektedir. Toprak tuzluluğu yağışın az olduğu kurak ve yarı kurak ekolojilerde sıkça rastlanan bir stres kaynağı olup, genellikle toprakta fazla miktarda NaCl birikimini ifade etmektedir. Çalışmamızda gıda ürünlerinin üretimi için giderek artan bir sorun haline gelen tuz stresinin bitki üzerindeki etkilerini inceledik. Bu incelemede doku kültürü tekniğinden yararlanıldı. Bitkinin gelişimindeki optimum şartlar sağlanmış, incelemek istediğimiz makroelement konsantrasyonlarının bitki gelişimi üzerinde oluşturduğu stres meristem kültürü tekniği kullanılarak incelenmiştir. Bu tekniği seçmemizdeki amaç daha hızlı çoğalma hızına sahip olması, daha az yere gereksinim duyulması, tüm yıl boyunca üretim yapılabilmesi, kimyasal ve fiziksel ortam koşulları üzerinde daha fazla bir oranda kontrol olanağı sağlanması, olgun dokuların yeniden geliştirilmesi ve kısa sürede gelişim imkanının olması gibi avantajlarını sıralayabiliriz.

Anadolu'da kekik adıyla bilinen bitkiler: *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Corydothymus* cinslerinin türleridir (Başer, 1995). Bu türlerin bazıları doğadan doğal olarak toplanırken bazılarının ise tarımı yapılabilmektedir.

Dünya üzerinde 50 kadar türle temsil edilen *Origanum* türleri çoğunlukla Akdeniz bölgesinde ve Balkanlarda yayılış gösterirler. *Origanum* türleri, birden fazla dik gövdesi olan, çok yıllık otsu veya yarı çalimsı bitkiler olup çiçekleri salkımsı veya gövde uçlarında toplu halde bulunmaktadır. Orta büyüklükteki çok yıllık bu bitkiler, genellikle sıcak iklimi sever ve kurak, besince zengin, çoğunlukla kireçli topraklarda iyi yetişirler. Günümüzde *Origanum* türleri doğadan toplanıldığı gibi bazılarının çelikle ve tohumla üretimi de yapılmaktadır.

Günümüz biyoloji bilimi hızlı bir gelişim göstermektedir. Biyoteknoloji, biyolojik bilimlerdeki gelişmelerin teknolojideki gelişmeler yardımı ile uygulamaya konularak kullanılması şeklinde tarif edilebilir. Biyoteknolojinin uygulama alanları içinde en hızlı gelişme potansiyeline sahip olanlardan birisi bitki biyoteknolojisidir. Bitki biyoteknolojisi ise çeşitli doku kültürü ve genetik mühendisliği tekniklerini kullanarak bitkilerin moleküler düzeyde iyileştirilmesini amaçlamaktadır. Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besi yeri ortamında, bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi kısımlardan yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin 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. Doku kültürü ayrıca protoplast izolasyonu, hücre, doku ve bitki beslenmesi, sitogenetik çalışmalar, morfogenez çalışmaları ve biyolojik azot fiksasyonu gibi temel araştırmalarda da kullanılmaktadır.

Doku kültürleri sıvı ya da katı olabilmektedir. Diğer kültür yöntemlerinden farkı destek materyali olarak agar gibi organik bileşiklerin kullanılmasıdır. Diğer yandan ortamın osmotik basıncını ve pH'ını ayarlamakda önemlidir. Bu yöntemle mikrobiyal bulaşma kuvvetle olasıdır. O yüzden sterilite çok önemlidir. Aksi halde organik ortam mikroorganizmaların hızla üremesini sağlayacaktır. Bu

yöntemin ayrıcalıklarından biri de tüm bitki yerine doku, doku parçacıkları, hücre ve hatta hücre organelleri kullanılmasıdır. Bu ayrıcalık üretimde hız getirebildiği gibi, çeşitliliği de beraberinde sağlar. Bu yöntemde besleme ortamına büyümede hızı sağlayacak vitaminler ve bitki büyüme maddeleri ilave edilir. Büyüme maddeleri üretim sırasında kallus gövdeli bitki, köklü bitki ya da komple bitki gibi istekleri yönlendirir.

Bitki doku kültürü çalışmaları içinde en yaygın olanlarında biri meristem kültürüdür. Meristem kültürü tekniği, bitkiden alınan küçük meristem hücreleri topluluğundan uygun şartlarda uygun besi yerle ve hormonlarla yeni bir bitki elde edilmesidir. Meristem kültürü çalışmaları; bitki ıslahı ve virüssüz bitki yetiştirilmesi hızlı ve nitelikli bitki üretme gayretinden doğmuştur. Çok sayıda otsu bitkinin meristem kültürü tekniği ile sağlıklı ve güçlü bir kök sistemi oluşturma kapasitesine sahip oldukları saptanmış olup bu olgudan çiçekçilik, seracılık ve fidancılıkta yararlanılmaktadır. Son yıllarda patates, şeker kamışı, bezelye, karnabahar, çilek, muz, turunçgiller gibi birçok bitki türünde meristem kültürü, termoterapi (sıcaklıkla iyileştirme) ile kombine edilerek uygulanmakta ve virüssüz bitkiler elde edilmektedir.

Tüm bunlar göz alındığında önemli bir sanayi ve gıda maddesi olarak kullanılan kekik bitkisinin hangi tuz aralıklarında daha verimli olduğunu saptamak için bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

1.2. Meristemin Yapısı

Meristem dokunun kökeni embriyodur. Yüksek yapılı bitkilerde yumurta hücreleri ile erkek gametin birleşmesinden meydana gelen zigot bölünerek embriyoyu verir. Embriyo esas bitkiyi meydana getirebilmek için devamlı bölünerek hücre sayısını arttıra bilme yeteneğindedir. Bölünme özelliğinden dolayı da bitkilerin uzama ve kalınlaşmasını sağlar. Meristemler tarafından üretilen hücreler büyümelerine ve morfofizyolojik değişmelerine, özelleşmelerine değişim denir. Böylelikle embriyonik karakter kaybolur ve olgun dokular oluşur.

Örn: Elekli boru hücreleri, çekirdek veya çekirdek materyali, ihtiva eden bütün değişmez doku hücreleri yeterli uyarı aldıklarında yeniden bölünme, büyüme ve değişme kabiliyetindedirler. Buna hatipotensi denir (Anonim 2008).

Mersitem hücreleri; bol sitoplazmalı, ince çeperli, hücreler arası boşlukları olmayan, kofulsuz yada küçük ve az kofullu, büyük çekirdekli, farklılaşmış küçük hücrelerdir. En önemli özellikleri sık sık bölünerek yeni hücreler meydana getirebilmeleri. Meristemler kökenlerine göre 2'ye ayrılır (Anonim 2008).

- i- Primer meristem
- ii- Seconder mersitem

Primer meristem, embriyo safhasından itibaren bölünme yeteneğini kaybetmeyen ve doğrudan doğruya embriyo hücrelerinden gelişen hücrelerdir. Uzunluğuna büyümeyi gerçekleştirirler. Meristem bitkide bulunduğu yere göre (apikal, lateral ve interkalar meristem olarak) 3'e ayrılır; apikal meristem kök, gövde ve dalların ucunda yani büyüme noktalarında bulunur. Gövdede bölünmenin olduğu kısım vejetasyon konisi adını alır ve büyüme noktasını teşkil eder (Anonim 2008).

Vejetasyon konisinin en dış kısmında tunika bulunur. Tunikanın dış tabakası dermatogen (protoderma) adını alır ve gelişerek epidermayı oluşturur. Periblem denilen iç tunika tabakasının gelişmesiyle korteks ve destek doku meydana gelir. İkinci tabakada korpustur ve buda öz veya öze yakın iletim demetlerini meydana getirir. İnterkalar meristem organların uzunluğuna büyümesini sağlar.

Lateral meristem enine büyümeyi sağlar. Büyümeye devam eden pena köklerin uç kısımlarında da bir vejetasyon konisi bulunur. Yalnız bu genç kökler toprakla devamlı temas halinde bulduklarından bu kısım kaliptra denen yüksükle korunur. Burada dıştan içe doğru kaliptrogen, dermatogen, periderm, korpus bulunur.

Primer meristemler kök, gövde ve dalların ucundaki sürekli mitoz bölünme özelliğinde olan hücrelerden oluşur. Kök ve gövde ucundaki bu kısımlar koni

şeklini almıştır. Genç hücrelerden oluşan bu büyüme konileri kökte kaliptra, gövdedeyse koruyucu yapraklarla dış etkenlerden korunur.

Sekonder meristem; çiçeksiz bitkiler ve monokotillerde yoktur. Bölünmez doku hücrelerinin hormonların etkisiyle yeniden bölünme yeteneği kazanması sonucu meydana gelen bölünür dokulardır. Kök ve gövdenin enine büyümesini sağlar, kambiyum ve mantar meristemi bu görevi yapar (Anonim 2008).

1.3 .Kararma

In vitro koşullardaki kararma, kimyasal olarak açıklanabilen ve çoğunlukla tanenler ve okside olan polifenoller nedeniyle ortaya çıkan bir olaydır.

Dokular ana bitkiden ayrılıp eksplant hazırlanması sırasında yaralanırlar; bu durum çoğunlukla hava tarafından, peroksidazlar tarafından veya polifenoloksidazlar tarafından okside edilen ve hem dokuda, hem de kültür ortamında kahverengileşme veya kararma ile sonuçlanan çeşitli bileşiklerin açığa çıkmasına neden olur (Elliatlıoğlu 2000).

Katekol oksidaz'ı da içeren polifenoloksidazlar, sağlıklı ve genç dokulardaki plastidlerde saklanmaktadır. Bitki zararlandığında eksplant hazırlanmasında olduğu gibi fenolik bileşikler, plastidlerle ve diğer organellerle karışık bir halde vakullerin içerisinde büyük miktarlarda depolanırlar ve okside olmuş polifenollerin meydana gelmesiyle de koyu renk pigmentasyonu görülmeye başlanır. Okside olmuş bu bileşikler, enzim aktivitesini engellemekte böylece eksplantı öldürücü kararma sonucu ortaya çıkmaktadır (Elliatlıoğlu 2000).

1.4. Stres Fizyolojisi

1.4.1. Stresin Tanımı

Stres canlılarda hasar meydana getiren güç olarak tarif edilir. Bu zarar metabolizma sonucu meydana gelir. Sonuçta bir bitkinin veya organın büyümesinde ve verimliliğinde azalmaya, hatta ölüme neden olabilir. Hem doğal hem de tarımsal koşullarda bitkiler sıklıkla çevresel strese maruz kalırlar. Stresin

dereceleri çok geniş sınırlar içindedir. Hava sıcaklığı gibi bazı çevresel faktörler sadece birkaç dakika içinde stres oluşturabilirken, toprak suyu içeriği ve topraktaki mineral eksikliği diğer faktörlerin stres oluşturması günler hatta haftalar sürebilir. Ayrıca, toprak ve iklimin, bitki türlerinin dağılımını nasıl sınırlandırdığını belirlemede stres büyük bir rol oynar. Bu nedenle, bitkilerin çevresel strese uyum ve aklımasyon mekanizmaları ile stres yaralanmaları altında yatan fizyolojik süreçleri anlamak, hem tarım hem de çevre açısından büyük bir öneme sahiptir.

Çevresel strese adaptasyon ve aklımasyon, 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. Çizelge 1.1’de bitkileri etkileyen stres çeşitleri 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.Işınlar	3.Hava kirliliği	3.Parazitizm
4.Elektromanyetik alan	4.Pestisitler	4.İnsan Tahribi
5.Rüzgar ve fırtına	5.Herbisitler	5.Hayvan tahri bi
6.Toprak yapısı	6.Toprak pH’sı	6.Hastalıklar

1.4.2 Stresin dereceleri

Bitkiler herhangi bir stres kaynağına maruz değillerse, bu durumda stresten söz edilmez. Bu şekilde optimum şartların bulunmasına ‘sıfır stres ’’ adı verilmektedir. Stresin dereceleri çok geniş sınırlar içindedir. Tabiatta bitkiler için tamamen stressiz bir ortamın bulunması çok zordur. Stresin şiddeti yanında bitkinin strese maruz kalma süresi de önemlidir.

Bitki türünde şiddetli strese sebep olan bir stres faktörü, bir başka türde hatta türlerin kendi içinde bile ılımlı strese ya da sıfır strese sebep olabilir. 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 yarısından fazlası koful olduğu için strese dayanıklıdır (Önder ve Yentür 1999).

1.4.3. Stresle İlgili Kavramlar

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. Ancak bitki yaşamını sürdürebilir.

Tolerans (Esneklik): Bitkinin uygun olmayan çevre şartlarına maruz kalması durumunda, hayatını devam ettirmesi ve strese dayanıklı olarak tarif edilebilir. Daha çok bitkinin genetik yapısıyla ilgilidir.

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).

1.4.4.Tuz Stresi

Bitkide strese neden olan etmenler; hastalık oluşturanlar ve zararlılar gibi biyotik kökenli olabilmesinin yanında; tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklıklar, besin elementlerinin eksik veya fazlalıkları gibi abiyotik kökenli de olabilmektedir.

Çevik (1986), Türkiye topraklarının toplam alanının 78 milyon hektar olduğunu, bunun %36'sının işlenebilir arazi olup bu alanların %3.2'sinin tuzluluk problemine sahip olduğunu belirtmektedir. Sönmez (1990) ise, Türkiye'de 4 milyon hektar alanın tuzla etkilenmiş topraklara sahip olduğuna işaret etmekte; bu değer, sulanabilir alan potansiyelimizin yaklaşık %18'i olduğunu vurgulamaktadır.

Tarımsal üretim alanlarında tuzluluk, toprakların verimliliğini olumsuz yönde etkileyen, ürün verimini sınırlandıran en önemli faktörlerden birisidir. Toprak tuzluluğunu çoğunlukla yağış miktarı az, yüksek sıcaklık derecelerine sahip olan kurak ve yarı kurak bölgelerde ortaya çıkmaktadır.

Toprakta bulunan çözünebilir tuzların miktarı, bitkinin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan miktarın üzerine çıktığında sorunlar ortaya çıkmaya baslar. Toprak tuz içeriği arttıkça bitkinin su alımı kısıtlanır. Tuz konsantrasyonu, kullanılabilir su potansiyelini düşürmeye yetecek kadar olduğunda (0.5-1.0 bar) bitki strese girer ki, bu da tuz stresi olarak adlandırılır (Yaşar 2003).

Ekonomik anlamda öneme sahip bitkilerin çoğu tuzluluğa karşı duyarlıdır. Tuzlu ortamlarda yetişen bir bitki büyümeyi engelleyici faktörleri üç grupta toplamak olasıdır: a) kök bölgesindeki düşük su potansiyeli nedeniyle su alımının azalması veya diğer bir değişle su stresi, b) iyon toksisitesine neden olacak düzeyde yükselen Na ve Cl iyonlarının bitki bünyesinde birikimi, c) besin maddelerinin alımı ve taşınımı sırasında ortaya çıkan dengesizlikler ve özellikle K ve kısmen Ca eksikliklerinin ortaya çıkması. Bitkilerin tuza karşı gösterdiği tepkiler; bitkinin içinde bulunduğu gelişme dönemine, stres faktörü olan tuzun

konsantrasyonuna, tuzun bitkiye etki ettiği süreye göre değişebilmekte; ayrıca iklim ve toprak özelliğine bağlı olarak da farklılık gösterebilmektedir. Çevresel faktörler ve fizyolojik etkilerin eşlik ettiği tuza tolerans özelliğinin esas kaynağı kalıtsal unsurlardır. Tuza tolerans bakımından bitkiler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Familya, cins ve türler arasında farklılıklar bulunduğu gibi, aynı türe ait çeşitler arasında da tuza tolerans bakımından farklılıkların bulunduğu bilinmektedir.

Tuz zararı bitkilerde farklı belirtilerle kendini gösterebilmektedir.

Tuzluluk, bitkinin morfolojisini ve anatomisini de kapsayan tüm metabolizmasını etkileyen bir faktördür. Toprak çözeltisindeki tuz konsantrasyonu arttığında ve su potansiyeli azaldığında, bitki hücrelerinin ozmotik potansiyeli düşer ve bitki hücrelerinin bölünmesi ya da uzaması birden yavaşlar. Bu stres koşulları altında genellikle stomalar kapanır ve sonuç olarak fotosentez azalır. Stres koşullarının devam etmesi halinde bitki büyümesi tamamen durabilir. Bitki tür ve çeşitleri arasında tuzluluğa gösterilen tepki bakımından farklılık bulunmakla birlikte, gilikofit bitkilerin kök bölgesinde tuzluluğun hafta veya ay düzeyindeki bir süreç boyunca artmasına karşı gösterilen ilk fenotip yanıt, sürgün büyümesindeki azalmadır. Bu bilgiye ek olarak tuzluluğa en fazla duyarlılık gösteren organların yapraklar olduğunu bildiren Munns ve Termaat (1986)'ın açıklamalarından sonraki yıllarda yapılan başka çalışmalar sonucunda mısırdaki (Cramer ve ark., 1988) ve domateste (Snapp ve Shennan, 1992) kök büyümesi ve gelişmesinin de tuzluluktan benzer biçimde etkilendiğini ortaya konmuştur. Yurtseven (2000) tuzluluğun patlıcan bitkisinin bitki su tüketimine etkisini araştırmış ve tuzluluk artışı ile bitki su tüketiminin azaldığını belirlemiştir. Bu azalma toprak ortamındaki çözelti konsantrasyonunun sulama suyu ile iletilen tuzlar nedeniyle artması ve bunun bir sonucu olarak ozmotik basıncın yükselmesinin bitki su alımını zorlaştırmamasından kaynaklanmıştır. Scardaci ve ark (2002) toprak ve su tuzluluğunun pirinç verimine etkisini araştırmışlardır. Tuzluluğun artmasıyla pirinç verimi azalma göstermiştir. Yine sulama suyundaki çözünmüş tuz konsantrasyonu artmasıyla tohum yoğunluğu ve bio kütle değerleri de azalma göstermiştir.

Tuz stresi bitkinin ölümüne neden olabildiği gibi tolerans durumuna bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroz, nekrotik lekelerin oluşumuna yol açabilmekte, verim ve kalitenin azalmasına neden olmaktadır. Mer ve ark. (2000) tuzun toksit etkisinin ilk önce yaşlı yapraklarda görülmeye başladığını, bu yaprakların uçlarından başlayıp yaprak ayasına ve sapına doğru ilerleyen kloroz şeklinde kendini gösterdiğini, daha sonra bu kısımların öldüğünü belirtmektedir. Tuzlu koşullarda büyüyen bitkilerin büyüme hızı düşük olup bodur bir yapı sergilemektedirler, yaprakları ise çoğunlukla küçük ve rengi koyu yeşildir. Tuz stresinde hücre büyümesi ve hücre bölünmesindeki, yavaşlamanın, sitokin miktarının azalması sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Hormon dengesinde ortaya çıkan değişikliklerin tohum çimlenmesi üzerinde de etkide bulunduğu, azalan sitokin sentezlenmesinin sonucu olarak çimlenme oranında azalma oluşturduğu iddia edilmektedir. Tuzlu koşullarda çimlenmenin engellenmesi ve çimlenme yüzdesinin düşmesi beklenen bir tepkidir (Demir ve Demir, 1992). Tuz stresine maruz kalan bitkilerde karşılaşılan farklılıklar arasında kök, gövde ve sürgün uzunluğunda azalma; yaprak alanı ve sayılarında azalma; klorofil miktarında azalma; veriminde, meyve tat ve renklerine bozulma kaydedilmektedir. Bitki uzun bir süre tuzluluk stresi altında kaldığında, yaşlı yapraklarda iyon toksisitesi ve su noksanlığı, genç yapraklarda ise karbonhidrat noksanlığı ve buna bağlı belirtilerin ortaya çıktığı kaydedilmektedir (Greenway ve Munns, 1980; Franco ve ark.,1993; Sivritepe, 1995; Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; 1997).

Levitt (1980) ise, tuz stresinden kaynaklanan iyon toksisitesini birincil derecede etkili stres faktörü; bunun ardından oluşan su alımının azalması yani su stresi ve mineral maddedeki dengesizlikler ve beslenmedeki bozulmayı ikincil stres faktörleri olarak yorumlamaktadır. Tuz stresi ve buna bağlı oluşan su stresi arasındaki ilişkiyi ayırt etmek oldukça güçtür. Topraktaki tuz miktarının artışı ile suyun ozmotik potansiyeli düştüğünden, tuz stresi bitkiyi ikincil bir ozmotik strese, bir başka deyişle fizyolojik kuraklık stresine maruz bırakmaktadır.

Sodyum, bitkide hem floem, hemde ksilem içerisinde hareket edebilme olanağına sahip bir element olarak bilinmektedir. Bohra ve Döfling (1993), tuz stresinde bitkinin kök bölgesinde iyon dengesinin bozulduğunu; artan miktardaki sodyum alımının, diğer mineral maddelerin alımı ile rekabete girerek beslenme noksanlığına yol açtığını bildirmektedir. İyon dengesizliğinin ve köklerde hücre zarı geçirgenliği bozulmasının bitkinin beslenme rejimini etkileyerek, metabolik olaylarda kullanılan temel bazı elementlerin alımını önlediği, bunun da fizyolojik sorunların ortaya çıkmasına neden olacağı ileri sürülmektedir. Levitt (1980), ortamda sodyum klorürün fazla olması durumunda, bitkiler tarafından Na iyonunun gereğinden fazla alındığı ve oluşan rekabet nedeniyle K iyonu alımında azalmaların ve böylece K noksanlığının ortaya çıktığını ifade etmektedir. Yüksek sodyum iyonunun bulunduğu ortamda bitkide potasyum alımının azaldığı bilinen bir gerçektir. Chow ve ark. (1996)'nın çeltik bitkisinde yapmış olduğu araştırmada, bitkilerin yaprak ve gövdesinde artan sodyumun, potasyum üzerinde etkisi belirgin bulunmazken, köklerde artan tuzla birlikte potasyum alımının azaldığı saptanmıştır. Bitki genotiplerinin farklı oranlarda Na ve K absorpsiyonun yapması ve böylece bünyelerinde farklı K/Na oranlarına sahip olmasının (Na – K ayırım özelliği) tuzluluğa dayanım konusunda rol oynadığı, Heimler ve ark. (1995), Lopez ve Satti (1996), Yu ve ark. (1998) ve Aktaş (2002) tarafından gösterilmiştir.

Tuzluluk, diğer abiyotik stres faktörlerinden olan yüksek ve düşük sıcaklık, kuraklık ve mineral element eksikliğinden kaynaklanan stres faktörlerinde olduğu gibi bitkilerde karbon metabolizmasını ve elektron taşınım aktivitesini engellemektedir. Tuz stresi altındaki bitkiler su kaybını azaltmak için stomalarını kapatmakta, böylece CO₂ gazının girişi engellenmektedir. Bunun sonucu olarak CO₂ fiksasyonu azalmaktadır. Karbondioksit fiksasyonunda kullanılmayan elektronlar ile absorbe edilen ışık enerjisi O₂'nin aktivasyonunda, yani radikallerin sentezlenmesinde kullanılmaktadır. Karanlık (2001) tarafından da açıklandığı gibi, stres altındaki bitkilerde artan düzeylerde sentezlenen serbest radikaller hücrelere zarar vermekte özellikle yavaşlama sürecine giren membran lipitleri ve nükleik asitler ile klorofil gibi hücre komponentlerini de bozmaktadır.

Tuzlu şartlar altında bazı beslenme bozukluklarının da çıkması beklenir. Gelişme ortamında aşırı NaCl olduğu zaman, Na ve Cl bitki organlarında birikir ve bu tuz iyonları hem diğer besin elementleri ile rekabete girerek hem de hücre zarlarının seçici geçirgenliğini etkileyerek diğer besin maddelerinin alımını etkileyebilirler (Bohra ve Döflig, 1993). Örneğin, Na, K ile rekabete girer ve Na fazlalığında K eksikliği ortaya çıkabilir (Levitt,1980). Yüksek tuz konsantrasyonu Ca alımını sınırlayabilir ve Ca eksikliğine sebep olabilir (Cramer ve ark.,1986). K ve Ca elementleri bitkide çeşitli fizyolojik olaylarda anahtar rolü oynar ve bu rekabet sonucunda K ve Ca içeriğinde azalma ile beslenme dengesizliği ortaya çıkar. Tuzluluk sonucu Na içeriğinin artması buna karşılık K, Ca içeriği ve K/Na ve Ca/ Na oranlarındaki azalması literatürde çok karşılaşılan sonuçlardır (Yasar, 2003).

1.4.5.Tuz stresine bağlı klorofil azalması

Bilindiği gibi klorofil oluşumu; bitkilerin ototrofik yapılarını ortaya koyabilmelerinin, yani inorganik maddelerden organik maddeler üreterek büyüyüp gelişebilmelerinin temel taşıdır. Tuz stresi altında klorofil miktarlarında genel metabolik süreçteki aksamaya bağlı olarak azalma birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Çiçek ve Çakırlar (2002) mısırdaki, Gadallah (1999) ise bakla bitkisinde tuz stresi altında yaprakların klorofil içeriğinde azalmalar görüldüğünü bildirmişlerdir. Bitkilerin, kök bölgesindeki tuz (NaCl) yoğunluğu, Na⁺'un yapraklarda birikerek klorofil moleküllerinin Mg⁺⁺ ile yer değiştirmesini ve klorofillerin yapısını bozarak klorozis'i sonuçladığı bilinmektedir.

Santos (2004) tuz stresinde klorofil miktarlarındaki azalmaları δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALA-dehidrataz) inhibisyonuna ve dolayısıyla da klorofil biyosentezinin sınırlandırılmasına bağlamıştır. Reddy ve Vora (1986) ise tuz stresinden kaynaklanan bu azalmaların klorofil parçalanmasında rol oynayan klorofillaz enziminden dolayı olabileceğini belirtmiştir. Makrofit dokularının iyon miktarlarındaki (Na iyonu) artışların da klorofil miktarlarında azalmalara neden olabileceği rapor edilmiştir. Kadmiyum stresinin de ALA dehidrataz ve klorofil

biyosentezi ile ilişkili olan protoklorofillid redüktaz gibi enzimlerin inhibisyonu, klorofil biyosentezi için gerekli olan Mg ve Fe elementlerinin alınımı ve kullanımının zayıflaması, Zn yetersizliği sonucunda karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu ve klorofil molekülünün tetrapireol halkasındaki Mg'nin yerine bağlanması yollarıyla klorofil biyosentezini inhibe ederek klorofil miktarlarında azalmaya neden olduğu ifade edilmektedir (Santos 2004).

Tuz (NaCl) stresi koşullarında Na⁺'a direnip, klorofil moleküllerindeki Mg⁺⁺'la yer değiştirmesini engellemeleri ve klorofil miktarını giderek arttırabilmeleri onların tuza dayanıklılığının en önemli bir göstergesi olmaktadır.

1.4.6.Tuz stresine tolerans metabolizması

Bitkiler doğadaki her türlü biyotik ve abiyotik kökenli stres faktörlerine karşı bazı savunma mekanizmaları geliştirmekte, olumsuz koşullara uyum sağlayarak büyüme ve gelişmelerine devam etmeye çabalamaktadırlar. Tuzluluk stresi ile karşı karşıya kalan bitkilerde genotipik özellikler çerçevesinde tepkiler oluşmakta, bazı bitki tür ve çeşitleri tuzluluktan az düzeyde etkilenirken, bazıları ise ölümcül biçimde zarara uğramaktadır. Genel temellere dayanan bu tip farklı uyum yeteneklerinin yanı sıra herhangi bir bitkinin farklı gelişme dönemleri, tuzun cinsi, konsantrasyonu, uygulama süresi gibi faktörlerin de bitkilerin geliştirdiği savunma mekanizmaları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, Nelson ve Paris (1984) kavunlarda tuz stresi konusunda yapmış oldukları araştırmada, çimlenme döneminde NaCl tuzluluğuna en iyi toleransı gösteren genotiplerin fide döneminde tuzdan çok çabuk etkilendiği, ya da bu durumun tersinin gerçekleşerek çimlenme sırasında tuzluluktan olumsuz yönde etkilenen bazı genotiplerin fide döneminde tuza karşı daha yüksek bir tolerans sergiledikleri saptanmıştır. Al-Karaki (2000) ve Dasgan ve ark.(2002) domateste, yüksek Na birikiminden sakınma yeteneği ve sürgünlerde yüksek K/Na ve Ca/N oranının tuza toleransı ve dayanımı artırdığını bildirmişlerdir. Kaya ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, NaCl stresi altındaki çilek bitkilerine ilave Ca uygulamasının, NaCl'nin bitki gelişimi ve verim üzerine olan olumsuz etkisini azalttığı kaydedilmiştir.

2.MATERYAL VE YÖNTEM

2.1.Materyal

Bu çalışmada bitki materyali olarak *Origanum onites* ve *Origanum majorana* kullanılmıştır. Bu bitkiler tohumları TBAM vasıtasıyla temin edilmiş ve saksılarda yetiştirilmiştir. Uçucu yağ içeren yarı çalimsı veya otsu çok yıllıktır. Yaprakları basit, brakteler kiremitvari olarak üst üste dizilmiştir. Korolla mor, pembe veya beyaz renkte, 2 dudaklı, stamenler 4, altaki uzundur. *Origanum* cinsi Türkiye’de 23 tür 32 takson, dünyada 41 tür 52 taksonla temsil edilir (Oflaz ve ark., 2004).

Alem: Plantae

Alt alem: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Asteridae

Ordo: Lamiales

Aile: Lamiaceae

Origanum onites Türkiye’de ticareti yapılan beş tür arasında en çok ihracatı gerçekleştirilen türdür. Ülkemizde Ege ve Akdeniz Bölgelerinde doğal olarak yetişir. Halk arasında ‘Bilyalı kekik, Taş kekik, Peynir Kekiği, İzmir Kekiği’ gibi yöresel adlarla bilinen *Origanum onites*, doğal floramızın bir ürünü olmasının yanı sıra kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ticari *Origanum* türüdür. *Origanum onites*’in Ege bölgesinde tarımı yapılmaktadır. Tarım alanları son yıllarda 6300 dönüme ulaşmıştır. Oldukça yaygın kullanıma sahip ve ekonomik açıdan önemli bu bitki, halk arasında yemeklerde baharat olarak ve çeşitli

şekillerde hastalıkların tedavisinde kullanılır. Toprak üstü kısımlar midevi olarak, soğuk algınlığı, baş ağrısı gibi durumlarda kullanılır. Uçucu yağı ile yapılan çalışmalarda analjezik etkisi tespit edilmiştir. Yüksek miktarda fenol içermesi nedeni ile antibakteriyal, antispazmodik ve antiseptik etkileri bilinmektedir

Origanum majorana takriben 20-50cm boyunda genellikle bir yıllık, bazen iki yıllık ve sık çatallaşan bir bitkidir. Sürgünleri grimsi yeşil, sapları esmer veya kırmızımsı esmer renkte ve tüylüdür. Yaprakları oval şekilde 1-2cm uzunluğunda, 0,5-1cm eninde kenarları bütün koyu yeşil renkli, karşılıklı bir sonraki ise çapraz, kısa saplı veya sapsızdır. Çiçekleri sürgünlerin ucunda salkım şeklinde oldukça küçük çiçeklerden meydana gelir. Taç yaprakları beyaz renkte nadiren pembe, geri kısmı borucuk, şeklinde ve kupa yaprakları çan şeklinde olup taç yaprakları kavramıştır. Vatanı Akdeniz ülkeleri olan bitki, günümüzde orta Avrupa ülkeleri, kuzey Amerika ve Asya'nın Türkiye'den doğu Türkistan'a kadar olan alanda yetiştirilir. Mart aylarında saksı, kasa veya seralara ekilir ve fideleri mayısta bahçe veya tarlalara ekilir (Anonim 2007).

Origanum majorana bebeklerdeki nezle ve üşütmeye yetişkinlerde ise iştahsızlık, sindirim rahatsızlığı, akut ve kronik gastrit, ülser, şişkinlik, kulak iltihaplanması, baş ağrısı, kadın hastalıkları, ezilme, burkulma, karaciğer rahatsızlıkları, bel tutulmasına karşı ve de sinirleri, kalbi ve kan dolaşımını kuvvetlendirmek için kullanılır. Halk arasında mide ve bağırsak rahatsızlıklarından; şişkinlik, sancı, kramp ve hazımsızlığa karşı, sinirlik, baş ağrısı, migren, baş dönmesi, üşütmeye ve nezleye karşı kullanılır. Dahili olarak çayı, harici olarak merhemi kullanılır (Başer 2001).



Şekil 2.1. *Origanum majorana*



Şekil 2.2. *Origanum onites*

2.2. Yöntem

Tuz stresinin *O.onites* ve *O.majorana* meristem dokularının gelişmelerine etkileri incelenmiştir. Bunun için içerisinde % 0.01 gr/lt, % 0.02/ gr/lt ve % 0.03 gr/lt tuz (NaCl) bulunan 1 MS besi yerleri ve kontrol için de normal MS besi yeri kullanılmıştır. Büyüme düzenleyici olarak 0.1mg/lt Kinetin kullanılmıştır. Meristemlerin gelişimi dört hafta boyunca izlenmiş, kök ve yaprak uzunlukları ile yaşayan meristem sayıları düzenli olarak kaydedilmiştir.

Daha sonraki aşamada *O.majorana*'da klorofil ve karotenoid ölçümleri yapılmıştır. Bunun için normal MS, % 0.02 gr/lt ve 0.03 gr/lt tuz içeren besiyerlerindeki bitki yapraklarından 0.1 gr alınmış, tartılmış ve kıyılmıştır. Kıyılan örnekler havana alınmış asetonitril, etanol, safsu (72:8:3) ilave edilmiş ve tokmakla ezilerek ekstratı çıkarılmıştır. 645 ile 663 nm'de ayrı ayrı spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür. Sıfır ayarı %80'lik asetonitril ile yapılmıştır. Karotenoid tayini için de aynı örneklerde ayrıca 450 nm'de okuma yapılmıştır. (Strain ve Svec,1966).

Klorofil ekstraktının iki farklı dalga boyuna yapılan optik yoğunluk (OD) ölçümlerinden elde edilen değerlerin aşağıda verilen eşitliklerde yerlerine konmasıyla, bitki yaprak dokusunun 1 g'ında bulunan klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları mg. olarak hesaplanmıştır.

$$\text{mg klorofil a / g doku} = [12,7 (D663) - 2,69 (D645)] (V / 1000 W)$$

$$\text{mg klorofil b / g doku} = [22,9(D645) - 4,68 (D663)] (V / 1000 W)$$

Eşitliklerde : OD, klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki optik yoğunluğunu (absorbans değerini); V, %80'lik asetonitril son hacmini (10 ml); W, ekstre edilen dokunun g olarak yaş ağırlığını (0,1 g) göstermektedir.

Klorofil tayini için hazırlanmış ekstraktın 450 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri, aşağıdaki formülde yerine koymak suretiyle, yaprak yaş ağırlığının 0,1 gramındaki mg karotenoid miktarı saptanmıştır.

$$\text{Toplam karotenoid} = [4,07 \times D450 - (0,0435 \times \text{kla miktarı} + 0,367 \times \text{klb miktarı})]$$

2.2.1. Sterilizasyon

Çalışmalar sırasında sterilizasyona önem verilmiştir. Steril eldiven, steril maske, kullanılan pens, bisturi gibi aletler ve çalışacağımız alan steril kabin içindeki 2600 A° luk UV lambası ile steril edilmiştir. Kullanılan pens, bisturi, spatül gibi aletler her işlemten sonra % 96'luk alkole batırılıp bek ateşinde yakılarak steril edilmiştir.

2.2.2. MS besiyerinin hazırlanması ve sterilizasyonu

Bu meristem kültürü çalışmasında MS (Murashige ve Skoog) besi ortamı kullanılmıştır. Bitki doku kültürü çalışmalarında besi ortamında su, inorganik ve organik bileşikler bulunmaktadır.

Besi ortamının döküleceği temiz petri kapları 180 °C'deki kuru havalı fırında 3 saat süre ile steril edilmiştir. Ekim sırasında kullanılacak saf su cam balona konmuş, ağzı pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Aynı şekilde besi yerleri de pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılarak 120° de 1,5 atmosfer basınçta 1 saat 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.

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

Makro Elementler	mg/l	Mikro Elementler	mg/l	Organik Bileşikler	mg/l
NH ₄ NO ₃	1650	H ₃ BO ₃	6.2	Sukroz	30000
KNO ₃	1800	MnSO ₄ 4H ₂ O	22.3	Agar	10000
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	ZnSO ₄ 4H ₂ O	8.6	Glycine	2
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	KI	0.86	Inositol	100
KH ₂ 7PO ₄	170	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.25	Nikotinic Asit	0.5
Na ₂ Edta	37.5	CuSO ₄ 7H ₂ O	0.025	Pridoksin- HCl	0.5
FeSO ₄ 7H ₂ O	27.8	CoCl ₂ 6H ₂ O	0.025	Thiamin- HCl	0.1
				Kinetin	1
				NAA	0.5
				2,4-D	0.5
				IAA	0.5

2.2.3. Meristemlerin yüzey sterilizasyonu ve ekimi

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

Bu üç beherde ekimi yapılacak meristem dokuları önce çamaşır suyunda 2 dakika, %75'lik alkolde 2 dakika ve steril saf suda 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra meristem dokular alkollenip alevden geçirilmiş pens ve bisturi yardımıyla bek alevi yanında besi yeri bulunan petrilere ekilmiştir. Petriler parafilm ile sarılmış 25°C' ye ayarlı iklim kabinine konulmuştur. Fotoperiyot için toplam 80W'lık beyaz flüoresans lambalar ile aydınlanan iklim kabini kullanılmıştır. Aydınlık ve karanlık periyotlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması şeklinde yapılmıştır.

3. BULGULAR

Ekimi yapılan meristem dokuların kök ve yaprak uzunlukları ile canlı bitki sayıları her hafta ölçülmüştür. Deneyler sırasında kontaminasyonlar ve doku kararmaları görülmüştür. *In vitro* koşullardaki kararma, kimyasal olarak açıklanabilen ve çoğunlukla tanenler ve okside olan polifenoller nedeniyle ortaya çıkan bir olaydır. Kontamine olan petrilerdeki bitkiler hesaplara katılmamıştır.

3.1. *Origanum onites* ve *Origanum majorana*'da Tuz Stresi

Origanum onites ve *O. majorana* meristemleri farklı oranda tuz içeren besiyerlerine ekiminden bir hafta sonra yaprak gelişimi *O.onites*'te sabit görülmesine rağmen, *O. majorana*'da % 0.02 ve 0.03 gr NaCl içeren besiyerlerinde yaprak gelişimi aynı düzeyde gözlenmiştir (Çizelge 3.1 ve 3.4). Kök gelişiminde en iyi gelişim *O. onites*'te kontrol grubuna göre % 0.01 gr ve % 0.02 gr tuz içeren petrilerde gözlenirken *O.majorana*'da % 0.01 ve % 0.02 gr tuz içeren petrilerde gelişim daha iyi düzeydedir (Çizelge 3.2 ve 3.5).

İkinci haftada yaprak gelişimi *O.onites*'te % 0.02 gr tuz içeren petride artış görülmüştür. % 0.01 gr ve % 0.03 gr tuz içeren petrilerde gelişim görülmemiştir (Çizelge 3.1). *O. majorana*'da % 0.01 gr ve % 0.02 gr tuz içeren petrilerde artış görülmüştür. % 0.03 gr tuz içeren her iki bitkide de 2.haftada yaprak büyümesi görülmemiştir (Çizelge 3.4). Kök gelişimi *O.onites*'te % 0.03 gr tuz içeren petrilerde artış görülürken, *O.majorana*'da herhangi bir gelişim görülmemiştir (Çizelge 3.2 ve 3.5). *O.majorana*'da kontrol grubunda bir bitkide kararma görülmüştür (Çizelge 3.6). Kontrol grubunda *O. majorana*'da yaprak uzunluğu artarken *O.onites*'te yaprak ve kök uzunluğu sabit kalmıştır (Çizelge 3.1, 3.2 ve 3.4).

Üçüncü haftada *O.onites*'te % 0.01 gr ve % 0.02 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak uzunluğu artarken, *O.majorana*'da bir artış görülmemiştir (Çizelge 3.1 ve 3.4). Kök gelişimi *O.onites*'te ve *O.majorana*'da % 0.01 gr tuz içeren petrilerde artmıştır (Çizelge 3.2 ve 3.5). *O.onites*'te kontrol grubundan ve

% 0.02 gr, % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerindeki birer bitki kararmıştır (Çizelge 3.3). Kontrol grubunda hem *O.majorana*'da hem de *O.onites*'te yaprak ve kök uzunluklarında artış görülmüştür.

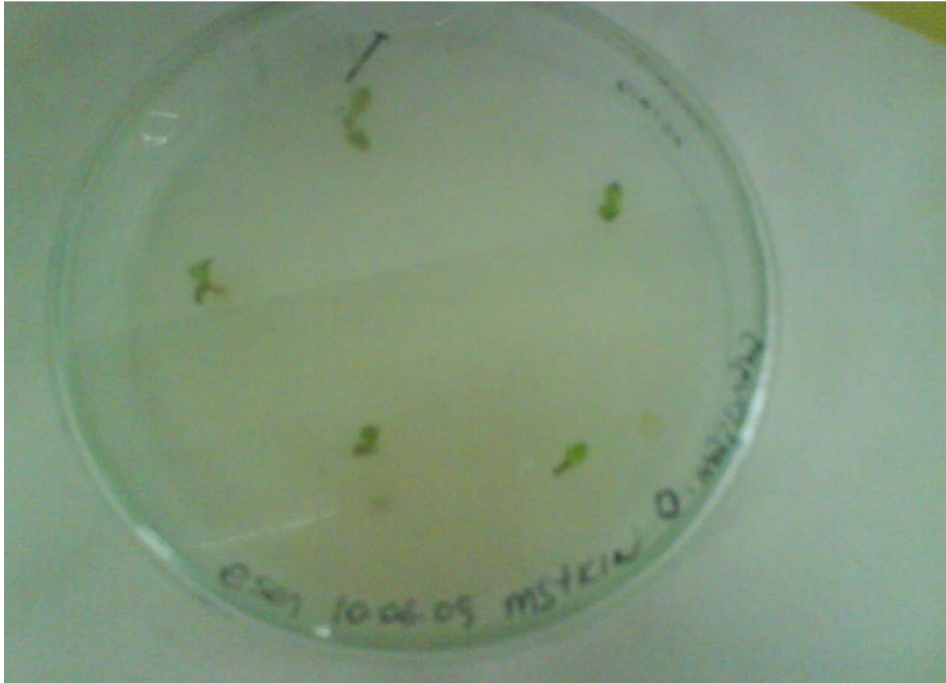
Dördüncü haftanın sonunda *O.onites*'te yaprak uzunlukları % 0.01 ve % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerinde artmıştır (Çizelge 3.1). *O.majorana*'da % 0.01 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak uzunlukları artmıştır (Çizelge 3.4). Kök uzunlukları *O.onites*'te son haftada % 0.02 gr tuz içeren besiyerinde artış görülürken, *O.majorana*'da % 0.02 gr tuz içeren besiyerinde artış görülmüştür (Çizelge 3.2 ve 3.5). Kontrol grubunda *O.onites*'te yaprak uzunluğu artarken, *O.majorana*'da hem yaprak hem de kök uzunluğu artışı görülmüştür (Çizelge 3.1, 3.4 ve 3.5).



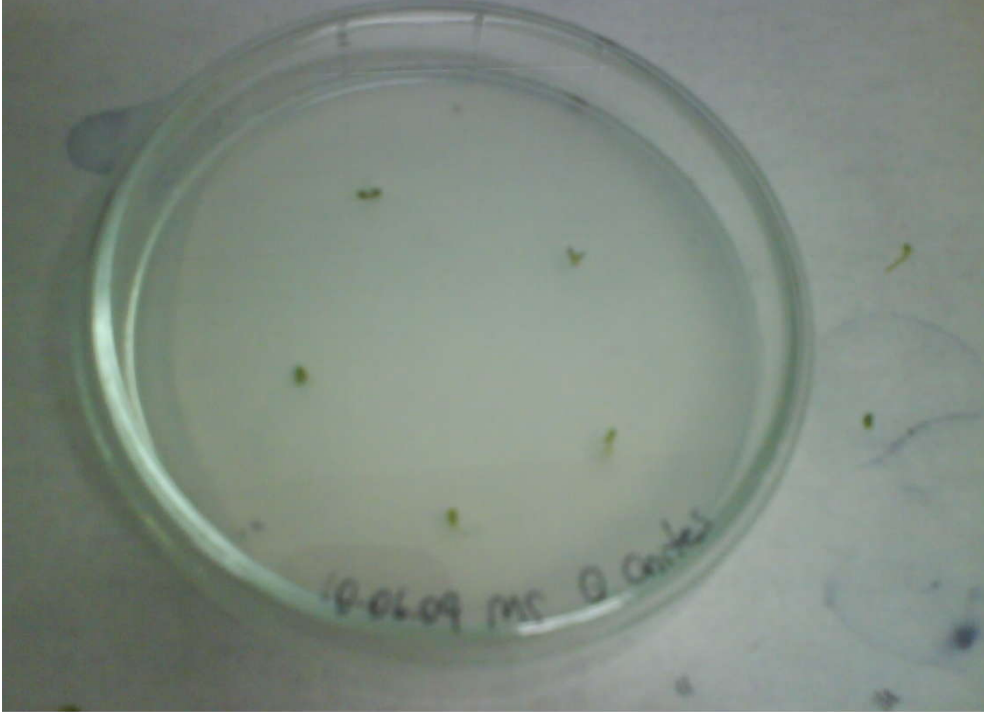
Şekil 3.1. MS besiyerine ekilen *O.majorana* eksplantları



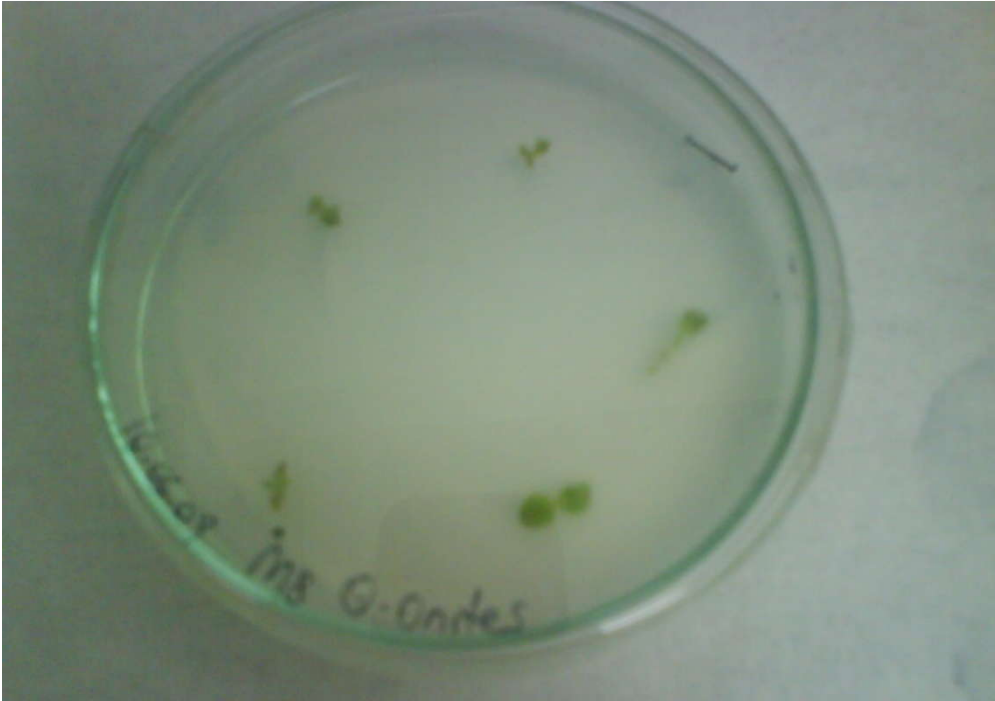
Şekil 3.2. MS besiyerine ekilen *O. majorana* eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri



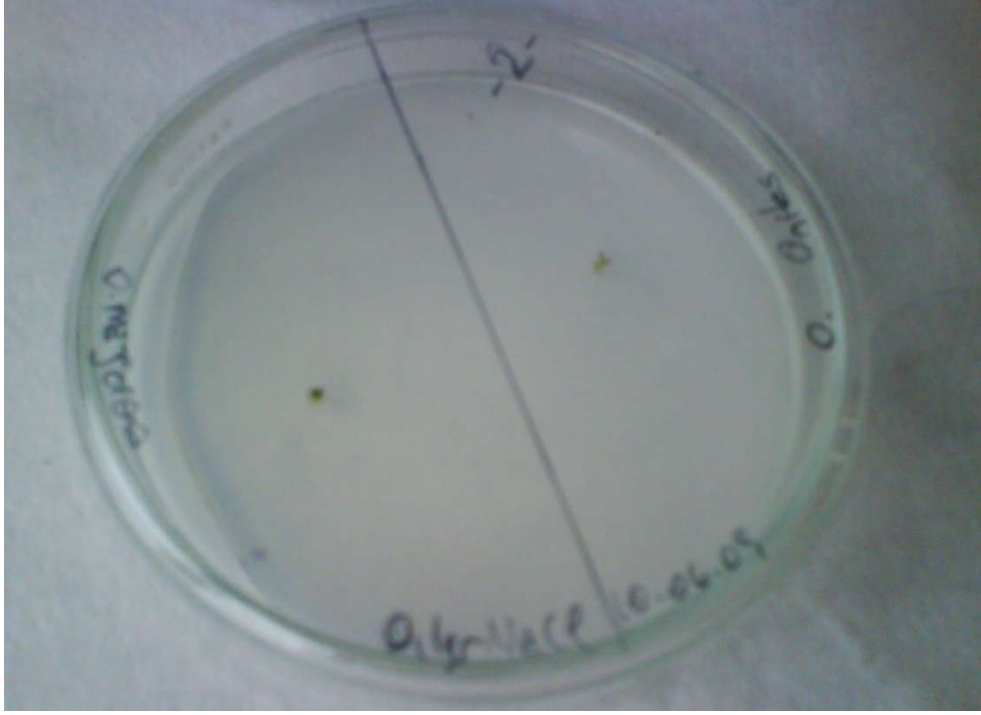
Şekil 3.3. MS besiyerine ekilen *O. majorana* eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri



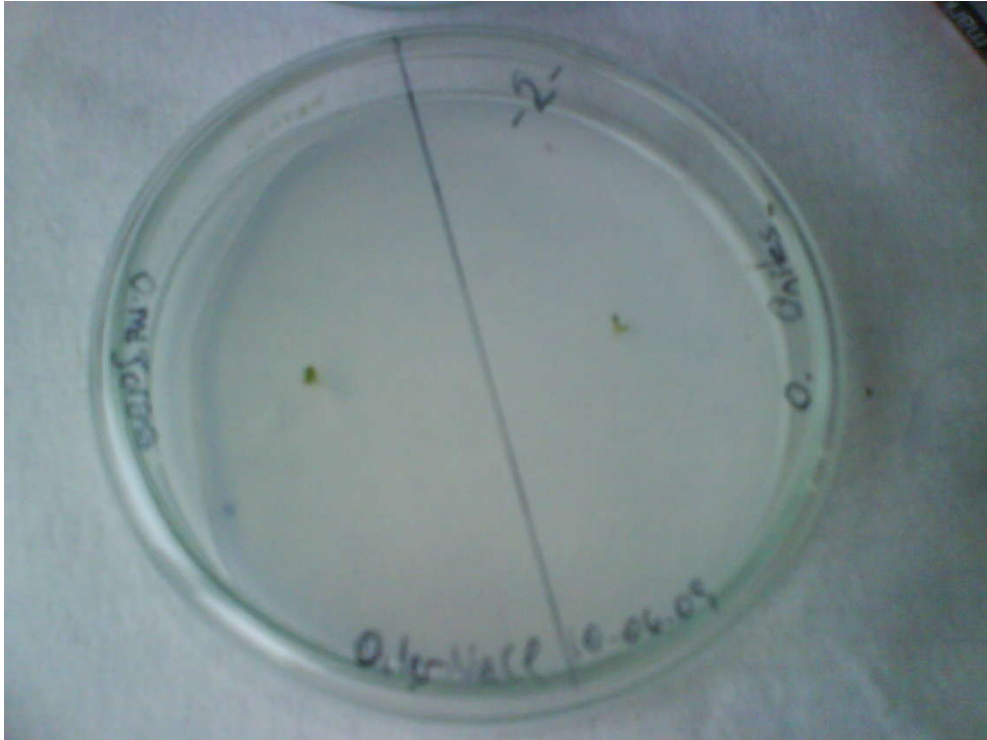
Şekil 3.4. MS besiyerine ekilen *O.onites* eksplantlarının 1 hafta sonraki görünümleri



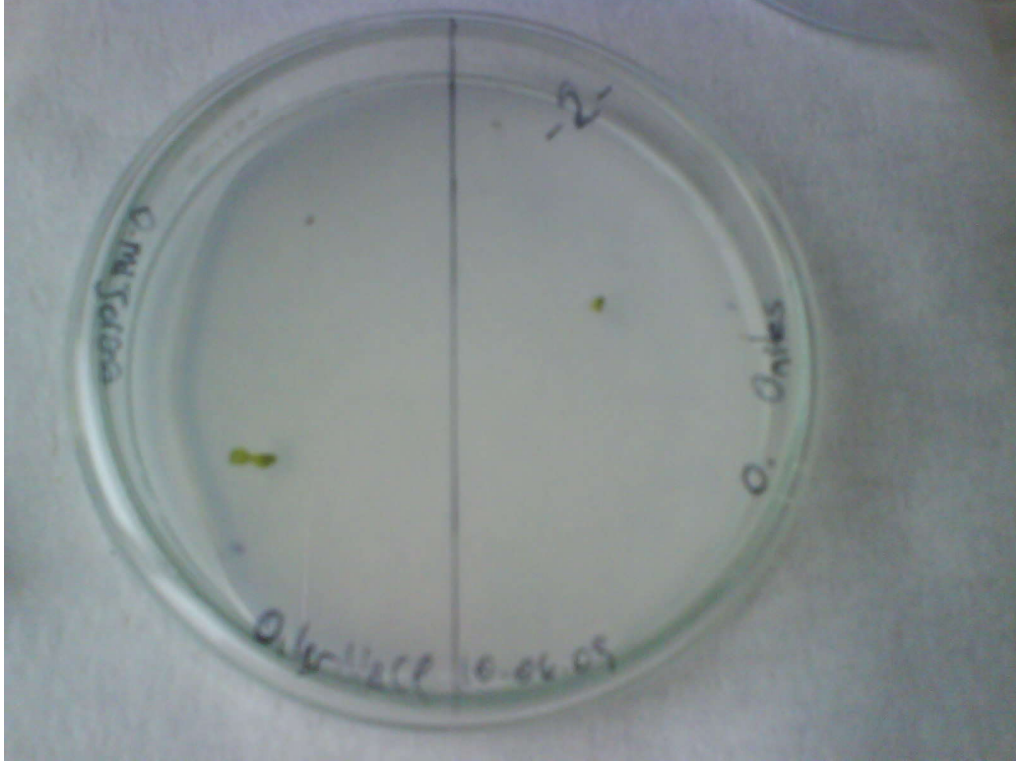
Şekil 3.5. MS besiyerine ekilen *O.onites* eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri



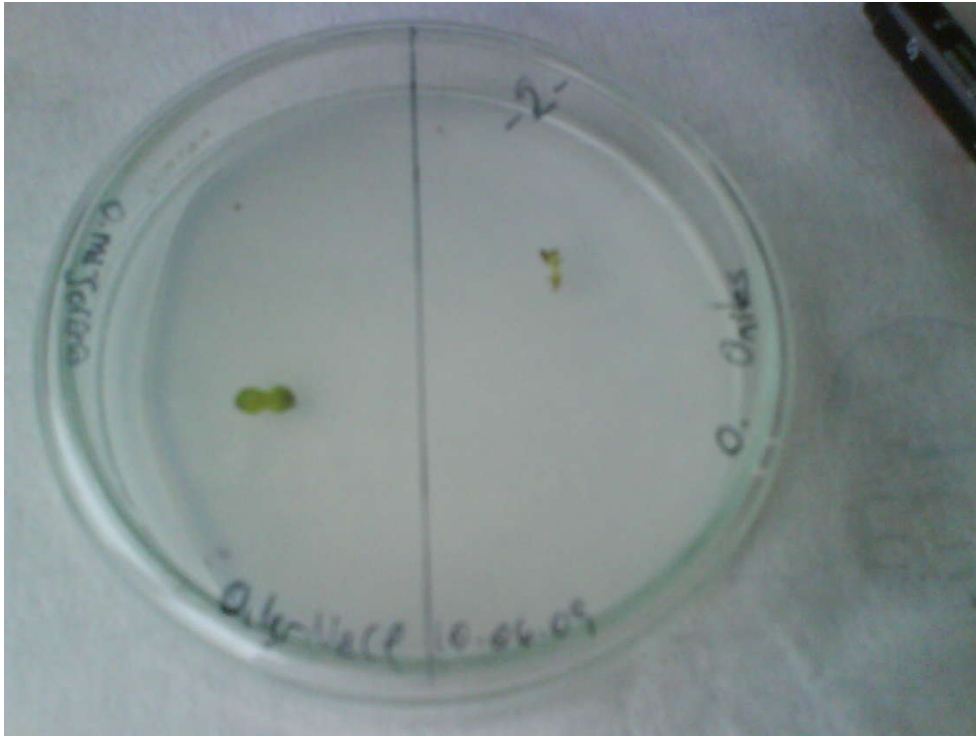
Şekil 3.6. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantları



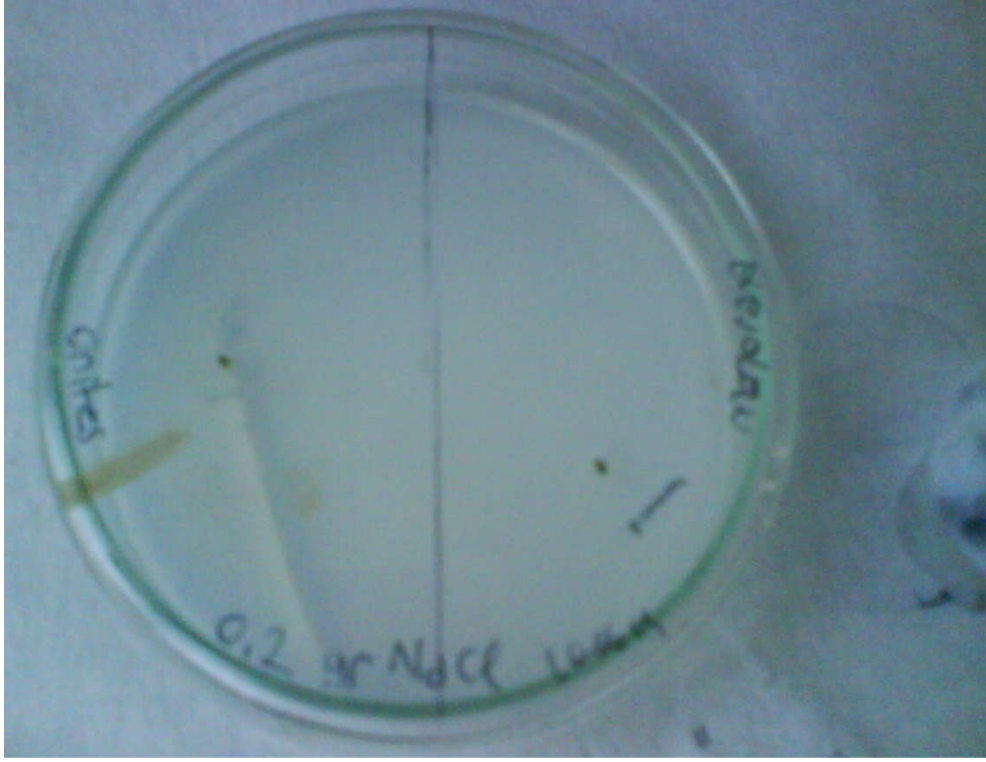
Şekil 3.7. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 2 hafta sonraki görünüşleri



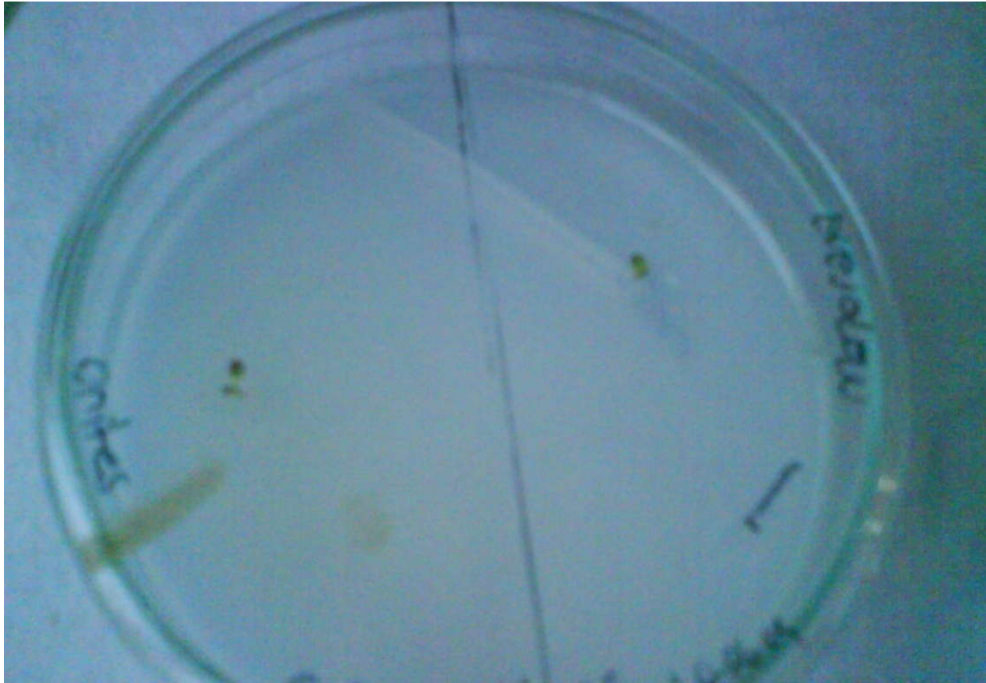
Şekil 3.8. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 3 hafta sonraki görünüşleri



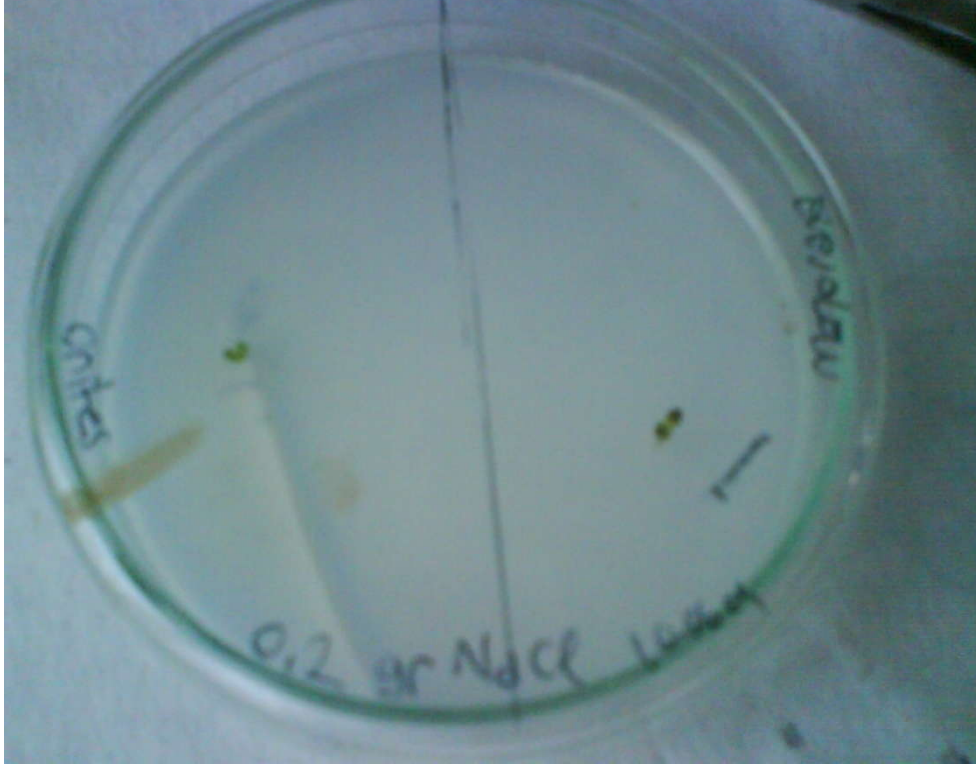
Şekil 3.9. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 4 hafta sonraki görünüşleri



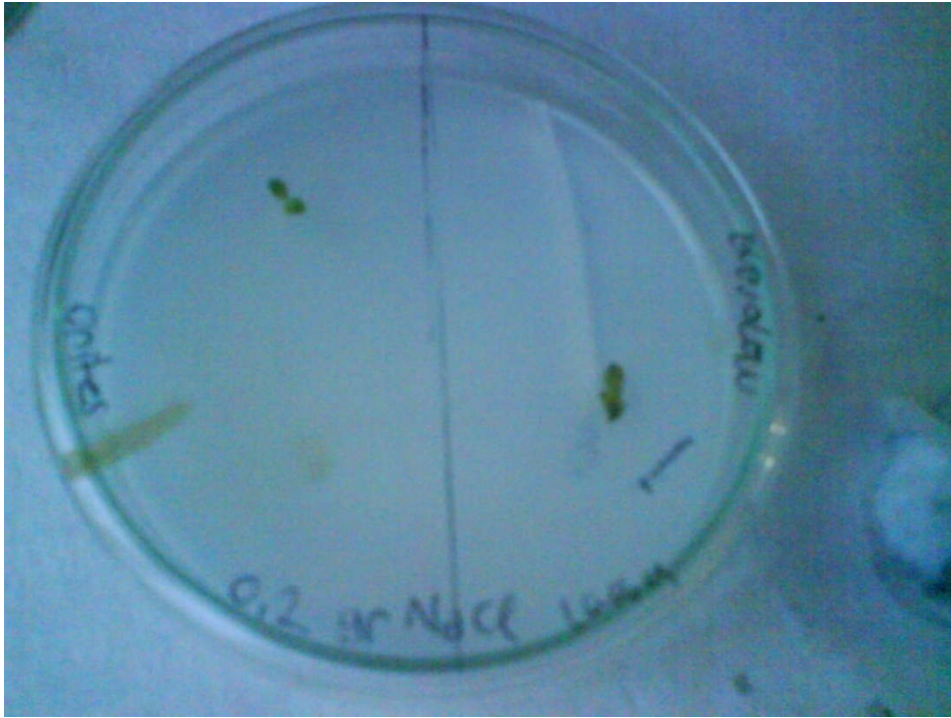
Şekil 3.10. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantları



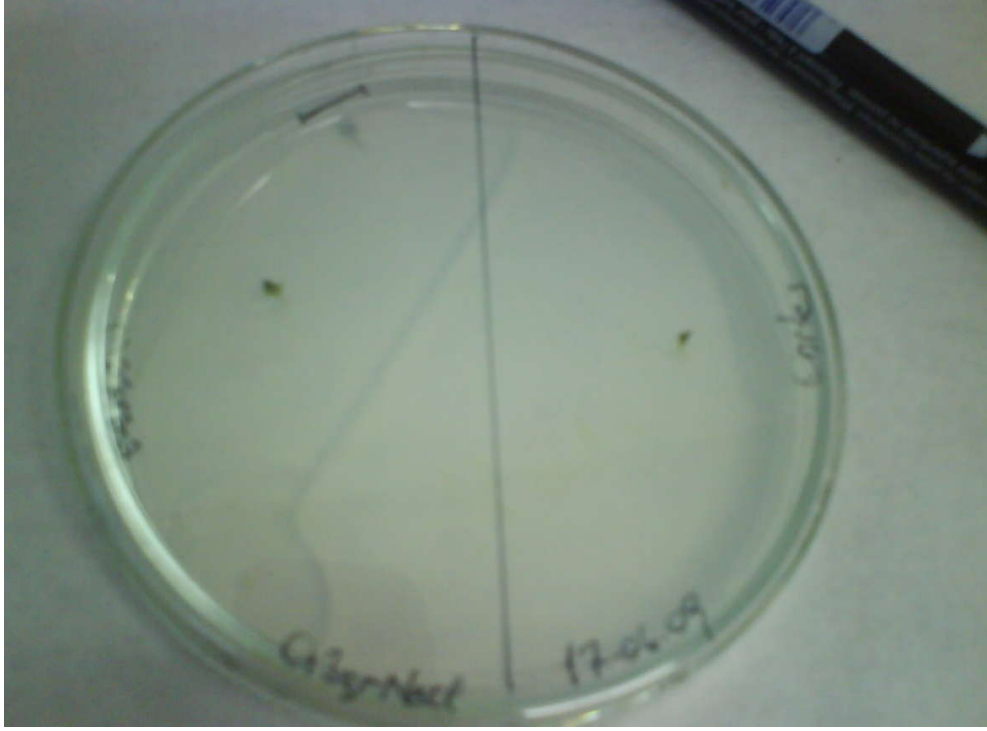
Şekil 3.11. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 2 hafta sonraki görünüşleri



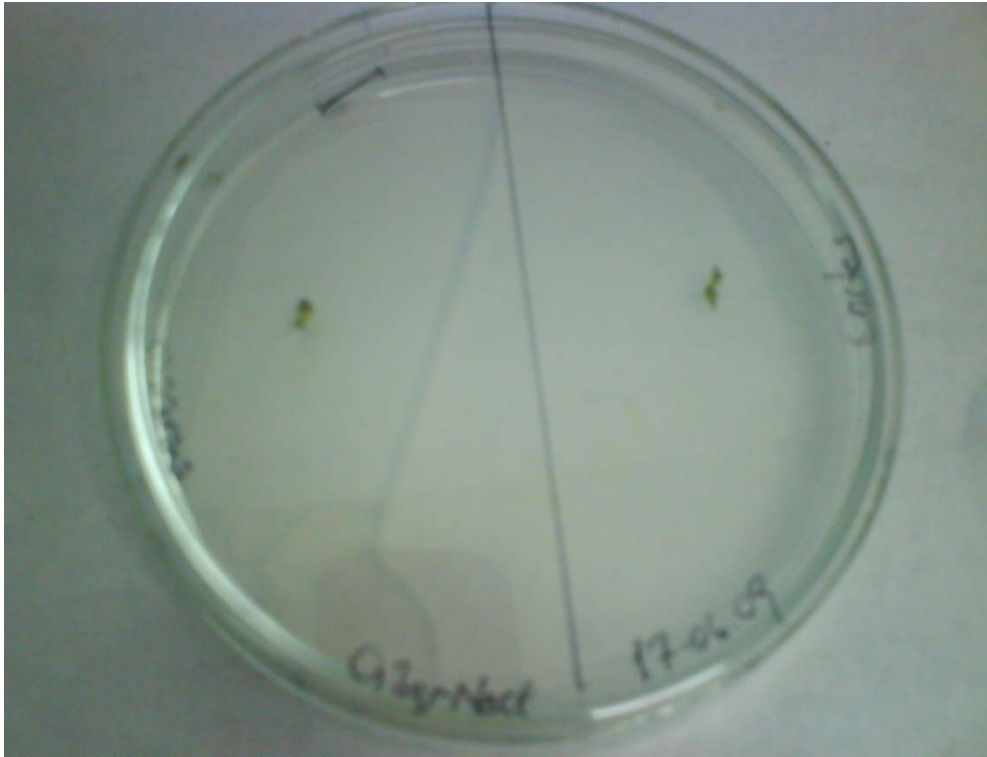
Şekil 3.12. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünüşleri



Şekil 3.13. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünüşleri



Şekil 3.14. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantları



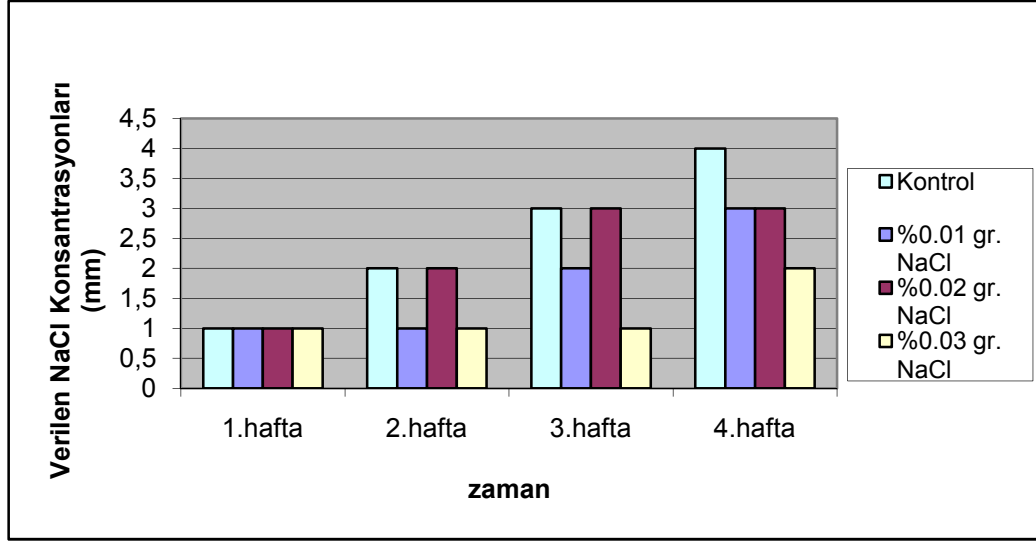
Şekil 3.15. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.16. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünümü

Çizelge 3.1. *Origanum onites*'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

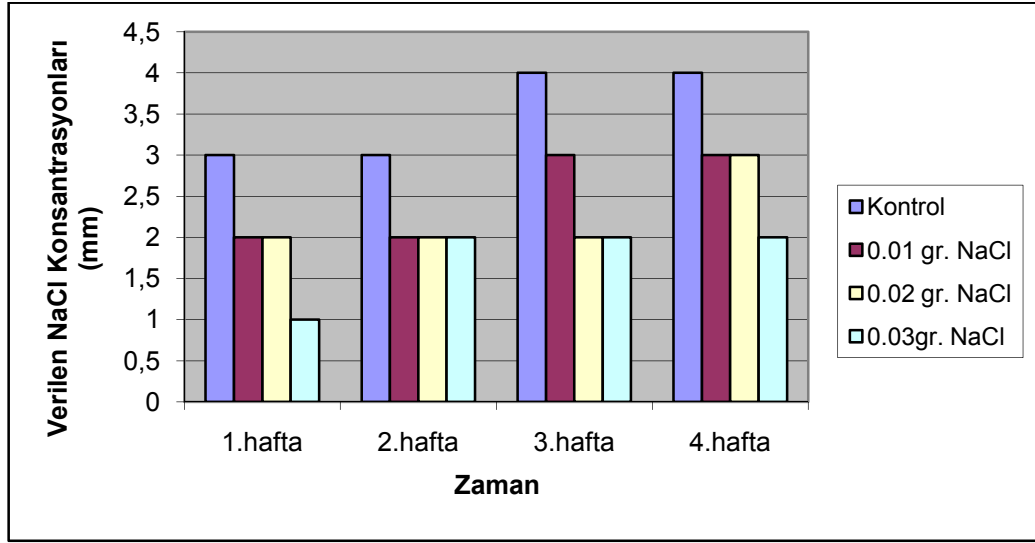
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	1	1	1	1
2.hafta	2	1	2	1
3.hafta	3	2	3	1
4.hafta	4	3	3	2



Şekil 3.17. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

Çizelge 3.2. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları (mm)

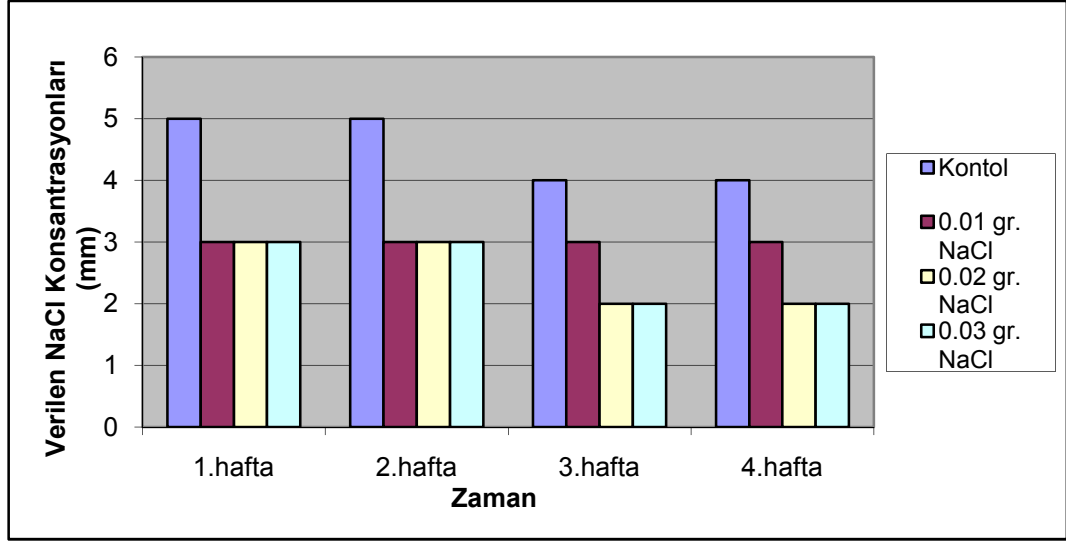
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	3	2	2	1
2.hafta	3	2	2	2
3.hafta	4	3	2	2
4.hafta	4	3	3	2



Şekil 3.18. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları (mm)

Çizelge 3.3. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

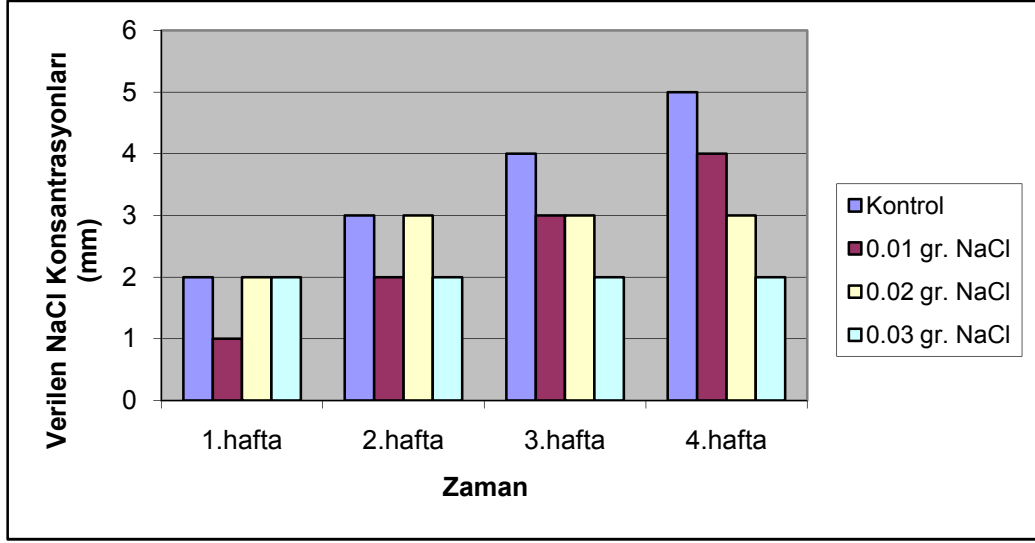
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	5	3	3	3
2.hafta	5	3	3	3
3.hafta	4	3	2	2
4.hafta	4	3	2	2



Şekil 3.19. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

Çizelge 3.4. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

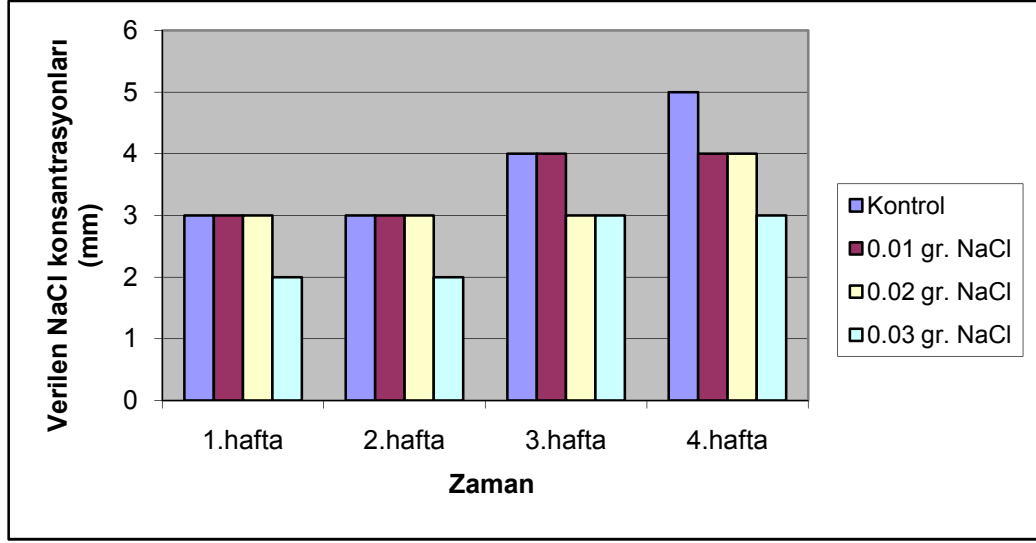
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	2	1	2	2
2.hafta	3	2	3	2
3.hafta	4	3	3	2
4.hafta	5	4	3	2



Şekil 3.20. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

Çizelge 3.5. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı kök uzunlukları (mm)

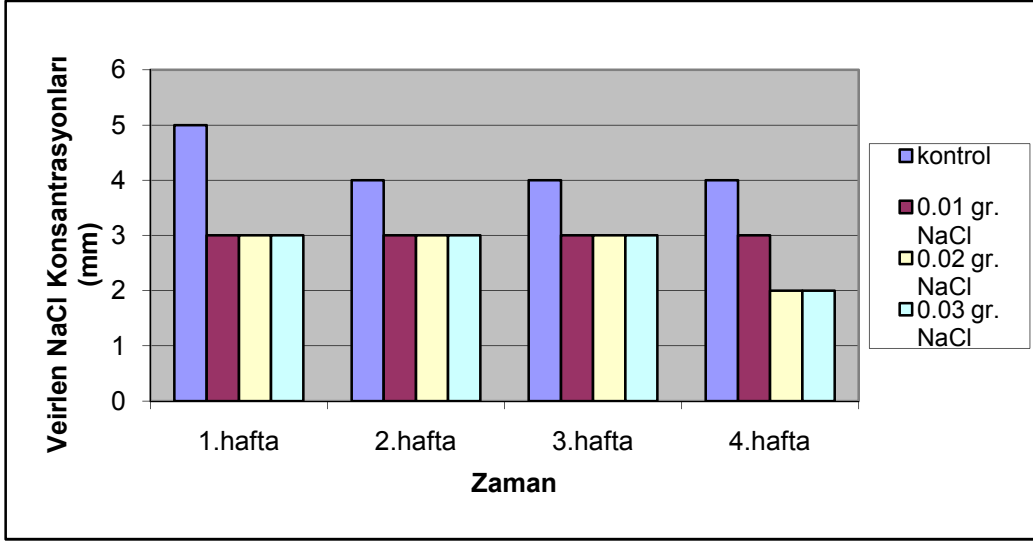
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	3	3	3	2
2.hafta	3	3	3	2
3.hafta	4	4	3	3
4.hafta	5	4	4	3



Şekil 3.21. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları (mm)

Çizelge 3.6. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	5	3	3	3
2.hafta	4	3	3	3
3.hafta	4	3	3	3
4.hafta	4	3	2	2



Şekil 3.22. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

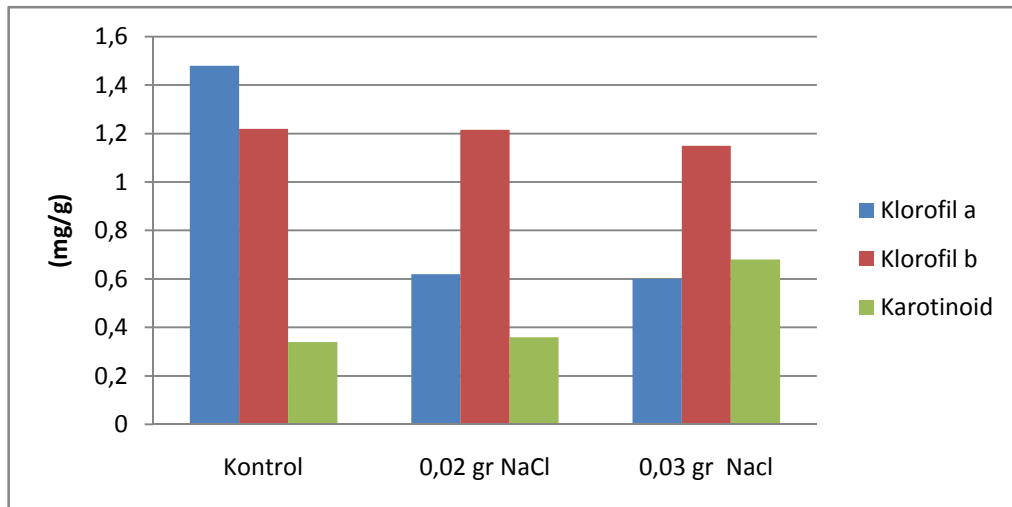
3.2 *Origanum majorana*'da Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotinoid Ölçümü

Klorofil içeriği, tuz stresi altındaki bitkilerde olumsuz etkilenmektedir. *O.majorana*'da yapılan hesaplamalar sonucunda Klorofil-a ve Klorofil-b tuz konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Klorofil-a'da, kontrol bitkilerine oranla tuz içeren besiyerlerinde bariz azalma görülmüştür. Klorofil-b'de fark çok fazla görülmemiştir. Karotinoid miktarında ise en fazla artış % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde görülmüştür (Çizelge 3.7).

Tuz stresi altında genel metabolik faaliyetlerin aksaması, başta Ca ve K olmak üzere N, P ve Mg gibi makro besin elementlerinin alınımında kısıtlanma gibi faktörler klorofil aktivasyonunu olumsuz etkiler. Bu çalışmada da NaCl uygulamasıyla beraber klorofil miktarında azalma, karotinoid miktarında artma görülmüştür (Şekil 3.23).

Çizelge3.7. *O.majorana* 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları

	Kontrol	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
Klorofil-a	1,48	0,62	0,6
Klorofil-b	1,22	1,21	1,15
Karotinoid	0,34	0,36	0,68



Şekil.3.23. *O.majorana* 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı tuz konsantrasyonlarının *O.onites* ve *O.majorana* üzerinde oluşturduğu stres incelenmiştir. Bu amaçla farklı oranlarda NaCl içeren MS besiyerlerinde *O.onites* ve *O.majorana* ekplantlarının gelişimi dört hafta süre ile izlenmiştir.

O.onites'te kontrol grubuna göre, % 0.02 gr tuz içeren konsantrasyonda daha hızlı yaprak büyümesi gözlenirken % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde yavaş ve zor bir yaprak büyümesi görülmüştür (Şekil 3.13 ve 3.16). Aynı şekilde kök uzunluğuda % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde düşük ve zor bir büyüme incelenmiştir. En iyi kök uzunluğu kontrol grubunda görülürken, % 0.01 gr tuz içeren besiyerinde de kök büyümesi rahat gözlenmiştir. (Çizelge 3.2). Artan NaCl konsantrasyonu *O.onites*'te gelişimi azaltmıştır.

O.majorana'da yaprak uzunluğu en fazla kontrol grubunda görülmüştür. % 0.01 ve % 0.02 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak büyümesi görülürken % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde yaprak büyümesi durmuştur (Şekil 3.16). Kök uzunluğu ise % 0.01 ve % 0.02 gr tuz içeren besiyerlerinde daha fazla gelişmiştir (Çizelge 3.5).

Canlı bitki sayılarına baktığımızda tuz konsantrasyonlarındaki artış çok fazla strese neden olmadığı görülmüştür. % 0.01 gr tuz içeren besiyerindeki bitkilerin tamamı hayatta kalırken, % 0.02 ve % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerinde ve kontrol grubundan her birinde birer tane bitkilerin karardığı görülmüştür (Çizelge 3.3 ve 3.6).

Bu sonuçlara genel olarak bakıldığında tuz konsantrasyonundaki artışa paralel olarak tuzun neden olduğu stres bitkide ölüme neden olmamıştır. Ancak tuz konsantrasyonu artıkça bitki büyümesi daha yavaşlamış ve zorlaşmıştır.

Tuz stresine maruz kalan bitkilerde genel olarak karşılaşılan farklılıklar:

- Kök, gövde ve sürgün uzunluğunda azalma;
- Bitki yaş ve kuru ağırlıklarında azalma;
- Yaprak alanı ve sayılarında azalma;
- Klorofil miktarında azalma;
- Verimde, meyve tat ve renklerinde bozulmadır.

Yaşar (2003) toplam 38 adet patlıcan genotipinde yaptığı çalışmada 150 mM NaCl uygulaması ile oluşturulan tuz stresi karşısında, tuzluluğa karşı genotiplerin büyük ölçüde varyasyon gösterdiğini, tuzlu koşullarda gövde ağırlıkları ve boyundaki azalmaların, kök ağırlığı ve bitki boyundaki azalmalardan daha fazla olduğu gözlenmiş; bu durumda tuz stresinin patlıcanda yeşil aksam üzerinde köklere göre daha fazla olumsuz etkide bulunduğunu görmüştür.

Tuz konsantrasyonu arttıkça *O.onites* ve *O.majorana*'da özellikle yaprak gelişimi % 0.03 gr'lık tuz içeren besiyerinde neredeyse durmuştur. Tuzluluğa en fazla duyarlılık gösteren organların yapraklar olduğunu bildiren Munns ve Termaat (1986)'ın açıklamalarından sonraki yıllarda yapılan başka çalışmalar sonucunda mısırdaki (Cramer ve ark., 1988) ve domateste (Snapp ve Shennan, 1992) kök büyümesi ve gelişmesinin de tuzluluktan benzer biçimde etkilendiğini ortaya konmuştur. Benzer şekilde *O.onites* ve *O.majoranada*'da kök gelişiminin tuz konsantrasyonu arttıkça yavaşladığı hatta % 0.03 gr'lık besiyerlerinde her iki bitki içinde bir süre sonra durduğu görülmüştür.

Zhu ve Boyer'e (1992) göre yüksek tuzluluktan kaynaklanan büyüme azalması turgor kaybından değil, enerji metabolizmasındaki ve hücre çeper polimerlerinin sentezindeki azalmadan kaynaklanmaktadır. Kaiser ve ark.'na (1983) göre tuzlu ortamda yetişen ıspanak bitkilerinde büyüme azalması fotosentezin inhibisyonundan çok stoma direncinin artışına bağlanmaktadır.

Aynı araştırmacılar, büyüme azalmasının besin ve su alımının azalmasından kaynaklanabileceğini de bildirmişlerdir. Wang ve ark. (1997) tuzluluğun zararlı etkilerinin su stresi, iyon toksisitesi ve iyon dengesizliği (K⁺ alımında inhibisyon) ya da bu faktörlerin bir kombinasyonuna bağlamışlardır.

Ayrıca Wang ve ark. , (1997) fotosentez oranlarındaki azalmanın stoma iletkenliğinin azalması ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Ortamda düşük bulunan tuz konsantrasyonlarındaki bitkilerde gelişim daha rahat gözlenmiştir. Özellikle % 0.01 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak başta olmak üzere köklerde de gelişim görülmüştür. Düşük tuz konsantrasyonunda görülen yaprak ve kök gelişimi *O.onites* ve *O.majorana*'nın düşük tuz stresine toleranslı olduğunu bize göstermektedir. Tuzlu koşullar altında tolerant türler, hassas türlere göre hem iyon alımını hemde bitki içinde bu iyonların dağılımını daha iyi düzenleyebilmektedirler. Genel olarak kabul edilen görüş, kök bölgesinde aşırı Na varlığında, bir çeşidin K alımını sürdürebilme ve K seviyesini koruyabilme yeteneği tuza toleransta önemli bir kriterdir (Yaşar, 2003). Tuza tolerans konusunda yapılan bir çok çalışmada, iyon birikimi açısından tolerant olan çeşitlerde Na birikiminin hassas çeşitlere göre daha az olduğu bildirilmektedir.

Tuz stres faktörünün bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak maksadıyla sıkça başvurulan yollardan biri organizmadaki klorofil içeriğini belirlemektir. Klorofil miktarı, yüksek tuz konsantrasyonlarında kontrole göre azalmaktadır (Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; Sivritepe, 1995). Tuz stresi, bitkinin ölümüne neden olabildiği gibi tolerans durumuna bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroplastların tahrip olması nedeniyle kloroz ve nekrotik lekelerin oluşumuna yol açabilmektedir (Hasegawa ve ark., 1986). Kavun ve acur genotiplerinde de tuz uygulaması, büyük bir çoğunlukla klorofil miktarında azalmaya neden olmuştur. Klorofildeki azalma, kavun yapraklarının sararması ile kendini göstermiş olup bunun hemen ardından kurumalar meydana gelmiştir.

Yüksek tuz konsantrasyonlarında; iyon birikimi stomaların açılıp kapanmasındaki düzensizlikler nedeniyle toplam klorofil miktarında azalmalar

olmakta bunun sonucu olarak fotosentez etkinliğinin azalarak bitkinin gelişiminde gerilemeler ortaya çıkmaktadır.

Bu bilgiler ışığında *O.majorana* 'da yapılan klorofil tayininde tuz konsantrasyonu arttıa klorofil-a ve klorofil-b'de kontrol grubuna göre düşüş görülmüştür. Karotenoid miktarı ise en yüksek % 0.03 gr'lık tuz stresindeki bitkide görülmüştür.

Vicia faba'da L. yapraklardaki klorofil-a ve klorofil-b içeriği deniz suyu ile sulama yapıldığı süre boyunca azalma göstermiştir. Diğer taraftan karotenoid içeriği düşük ve orta miktarda deniz suyu sulamasında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış görülmüştür (Mohamed & Mohamed, 2009).

Tüm bu bulgulara göre düşük miktarda tuzun *O.onites* ve *O.majorana*'nın gelişimini engellemediği görülmüştür. Artan tuz miktarına bağlı olarak gelişim yavaşlamıştır.

KAYNAKLAR

Aktas, H. (2002) *Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı*. Ç.Ü Fen Bilimleri Enst. (doktora tezi), Adana, 105 s.

Al-Karaki, G.N. 2000. Growth, Water Use efficiency and Sodium and Potassium acquisition by Tomato Cultivars grown Under Salt Stress. *J. of Plant Nutrition* 23 (1): 1-8.

Anonim (2007), <http://www.dogalTEDAVI.net>

Anonim (2008),

http://www.genbilim.com/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=3132.

Başer, K.H.C. (2001) *Her Derde Deva Bir Bitki Kekik*, Bilim ve Teknik, Mayıs, 74-77.

Başer, K.H.C. (1995) *Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey*. Proceedings of the 13 th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, İstanbul, Turkey, 15-19 October 1995, 67-79.

Bohra, J.S., Döfling , K., (1993) *Potassium Nutrition of Rice (Oryza sativa L.) Varieties Under NaCl Salinity*. Plant and Soil 152: 299-303.

Çevik, B., (1986) *Toprak Su Koruma Mühendisliği*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 108, Adana.

Çiçek, N. ve Çakırlar, H., (2002) *The Effect of Salinity on Some Physiol. Parameters in two Maize Cult.* Bulg. J.Plant Physiol.,28(1-2),66-74.

Chow, W.S., Ball, M.C., Anderson, J.M. (1996) *Grow and Photosynthetic Response of Spinach to Salinity: Implications of K Nutrition for Salt Tolerance*. Aust. J. Plant Physiol., 17: 563-578.

Cramer. G.H., Epstein, E., Lauchli, A. (1988) *Kinetics of Root Elongation of Maize in Response to Short-Term Exposure to NaCl and Elevated Calcium Concentrasyo* J.Exp. Bot. 39: 1513-1522.

Dasgon, H.Y., Aktas, H., Abak, K., Çakmak, L., 2002. Determination of Screening Techniques to Salinity Tolerance in Tomatoes and Investigation of Genotype Responses. *Plant Science* 163 (2002) 695-703.

Demir, K. (1992) *Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Bes Degisik Fasulye Çesidinde Çimlenme, Çıkıs ve Fide Gelisimi Üzerine Etkileri* GAP 1. Sebze Tarımı Sempozyumu, Şanlı Urfa, 335-342.

Elliatioğlu, Ş. (2000) *Doku kültürü uygulamalarında kararmayı engelleme yöntemleri*, Biyoteknoloji Dergisi, 24, 38-39.

Elliatioğlu, S., Tıprıdamaz, R., (1998) *Doku Kültürünün Tuz Stresine Dayanıklılıkta Kullanımı* Bitkilerde stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu, 22-26 Haziran 1998, Bornova-zmir, s: 70-81.

Franco, J.A., Estaban, C., Rodriguez, C., 1993. Effect of Salinity on Various Growth Stages of Muskmelon cv. Revigal. *J. Hort., Sci.* 68:899-904.

Greenway, H., Munns, R., 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhallophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31:149-190.

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, A.V. (1986) *Cellular mechanisms of salinity tolerance* Hort. Sci., 21:1317-1324.

Heimler, D., Tatini, M., Tici, S., Coradeshi, M.A., Traversi, M.L. (1995) *Growth, Ion Accumulation and Lipid Composition of Two Olive Genotypes Under Salinity* J. Plant Nutrition, 18: 1723-1734.

Karanlık, S. (2001) *Değişik Bugday Genotiplerinde Tuz Stresine Dayanıklılık ve Dayanıklılığın Fizyolojik Nedenlerinin Araştırılması* (doktora tezi). Ç.Ü.Fen Bil. Enst., Adana.

Kaya, C., Kırmak, H., Higgs, D., Saltalı, K., 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. *Sci. Horti.* 93, 65-74

Kocaçalışkan, İ. (2002) *Bitki Fizyolojisi*, 2.Baskı, Kütahya

Levitt, J. (1980) *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Vol. II, 2 ed. Academic Press, New York, pp:607.

Lopez, M.V., Satti, S.M.E. (1996) *Calcium and Potassium –Enhanced Growth and Yield of Tomato Under Sodium Chloride Stress* Plant Sci., 114: 19-27.

Mer, R.K., Prajith., P.K., Pandya, D.H., Pndey, A.N. (2000) *Effect of Salt on germination of seeds and Growth Young Plants of Hordeum vulgare, Triticum aestivum, Cicer arietinum and Brassica juncea* J. Gron. Crop. Sci. 185:209-217.

Mohamed, M. A. Ve Mohamed A. A. (2009) *The inductive role of Vitamin C and its Mode of Application on rowth, Water Status, Antioxidant Enzyme Activities and Protein Patterns of Vicia faba L. Cv. Hassawi Grown under Seawater Irrigation* American Journal of Plant Physiology, 4(1) 38-51.

Munns, R., Termaat, A. (1986) *Whole-Plant Responses to Salinity* Aust. J. Plant Physiol., 13: 143-160.

Nelson, H., Paris, H.S. (1984) *Effects of Salinity on Germination, Seedling Growth and Yield of Melons* Irrigation Science-5:265-273.

Nui, X., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., Pardo, J.M. (1995) *Ion Homeostasis in NaCl Stress Environments* Plant Physiol. 109: 479-486.

Olivier, W.G. (1997) *The World Market of Oregano*, In: Padulosi, S (Ed)., *Oregano Proceedings of the IPGRI International Workshop*, IPGRI, Rome, s 144.

Oflaz, S. (2001) *Ticari Origanum Türlerinin Farmakognozik Araştırması* Anadolu Ünivrsitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi).

Önder N. ve Yentür, S (1999) *Bitkilerin Büyüme Gelişme Farklılaşma ve Hareket Fizyolojisi* İ.Ü. Yayınları, İstanbul.

Reddy MP ve Vora AB. (1986) *Changes in pigment composition, Hill Reaction activity and saccharides metabolism in bajra (Pennisetum typhoides S&H) leaves under NaCl salinity* Photosynthica 20:50-55.

Santos, C. (2004) *Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stres in sunflower leaves* Scientia Horticulturae 103:93-99.

Scardaci, S.C., Eke, A.U., Hill, J.E., Shannon, M.C. and Rhoades, J.D., 2002. *Water and Soil Salinity Studies on California Rice*. U.S. Salinity Lab., USDA, 450w. CA, 92507, California

Sivritepe, N. (1995) *Asmalarda Tuza Dyanıklılık Testleri ve Tuza Dayanımda Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Arastirmalar* Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, (Doktora Tezi), Bursa, 176s.

Snapp, S.S., Shennan, C. (1992) *Effects of Salinity of Root and Deth Dynamics of Tomato, Lycopersicum esculantum Mill*, New Phytol. 121: 71-79.

Sönmez, B. (1990) *Tuzlu ve Sodyumlu Topraklar*. TOKB Köy Hizmetleri Sanlı Urfa Arastırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 62:60 s.

Strain, H.H. ve Svec, W.A. (1966) *Extraction, Separation, Estimation and Isolation of Chlorophylls. In The Chlorophylls*, Vernon, L.P. ; Seely, G.R. Acad. Press, N.Y. 21-66.

Tıprıdamaz, R., Ellialtıoglu, S. 1994. *Domates Genotiplerinde Tuza Dayanıklılığın Belirlenmesinde Değişik Tekniklerin Kullanımı*. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, Yayın No: 1358, Bilimsel Ar. Ve İnc.: 752, 21s.

Yasar, F. (2003) *Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin in vitro ve in vivo Olarak incelenmesi* (Doktora Tezi) Y.Y.Ü. Fen Bil. Enst., Van.

Zhu L., J.S. Boyer (1992), *Plant Physiol.* 100: 2071–2080.

W. M. Kaiser, H. Weber, M. Sauer, Z. (1983) *Pflanzenphysiol. Bd.* 113, 15.

Yu, B., Gong, H., Liu, Y. (1978) *Effects of Calcium on Lipit Composition and Function of Plasma Membrane and Tonoplast Vesicles Isolated from Roots of Barley Seedlings Under Salt Stres* J. Plant Nutr. 21:1589-1600.

Yurtseven, E., 2000. Patlıcanda (*Solunum melongena L.*) Su Tüketimine Tuzluluğun Etkisi. Toprak Su Dergisi, Sayı: 2, Ankara.

ORIGANUM ONİTES VE ORİGANUM MAJORANA
BİTKİLERİ İLE MERİSTEM KÜLTÜRÜ
KULLANILARAK STRES FİZYOLOJİSİ ÇALIŞMASI

Esen DÜZER

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak-2010

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ORIGANUM ONİTES VE ORIGANUM MAJORANA

**BİTKİLERİ İLE MERİSTEM KÜLTÜRÜ KULLANILARAK STRES
FİZYOLOJİSİ ÇALIŞMASI**

Esen DÜZER

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ

2010, 45 sayfa

Bu yüksek lisans çalışmamızda farklı konsantrasyonlardaki NaCl'ün *O.onites* ve *O.majorana*'nın gelişimi üzerinde oluşturduğu stres meristem kültürü tekniği kullanılarak incelenmiştir. % 0.01, % 0.02, % 0.03 gr konsantrasyonlarındaki NaCl' ün bitkiler üzerinde gelişimi yavaşlattığı saptanmıştır. % 0.01 gr NaCl içeren besiyerlerinde kök ve yaprak uzunlukları artarken *O.onites* ve *O.majorana*'nın tuz stresine karşı toleranslı olduğu ve ortamda bulunan değişik konsantrasyonlardaki tuzun bitkilerin gelişimini yavaşlattığı fakat tamamen durdurmadığı bulunmuştur. *O.majorana*'da normal MS, % 0.02 ve % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerinde klorofil ve karotenoid miktarları tayin edilmiştir. Tuz içeriği arttıkça klorofil-a ve klorofil-b miktarlarında azalma, karotenoid miktarında artış görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Origanum onites*, *Origanum majorana*, Tuz Stresi, Meristem Kültürü, Stres Fizyolojisi

ABSTRACT

Master Thesis

STRESS PHYSIOLOGY STUDY OF *ORIGANUM ONİTES* AND *ORIGANUM MAJORANA* PLANT WITH USE MERISTEM CULTURE

Esen DÜZER

Anadolu University

Science Institute

Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Banu Aytül EKMEKÇİ

2010, 45 pages

In this study, stress effects of NaCl in different concentrations on the development of *O.onites* and *O.majorana* by using meristem culture. It was determined that 0.01 %, 0.02 %, 0.03 % g concentrations of NaCl decrease the development of the plants. Other hand, on the 0.01 % g NaCl concentration, length of root and leaves increased. It was determined that, *O.onites* ve *O.majorana* could tolerate NaCl, and different concentrations of NaCl decrease the development of the plants, but not completely abort. Chlorophyll and carotenoid concentrations were determined in the *O. majorana*, which cultured in normal MS, 0.02 % and 0.03 % g salt containing culture mediums. As the amount of salt increases, a reduction in the amount of chloropyll-a and chloropyll-b and an increase in the amount of carotenoids has been observed.

Keywords: *Origanum onites*, *Origanum majorana*, Salt Stress, Meristem 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, Uzm. Dr. Ferhat ALTUNSOY' ya ve bana her zaman destek olan aileme arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Esen DÜZER

Ocak, 2010

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.2. Meristemin Yapısı	3
1.3. Kararma	5
1.4. Stres Fizyolojisi	5
1.4.1. Stresin Tanımı	5
1.4.2. Stresin dereceleri	7
1.4.3. Stresle İlgili Kavramlar	7
1.4.4. Tuz Stresi	8
1.4.5. Tuz stresine bağlı klorofil azalması	
1.4.6. Tuz stresine tolerans metabolizması	13
2. MATERYAL VE YÖNTEM	14
2.1. Materyal	14
2.2. Yöntem	16
2.2.1. Sterilizasyon	17
2.2.2. MS besiyerinin hazırlanması ve sterilizasyonu	17
2.2.3. Meristemlerin yüzey sterilizasyonu ve ekimi	19

3. BULGULAR	20
3.1. <i>Origanum onites</i> ve <i>Origanum majorana</i> 'da Tuz Stresi	20
3.2. <i>Origanum majorana</i> 'da klorofil-a, klorofil-b ve karotinoid ölçümü	
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Origanum majorana</i>	16
Şekil 3.1. MS besiyerine ekilen <i>O.majorana</i> eksplantları.....	21
Şekil 3.2. MS besiyerine ekilen <i>O.majorana</i> eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri	22
Şekil 3.3. MS besiyerine ekilen <i>O.majorana</i> eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	22
Şekil 3.4. MS besiyerine ekilen <i>O.onites</i> eksplantlarının 1 hafta sonraki görünümleri	23
Şekil 3.5. MS besiyerine ekilen <i>O.onites</i> eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	23
Şekil 3.6. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantları	24
Şekil 3.7. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri	24
Şekil 3.8. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 3 hafta sonraki görünümleri	25
Şekil 3.9. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	25
Şekil 3.10. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantları	26
Şekil 3.11. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri	26
Şekil 3.12. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünümleri	27
Şekil 3.13. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri	27
Şekil 3.14. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantları	28

Şekil 3.15. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünümü.....	28
Şekil 3.16. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünümü.....	29
Şekil 3.17. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları	30
Şekil 3.18. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları	31
Şekil 3.19. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	32
Şekil 3.20. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları.....	33
Şekil 3.21. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları	34
Şekil 3.22. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	35
Şekil 3.23. <i>O.majorana</i> 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Murashige & Skoog (MS) besiyeri bileşiminde bulunan kimyasal maddeler ve konsantrasyonları.....	18
Çizelge 3.1. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları	29
Çizelge 3.2. <i>Origanum onite</i> 'de NaCl stresine bağlı kök uzunlukları	30
Çizelge 3.3. <i>Origanum onites</i> 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	31
Çizelge 3.4. <i>Origanum majorana</i> 'da NaCl stresine bağlı yaprak uzunlukları	32
Çizelge 3.5. <i>Origanum majorana</i> 'd NaCl stresine bağlı kök uzunlukları	33
Çizelge 3.6. <i>Origanum majorana</i> NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları	34
Çizelge 3.7. <i>O.majorana</i> 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları.....	36

1. GİRİŞ

Kekik ülkemiz ekonomisine önemli katkı sağlayan, gıdalarımızı çeşnilendiren ve sağlığımız için önemli özelliklere sahip bir bitkidir. Türkiye, Dünya Bitki Ticaretinde, Çin ve Hindistan'dan sonra üçüncü ülke durumundadır. Çeşitli adlarla ihraç edilen bitkiler arasında "Kekik" adıyla toplanıp satılanların miktarı ise 8 000 tona civarındadır. Bu rakama, yurt içinde baharat ve çay olarak tüketilen 1 000 tonu ve uçucu yağ üretiminde kullanılan 1 000-1 500 tonu da ilave edilecek olursak, Türkiye'nin kekik üretim miktarı 10 000 tona ulaşmaktadır (Başer, 2001). Türk kekiği kalitesini dünyaya kabul ettirmiştir. Ülkemizdeki işletme tesislerinde üretilen kekik; temiz olması ve yüksek oranda yabancı madde taşımaması nedeniyle kabul görmektedir (Olivier W.G., 1997; Oflaz, 2001).

Kekik bitkisinin bu kadar önemli bir bitki olması nedeniyle gelişimi üzerinde hangi durumların strese neden olduğu araştırma konumuzdur. Bitkisel üretimlerde gerekli olan toprak ve su, içerdikleri yoğun tuz miktarı nedeni ile zaman zaman sorun olmakta ve yetiştiriciliği sınırlandıran en önemli faktörler arasında yer alabilmektedir. Toprak tuzluluğu yağışın az olduğu kurak ve yarı kurak ekolojilerde sıkça rastlanan bir stres kaynağı olup, genellikle toprakta fazla miktarda NaCl birikimini ifade etmektedir. Çalışmamızda gıda ürünlerinin üretimi için giderek artan bir sorun haline gelen tuz stresinin bitki üzerindeki etkilerini inceledik. Bu incelemede doku kültürü tekniğinden yararlanıldı. Bitkinin gelişimindeki optimum şartlar sağlanmış, incelemek istediğimiz makroelement konsantrasyonlarının bitki gelişimi üzerinde oluşturduğu stres meristem kültürü tekniği kullanılarak incelenmiştir. Bu tekniği seçmemizdeki amaç daha hızlı çoğalma hızına sahip olması, daha az yere gereksinim duyulması, tüm yıl boyunca üretim yapılabilmesi, kimyasal ve fiziksel ortam koşulları üzerinde daha fazla bir oranda kontrol olanağı sağlanması, olgun dokuların yeniden geliştirilmesi ve kısa sürede gelişim imkanının olması gibi avantajlarını sıralayabiliriz.

Anadolu'da kekik adıyla bilinen bitkiler: *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Corydothymus* cinslerinin türleridir (Başer, 1995). Bu türlerin bazıları doğadan doğal olarak toplanırken bazılarının ise tarımı yapılabilmektedir.

Dünya üzerinde 50 kadar türle temsil edilen *Origanum* türleri çoğunlukla Akdeniz bölgesinde ve Balkanlarda yayılış gösterirler. *Origanum* türleri, birden fazla dik gövdesi olan, çok yıllık otsu veya yarı çalimsı bitkiler olup çiçekleri salkımsı veya gövde uçlarında toplu halde bulunmaktadır. Orta büyüklükteki çok yıllık bu bitkiler, genellikle sıcak iklimi sever ve kurak, besince zengin, çoğunlukla kireçli topraklarda iyi yetişirler. Günümüzde *Origanum* türleri doğadan toplanıldığı gibi bazılarının çelikle ve tohumla üretimi de yapılmaktadır.

Günümüz biyoloji bilimi hızlı bir gelişim göstermektedir. Biyoteknoloji, biyolojik bilimlerdeki gelişmelerin teknolojideki gelişmeler yardımı ile uygulamaya konularak kullanılması şeklinde tarif edilebilir. Biyoteknolojinin uygulama alanları içinde en hızlı gelişme potansiyeline sahip olanlardan birisi bitki biyoteknolojisidir. Bitki biyoteknolojisi ise çeşitli doku kültürü ve genetik mühendisliği tekniklerini kullanarak bitkilerin moleküler düzeyde iyileştirilmesini amaçlamaktadır. Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besi yeri ortamında, bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi kısımlardan yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin 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. Doku kültürü ayrıca protoplast izolasyonu, hücre, doku ve bitki beslenmesi, sitogenetik çalışmalar, morfogenez çalışmaları ve biyolojik azot fiksasyonu gibi temel araştırmalarda da kullanılmaktadır.

Doku kültürleri sıvı ya da katı olabilmektedir. Diğer kültür yöntemlerinden farkı destek materyali olarak agar gibi organik bileşiklerin kullanılmasıdır. Diğer yandan ortamın osmotik basıncını ve pH'ını ayarlamakda önemlidir. Bu yöntemle mikrobiyal bulaşma kuvvetle olasıdır. O yüzden sterilite çok önemlidir. Aksi halde organik ortam mikroorganizmaların hızla üremesini sağlayacaktır. Bu

yöntemin ayrıcalıklarından biri de tüm bitki yerine doku, doku parçacıkları, hücre ve hatta hücre organelleri kullanılmasıdır. Bu ayrıcalık üretimde hız getirebildiği gibi, çeşitliliği de beraberinde sağlar. Bu yöntemde besleme ortamına büyümede hızı sağlayacak vitaminler ve bitki büyüme maddeleri ilave edilir. Büyüme maddeleri üretim sırasında kallus gövdeli bitki, köklü bitki ya da komple bitki gibi istekleri yönlendirir.

Bitki doku kültürü çalışmaları içinde en yaygın olanlarında biri meristem kültürüdür. Meristem kültürü tekniği, bitkiden alınan küçük meristem hücreleri topluluğundan uygun şartlarda uygun besi yerle ve hormonlarla yeni bir bitki elde edilmesidir. Meristem kültürü çalışmaları; bitki ıslahı ve virüssüz bitki yetiştirilmesi hızlı ve nitelikli bitki üretme gayretinden doğmuştur. Çok sayıda otsu bitkinin meristem kültürü tekniği ile sağlıklı ve güçlü bir kök sistemi oluşturma kapasitesine sahip oldukları saptanmış olup bu olgudan çiçekçilik, seracılık ve fidancılıkta yararlanılmaktadır. Son yıllarda patates, şeker kamışı, bezelye, karnabahar, çilek, muz, turunçgiller gibi birçok bitki türünde meristem kültürü, termoterapi (sıcaklıkla iyileştirme) ile kombine edilerek uygulanmakta ve virüssüz bitkiler elde edilmektedir.

Tüm bunlar göz alındığında önemli bir sanayi ve gıda maddesi olarak kullanılan kekik bitkisinin hangi tuz aralıklarında daha verimli olduğunu saptamak için bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

1.2. Meristemin Yapısı

Meristem dokunun kökeni embriyodur. Yüksek yapılı bitkilerde yumurta hücreleri ile erkek gametin birleşmesinden meydana gelen zigot bölünerek embriyoyu verir. Embriyo esas bitkiyi meydana getirebilmek için devamlı bölünerek hücre sayısını arttırma yeteneğindedir. Bölünme özelliğinden dolayı da bitkilerin uzama ve kalınlaşmasını sağlar. Meristemler tarafından üretilen hücreler büyümelerine ve morfofizyolojik değişmelerine, özelleşmelerine değişim denir. Böylelikle embriyonik karakter kaybolur ve olgun dokular oluşur.

Örn: Elekli boru hücreleri, çekirdek veya çekirdek materyali, ihtiva eden bütün değişmez doku hücreleri yeterli uyarı aldıklarında yeniden bölünme, büyüme ve değişme kabiliyetindedirler. Buna hatipotensi denir (Anonim 2008).

Mersitem hücreleri; bol sitoplazmalı, ince çeperli, hücreler arası boşlukları olmayan, kofulsuz yada küçük ve az kofullu, büyük çekirdekli, farklılaşmış küçük hücrelerdir. En önemli özellikleri sık sık bölünerek yeni hücreler meydana getirebilmeleri. Meristemler kökenlerine göre 2'ye ayrılır (Anonim 2008).

- i- Primer meristem
- ii- Seconder mersitem

Primer meristem, embriyo safhasından itibaren bölünme yeteneğini kaybetmeyen ve doğrudan doğruya embriyo hücrelerinden gelişen hücrelerdir. Uzunluğuna büyümeyi gerçekleştirirler. Meristem bitkide bulunduğu yere göre (apikal, lateral ve interkalar meristem olarak) 3'e ayrılır; apikal meristem kök, gövde ve dalların ucunda yani büyüme noktalarında bulunur. Gövdede bölünmenin olduğu kısım vejetasyon konisi adını alır ve büyüme noktasını teşkil eder (Anonim 2008).

Vejetasyon konisinin en dış kısmında tunika bulunur. Tunikanın dış tabakası dermatogen (protoderma) adını alır ve gelişerek epidermayı oluşturur. Periblem denilen iç tunika tabakasının gelişmesiyle korteks ve destek doku meydana gelir. İkinci tabakada korpustur ve buda öz veya öze yakın iletim demetlerini meydana getirir. İnterkalar meristem organların uzunluğuna büyümesini sağlar.

Lateral meristem enine büyümeyi sağlar. Büyümeye devam eden pena köklerin uç kısımlarında da bir vejetasyon konisi bulunur. Yalnız bu genç kökler toprakla devamlı temas halinde bulduklarından bu kısım kaliptra denen yüksükle korunur. Burada dıştan içe doğru kaliptrogen, dermatogen, periderm, korpus bulunur.

Primer meristemler kök, gövde ve dalların ucundaki sürekli mitoz bölünme özelliğinde olan hücrelerden oluşur. Kök ve gövde ucundaki bu kısımlar koni

şeklini almıştır. Genç hücrelerden oluşan bu büyüme konileri kökte kaliptra, gövdedeyse koruyucu yapraklarla dış etkenlerden korunur.

Sekonder meristem; çiçeksiz bitkiler ve monokotillerde yoktur. Bölünmez doku hücrelerinin hormonların etkisiyle yeniden bölünme yeteneği kazanması sonucu meydana gelen bölünür dokulardır. Kök ve gövdenin enine büyümesini sağlar, kambiyum ve mantar meristemi bu görevi yapar (Anonim 2008).

1.3 .Kararma

In vitro koşullardaki kararma, kimyasal olarak açıklanabilen ve çoğunlukla tanenler ve okside olan polifenoller nedeniyle ortaya çıkan bir olaydır.

Dokular ana bitkiden ayrılıp eksplant hazırlanması sırasında yaralanırlar; bu durum çoğunlukla hava tarafından, peroksidazlar tarafından veya polifenoloksidazlar tarafından okside edilen ve hem dokuda, hem de kültür ortamında kahverengileşme veya kararma ile sonuçlanan çeşitli bileşiklerin açığa çıkmasına neden olur (Elliatlıoğlu 2000).

Katekol oksidaz'ı da içeren polifenoloksidazlar, sağlıklı ve genç dokulardaki plastidlerde saklanmaktadır. Bitki zararlandığında eksplant hazırlanmasında olduğu gibi fenolik bileşikler, plastidlerle ve diğer organellerle karışık bir halde vakullerin içerisinde büyük miktarlarda depolanırlar ve okside olmuş polifenollerin meydana gelmesiyle de koyu renk pigmentasyonu görülmeye başlanır. Okside olmuş bu bileşikler, enzim aktivitesini engellemekte böylece eksplantı öldürücü kararma sonucu ortaya çıkmaktadır (Elliatlıoğlu 2000).

1.4. Stres Fizyolojisi

1.4.1. Stresin Tanımı

Stres canlılarda hasar meydana getiren güç olarak tarif edilir. Bu zarar metabolizma sonucu meydana gelir. Sonuçta bir bitkinin veya organın büyümesinde ve verimliliğinde azalmaya, hatta ölüme neden olabilir. Hem doğal hem de tarımsal koşullarda bitkiler sıklıkla çevresel strese maruz kalırlar. Stresin

dereceleri çok geniş sınırlar içindedir. Hava sıcaklığı gibi bazı çevresel faktörler sadece birkaç dakika içinde stres oluşturabilirken, toprak suyu içeriği ve topraktaki mineral eksikliği diğer faktörlerin stres oluşturması günler hatta haftalar sürebilir. Ayrıca, toprak ve iklimin, bitki türlerinin dağılımını nasıl sınırlandırdığını belirlemede stres büyük bir rol oynar. Bu nedenle, bitkilerin çevresel strese uyum ve aklımasyon mekanizmaları ile stres yaralanmaları altında yatan fizyolojik süreçleri anlamak, hem tarım hem de çevre açısından büyük bir öneme sahiptir.

Çevresel strese adaptasyon ve aklımasyon, 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. Çizelge 1.1’de bitkileri etkileyen stres çeşitleri 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.Işımlar	3.Hava kirliliği	3.Parazitizm
4.Elektromanyetik alan	4.Pestisitler	4.İnsan Tahribi
5.Rüzgar ve fırtına	5.Herbisitler	5.Hayvan tahri bi
6.Toprak yapısı	6.Toprak pH’sı	6.Hastalıklar

1.4.2 Stresin dereceleri

Bitkiler herhangi bir stres kaynağına maruz değillerse, bu durumda stresten söz edilmez. Bu şekilde optimum şartların bulunmasına ‘sıfır stres ’’ adı verilmektedir. Stresin dereceleri çok geniş sınırlar içindedir. Tabiatta bitkiler için tamamen stressiz bir ortamın bulunması çok zordur. Stresin şiddeti yanında bitkinin strese maruz kalma süresi de önemlidir.

Bitki türünde şiddetli strese sebep olan bir stres faktörü, bir başka türde hatta türlerin kendi içinde bile ılımlı strese ya da sıfır strese sebep olabilir. 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 yarısından fazlası koful olduğu için strese dayanıklıdır (Önder ve Yentür 1999).

1.4.3. Stresle İlgili Kavramlar

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. Ancak bitki yaşamını sürdürebilir.

Tolerans (Esneklik): Bitkinin uygun olmayan çevre şartlarına maruz kalması durumunda, hayatını devam ettirmesi ve strese dayanıklı olarak tarif edilebilir. Daha çok bitkinin genetik yapısıyla ilgilidir.

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).

1.4.4.Tuz Stresi

Bitkide strese neden olan etmenler; hastalık oluşturanlar ve zararlılar gibi biyotik kökenli olabilmesinin yanında; tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklıklar, besin elementlerinin eksik veya fazlalıkları gibi abiyotik kökenli de olabilmektedir.

Çevik (1986), Türkiye topraklarının toplam alanının 78 milyon hektar olduğunu, bunun %36'sının işlenebilir arazi olup bu alanların %3.2'sinin tuzluluk problemine sahip olduğunu belirtmektedir. Sönmez (1990) ise, Türkiye'de 4 milyon hektar alanın tuzla etkilenmiş topraklara sahip olduğuna işaret etmekte; bu değer, sulanabilir alan potansiyelimizin yaklaşık %18'i olduğunu vurgulamaktadır.

Tarımsal üretim alanlarında tuzluluk, toprakların verimliliğini olumsuz yönde etkileyen, ürün verimini sınırlandıran en önemli faktörlerden birisidir. Toprak tuzluluğunu çoğunlukla yağış miktarı az, yüksek sıcaklık derecelerine sahip olan kurak ve yarı kurak bölgelerde ortaya çıkmaktadır.

Toprakta bulunan çözünebilir tuzların miktarı, bitkinin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan miktarın üzerine çıktığında sorunlar ortaya çıkmaya baslar. Toprak tuz içeriği arttıkça bitkinin su alımı kısıtlanır. Tuz konsantrasyonu, kullanılabilir su potansiyelini düşürmeye yetecek kadar olduğunda (0.5-1.0 bar) bitki strese girer ki, bu da tuz stresi olarak adlandırılır (Yaşar 2003).

Ekonomik anlamda öneme sahip bitkilerin çoğu tuzluluğa karşı duyarlıdır. Tuzlu ortamlarda yetişen bir bitki büyümeyi engelleyici faktörleri üç grupta toplamak olasıdır: a) kök bölgesindeki düşük su potansiyeli nedeniyle su alımının azalması veya diğer bir değişle su stresi, b) iyon toksisitesine neden olacak düzeyde yükselen Na ve Cl iyonlarının bitki bünyesinde birikimi, c) besin maddelerinin alımı ve taşınımı sırasında ortaya çıkan dengesizlikler ve özellikle K ve kısmen Ca eksikliklerinin ortaya çıkması. Bitkilerin tuza karşı gösterdiği tepkiler; bitkinin içinde bulunduğu gelişme dönemine, stres faktörü olan tuzun

konsantrasyonuna, tuzun bitkiye etki ettiği süreye göre değişebilmekte; ayrıca iklim ve toprak özelliğine bağlı olarak da farklılık gösterebilmektedir. Çevresel faktörler ve fizyolojik etkilerin eşlik ettiği tuza tolerans özelliğinin esas kaynağı kalıtsal unsurlardır. Tuza tolerans bakımından bitkiler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Familya, cins ve türler arasında farklılıklar bulunduğu gibi, aynı türe ait çeşitler arasında da tuza tolerans bakımından farklılıkların bulunduğu bilinmektedir.

Tuz zararı bitkilerde farklı belirtilerle kendini gösterebilmektedir.

Tuzluluk, bitkinin morfolojisini ve anatomisini de kapsayan tüm metabolizmasını etkileyen bir faktördür. Toprak çözeltisindeki tuz konsantrasyonu arttığında ve su potansiyeli azalığında, bitki hücrelerinin ozmotik potansiyeli düşer ve bitki hücrelerinin bölünmesi ya da uzaması birden yavaşlar. Bu stres koşulları altında genellikle stomalar kapanır ve sonuç olarak fotosentez azalır. Stres koşullarının devam etmesi halinde bitki büyümesi tamamen durabilir. Bitki tür ve çeşitleri arasında tuzluluğa gösterilen tepki bakımından farklılık bulunmakla birlikte, gilikofit bitkilerin kök bölgesinde tuzluluğun hafta veya ay düzeyindeki bir süreç boyunca artmasına karşı gösterilen ilk fenotip yanıt, sürgün büyümesindeki azalmadır. Bu bilgiye ek olarak tuzluluğa en fazla duyarlılık gösteren organların yapraklar olduğunu bildiren Munns ve Termaat (1986)'ın açıklamalarından sonraki yıllarda yapılan başka çalışmalar sonucunda mısırdaki (Cramer ve ark., 1988) ve domateste (Snapp ve Shennan, 1992) kök büyümesi ve gelişmesinin de tuzluluktan benzer biçimde etkilendiğini ortaya konmuştur. Yurtseven (2000) tuzluluğun patlıcan bitkisinin bitki su tüketimine etkisini araştırmış ve tuzluluk artışı ile bitki su tüketiminin azalığını belirlemiştir. Bu azalma toprak ortamındaki çözelti konsantrasyonunun sulama suyu ile iletilen tuzlar nedeniyle artması ve bunun bir sonucu olarak ozmotik basıncın yükselmesinin bitki su alımını zorlaştırmamasından kaynaklanmıştır. Scardaci ve ark (2002) toprak ve su tuzluluğunun pirinç verimine etkisini araştırmışlardır. Tuzluluğun artmasıyla pirinç verimi azalma göstermiştir. Yine sulama suyundaki çözünmüş tuz konsantrasyonu artmasıyla tohum yoğunluğu ve bio kütle değerleri de azalma göstermiştir.

Tuz stresi bitkinin ölümüne neden olabildiği gibi tolerans durumuna bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroz, nekrotik lekelerin oluşumuna yol açabilmekte, verim ve kalitenin azalmasına neden olmaktadır. Mer ve ark. (2000) tuzun toksit etkisinin ilk önce yaşlı yapraklarda görülmeye başladığını, bu yaprakların uçlarından başlayıp yaprak ayasına ve sapına doğru ilerleyen kloroz şeklinde kendini gösterdiğini, daha sonra bu kısımların öldüğünü belirtmektedir. Tuzlu koşullarda büyüyen bitkilerin büyüme hızı düşük olup bodur bir yapı sergilemektedirler, yaprakları ise çoğunlukla küçük ve rengi koyu yeşildir. Tuz stresinde hücre büyümesi ve hücre bölünmesindeki, yavaşlamanın, sitokin miktarının azalması sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Hormon dengesinde ortaya çıkan değişikliklerin tohum çimlenmesi üzerinde de etkide bulunduğu, azalan sitokin sentezlenmesinin sonucu olarak çimlenme oranında azalma oluşturduğu iddia edilmektedir. Tuzlu koşullarda çimlenmenin engellenmesi ve çimlenme yüzdesinin düşmesi beklenen bir tepkidir (Demir ve Demir, 1992). Tuz stresine maruz kalan bitkilerde karşılaşılan farklılıklar arasında kök, gövde ve sürgün uzunluğunda azalma; yaprak alanı ve sayılarında azalma; klorofil miktarında azalma; veriminde, meyve tat ve renklerine bozulma kaydedilmektedir. Bitki uzun bir süre tuzluluk stresi altında kaldığında, yaşlı yapraklarda iyon toksisitesi ve su noksanlığı, genç yapraklarda ise karbonhidrat noksanlığı ve buna bağlı belirtilerin ortaya çıktığı kaydedilmektedir (Greenway ve Munns, 1980; Franco ve ark.,1993; Sivritepe, 1995; Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; 1997).

Levitt (1980) ise, tuz stresinden kaynaklanan iyon toksisitesini birincil derecede etkili stres faktörü; bunun ardından oluşan su alımının azalması yani su stresi ve mineral maddedeki dengesizlikler ve beslenmedeki bozulmayı ikincil stres faktörleri olarak yorumlamaktadır. Tuz stresi ve buna bağlı oluşan su stresi arasındaki ilişkiyi ayırt etmek oldukça güçtür. Topraktaki tuz miktarının artışı ile suyun ozmotik potansiyeli düştüğünden, tuz stresi bitkiyi ikincil bir ozmotik strese, bir başka deyişle fizyolojik kuraklık stresine maruz bırakmaktadır.

Sodyum, bitkide hem floem, hemde ksilem içerisinde hareket edebilme olanağına sahip bir element olarak bilinmektedir. Bohra ve Döfling (1993), tuz stresinde bitkinin kök bölgesinde iyon dengesinin bozulduğunu; artan miktardaki sodyum alımının, diğer mineral maddelerin alımı ile rekabete girerek beslenme noksanlığına yol açtığını bildirmektedir. İyon dengesizliğinin ve köklerde hücre zarı geçirgenliği bozulmasının bitkinin beslenme rejimini etkileyerek, metabolik olaylarda kullanılan temel bazı elementlerin alımını önlediği, bunun da fizyolojik sorunların ortaya çıkmasına neden olacağı ileri sürülmektedir. Levitt (1980), ortamda sodyum klorürün fazla olması durumunda, bitkiler tarafından Na iyonunun gereğinden fazla alındığı ve oluşan rekabet nedeniyle K iyonu alımında azalmaların ve böylece K noksanlığının ortaya çıktığını ifade etmektedir. Yüksek sodyum iyonunun bulunduğu ortamda bitkide potasyum alımının azaldığı bilinen bir gerçektir. Chow ve ark. (1996)'nın çeltik bitkisinde yapmış olduğu araştırmada, bitkilerin yaprak ve gövdesinde artan sodyumun, potasyum üzerinde etkisi belirgin bulunmazken, köklerde artan tuzla birlikte potasyum alımının azaldığı saptanmıştır. Bitki genotiplerinin farklı oranlarda Na ve K absorpsiyonun yapması ve böylece bünyelerinde farklı K/Na oranlarına sahip olmasının (Na – K ayırım özelliği) tuzluluğa dayanım konusunda rol oynadığı, Heimler ve ark. (1995), Lopez ve Satti (1996), Yu ve ark. (1998) ve Aktaş (2002) tarafından gösterilmiştir.

Tuzluluk, diğer abiyotik stres faktörlerinden olan yüksek ve düşük sıcaklık, kuraklık ve mineral element eksikliğinden kaynaklanan stres faktörlerinde olduğu gibi bitkilerde karbon metabolizmasını ve elektron taşınım aktivitesini engellemektedir. Tuz stresi altındaki bitkiler su kaybını azaltmak için stomalarını kapatmakta, böylece CO₂ gazının girişi engellenmektedir. Bunun sonucu olarak CO₂ fiksasyonu azalmaktadır. Karbondioksit fiksasyonunda kullanılmayan elektronlar ile absorbe edilen ışık enerjisi O₂'nin aktivasyonunda, yani radikallerin sentezlenmesinde kullanılmaktadır. Karanlık (2001) tarafından da açıklandığı gibi, stres altındaki bitkilerde artan düzeylerde sentezlenen serbest radikaller hücrelere zarar vermekte özellikle yavaşlama sürecine giren membran lipitleri ve nükleik asitler ile klorofil gibi hücre komponentlerini de bozmaktadır.

Tuzlu şartlar altında bazı beslenme bozukluklarının da çıkması beklenir. Gelişme ortamında aşırı NaCl olduğu zaman, Na ve Cl bitki organlarında birikir ve bu tuz iyonları hem diğer besin elementleri ile rekabete girerek hem de hücre zarlarının seçici geçirgenliğini etkileyerek diğer besin maddelerinin alımını etkileyebilirler (Bohra ve Döflig, 1993). Örneğin, Na, K ile rekabete girer ve Na fazlalığında K eksikliği ortaya çıkabilir (Levitt,1980). Yüksek tuz konsantrasyonu Ca alımını sınırlayabilir ve Ca eksikliğine sebep olabilir (Cramer ve ark.,1986). K ve Ca elementleri bitkide çeşitli fizyolojik olaylarda anahtar rolü oynar ve bu rekabet sonucunda K ve Ca içeriğinde azalma ile beslenme dengesizliği ortaya çıkar. Tuzluluk sonucu Na içeriğinin artması buna karşılık K, Ca içeriği ve K/Na ve Ca/ Na oranlarındaki azalması literatürde çok karşılaşılan sonuçlardır (Yasar, 2003).

1.4.5.Tuz stresine bağlı klorofil azalması

Bilindiği gibi klorofil oluşumu; bitkilerin ototrofik yapılarını ortaya koyabilmelerinin, yani inorganik maddelerden organik maddeler üreterek büyüyüp gelişebilmelerinin temel taşıdır. Tuz stresi altında klorofil miktarlarında genel metabolik süreçteki aksamaya bağlı olarak azalma birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Çiçek ve Çakırlar (2002) mısırdaki, Gadallah (1999) ise bakla bitkisinde tuz stresi altında yaprakların klorofil içeriğinde azalmalar görüldüğünü bildirmişlerdir. Bitkilerin, kök bölgesindeki tuz (NaCl) yoğunluğu, Na⁺'un yapraklarda birikerek klorofil moleküllerinin Mg⁺⁺ ile yer değiştirmesini ve klorofillerin yapısını bozarak klorozis'i sonuçladığı bilinmektedir.

Santos (2004) tuz stresinde klorofil miktarlarındaki azalmaları δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALA-dehidrataz) inhibisyonuna ve dolayısıyla da klorofil biyosentezinin sınırlandırılmasına bağlamıştır. Reddy ve Vora (1986) ise tuz stresinden kaynaklanan bu azalmaların klorofil parçalanmasında rol oynayan klorofillaz enziminden dolayı olabileceğini belirtmiştir. Makrofit dokularının iyon miktarlarındaki (Na iyonu) artışların da klorofil miktarlarında azalmalara neden olabileceği rapor edilmiştir. Kadmiyum stresinin de ALA dehidrataz ve klorofil

biyosentezi ile ilişkili olan protoklorofillid redüktaz gibi enzimlerin inhibisyonu, klorofil biyosentezi için gerekli olan Mg ve Fe elementlerinin alınımı ve kullanımının zayıflaması, Zn yetersizliği sonucunda karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu ve klorofil molekülünün tetrapireol halkasındaki Mg'nin yerine bağlanması yollarıyla klorofil biyosentezini inhibe ederek klorofil miktarlarında azalmaya neden olduğu ifade edilmektedir (Santos 2004).

Tuz (NaCl) stresi koşullarında Na⁺'a direnip, klorofil moleküllerindeki Mg⁺⁺'la yer değiştirmesini engellemeleri ve klorofil miktarını giderek arttırabilmeleri onların tuza dayanıklılığının en önemli bir göstergesi olmaktadır.

1.4.6.Tuz stresine tolerans metabolizması

Bitkiler doğadaki her türlü biyotik ve abiyotik kökenli stres faktörlerine karşı bazı savunma mekanizmaları geliştirmekte, olumsuz koşullara uyum sağlayarak büyüme ve gelişmelerine devam etmeye çabalamaktadırlar. Tuzluluk stresi ile karşı karşıya kalan bitkilerde genotipik özellikler çerçevesinde tepkiler oluşmakta, bazı bitki tür ve çeşitleri tuzluluktan az düzeyde etkilenirken, bazıları ise ölümcül biçimde zarara uğramaktadır. Genel temellere dayanan bu tip farklı uyum yeteneklerinin yanı sıra herhangi bir bitkinin farklı gelişme dönemleri, tuzun cinsi, konsantrasyonu, uygulama süresi gibi faktörlerin de bitkilerin geliştirdiği savunma mekanizmaları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, Nelson ve Paris (1984) kavunlarda tuz stresi konusunda yapmış oldukları araştırmada, çimlenme döneminde NaCl tuzluluğuna en iyi toleransı gösteren genotiplerin fide döneminde tuzdan çok çabuk etkilendiği, ya da bu durumun tersinin gerçekleşerek çimlenme sırasında tuzluluktan olumsuz yönde etkilenen bazı genotiplerin fide döneminde tuza karşı daha yüksek bir tolerans sergiledikleri saptanmıştır. Al-Karaki (2000) ve Dasgan ve ark.(2002) domateste, yüksek Na birikiminden sakınma yeteneği ve sürgünlerde yüksek K/Na ve Ca/N oranının tuza toleransı ve dayanımı artırdığını bildirmişlerdir. Kaya ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, NaCl stresi altındaki çilek bitkilerine ilave Ca uygulamasının, NaCl'nin bitki gelişimi ve verim üzerine olan olumsuz etkisini azalttığı kaydedilmiştir.

2.MATERYAL VE YÖNTEM

2.1.Materyal

Bu çalışmada bitki materyali olarak *Origanum onites* ve *Origanum majorana* kullanılmıştır. Bu bitkiler tohumları TBAM vasıtasıyla temin edilmiş ve saksılarda yetiştirilmiştir. Uçucu yağ içeren yarı çalimsı veya otsu çok yıllıktır. Yaprakları basit, brakteler kiremitvari olarak üst üste dizilmiştir. Korolla mor, pembe veya beyaz renkte, 2 dudaklı, stamenler 4, altaki uzundur. *Origanum* cinsi Türkiye’de 23 tür 32 takson, dünyada 41 tür 52 taksonla temsil edilir (Oflaz ve ark., 2004).

Alem: Plantae

Alt alem: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Asteridae

Ordo: Lamiales

Aile: Lamiaceae

Origanum onites Türkiye’de ticareti yapılan beş tür arasında en çok ihracatı gerçekleştirilen türdür. Ülkemizde Ege ve Akdeniz Bölgelerinde doğal olarak yetişir. Halk arasında ‘Bilyalı kekik, Taş kekik, Peynir Kekiği, İzmir Kekiği’ gibi yöresel adlarla bilinen *Origanum onites*, doğal floramızın bir ürünü olmasının yanı sıra kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ticari *Origanum* türüdür. *Origanum onites*’in Ege bölgesinde tarımı yapılmaktadır. Tarım alanları son yıllarda 6300 dönüme ulaşmıştır. Oldukça yaygın kullanıma sahip ve ekonomik açıdan önemli bu bitki, halk arasında yemeklerde baharat olarak ve çeşitli

şekillerde hastalıkların tedavisinde kullanılır. Toprak üstü kısımlar midevi olarak, soğuk algınlığı, baş ağrısı gibi durumlarda kullanılır. Uçucu yağı ile yapılan çalışmalarda analjezik etkisi tespit edilmiştir. Yüksek miktarda fenol içermesi nedeni ile antibakteriyal, antispazmodik ve antiseptik etkileri bilinmektedir

Origanum majorana takriben 20-50cm boyunda genellikle bir yıllık, bazen iki yıllık ve sık çatallaşan bir bitkidir. Sürgünleri grimsi yeşil, sapları esmer veya kırmızımsı esmer renkte ve tüylüdür. Yaprakları oval şekilde 1-2cm uzunluğunda, 0,5-1cm eninde kenarları bütün koyu yeşil renkli, karşılıklı bir sonraki ise çapraz, kısa saplı veya sapsızdır. Çiçekleri sürgünlerin ucunda salkım şeklinde oldukça küçük çiçeklerden meydana gelir. Taç yaprakları beyaz renkte nadiren pembe, geri kısmı borucuk, şeklinde ve kupa yaprakları çan şeklinde olup taç yaprakları kavramıştır. Vatanı Akdeniz ülkeleri olan bitki, günümüzde orta Avrupa ülkeleri, kuzey Amerika ve Asya'nın Türkiye'den doğu Türkistan'a kadar olan alanda yetiştirilir. Mart aylarında saksı, kasa veya seralara ekilir ve fideleri mayısta bahçe veya tarlalara ekilir (Anonim 2007).

Origanum majorana bebeklerdeki nezle ve üşütmeye yetişkinlerde ise iştahsızlık, sindirim rahatsızlığı, akut ve kronik gastrit, ülser, şişkinlik, kulak iltihaplanması, baş ağrısı, kadın hastalıkları, ezilme, burkulma, karaciğer rahatsızlıkları, bel tutulmasına karşı ve de sinirleri, kalbi ve kan dolaşımını kuvvetlendirmek için kullanılır. Halk arasında mide ve bağırsak rahatsızlıklarından; şişkinlik, sancı, kramp ve hazımsızlığa karşı, sinirlik, baş ağrısı, migren, baş dönmesi, üşütmeye ve nezleye karşı kullanılır. Dahili olarak çayı, harici olarak merhemi kullanılır (Başer 2001).



Şekil 2.1. *Origanum majorana*



Şekil 2.2. *Origanum onites*

2.2. Yöntem

Tuz stresinin *O.onites* ve *O.majorana* meristem dokularının gelişmelerine etkileri incelenmiştir. Bunun için içerisinde % 0.01 gr/lt, % 0.02/ gr/lt ve % 0.03 gr/lt tuz (NaCl) bulunan 1 MS besi yerleri ve kontrol için de normal MS besi yeri kullanılmıştır. Büyüme düzenleyici olarak 0.1mg/lt Kinetin kullanılmıştır. Meristemlerin gelişimi dört hafta boyunca izlenmiş, kök ve yaprak uzunlukları ile yaşayan meristem sayıları düzenli olarak kaydedilmiştir.

Daha sonraki aşamada *O.majorana*'da klorofil ve karotinoid ölçümleri yapılmıştır. Bunun için normal MS, % 0.02 gr/lt ve 0.03 gr/lt tuz içeren besiyerlerindeki bitki yapraklarından 0.1 gr alınmış, tartılmış ve kıyılmıştır. Kıyılan örnekler havana alınmış asetonitril, etanol, safsu (72:8:3) ilave edilmiş ve tokmakla ezilerek ekstratı çıkarılmıştır. 645 ile 663 nm'de ayrı ayrı spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür. Sıfır ayarı %80'lik asetonitril ile yapılmıştır. Karotenoid tayini için de aynı örneklerde ayrıca 450 nm'de okuma yapılmıştır. (Strain ve Svec,1966).

Klorofil ekstraktının iki farklı dalga boyuna yapılan optik yoğunluk (OD) ölçümlerinden elde edilen değerlerin aşağıda verilen eşitliklerde yerlerine konmasıyla, bitki yaprak dokusunun 1 g'ında bulunan klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları mg. olarak hesaplanmıştır.

$$\text{mg klorofil a / g doku} = [12,7 (D663) - 2,69 (D645)] (V / 1000 W)$$

$$\text{mg klorofil b / g doku} = [22,9(D645) - 4,68 (D663)] (V / 1000 W)$$

Eşitliklerde : OD, klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki optik yoğunluğunu (absorbans değerini); V, %80'lik asetonitril son hacmini (10 ml); W, ekstre edilen dokunun g olarak yaş ağırlığını (0,1 g) göstermektedir.

Klorofil tayini için hazırlanmış ekstraktın 450 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değeri, aşağıdaki formülde yerine koymak suretiyle, yaprak yaş ağırlığının 0,1 gramındaki mg karotenoid miktarı saptanmıştır.

$$\text{Toplam karotenoid} = [4,07 \times D450 - (0,0435 \times \text{kla miktarı} + 0,367 \times \text{klb miktarı})]$$

2.2.1. Sterilizasyon

Çalışmalar sırasında sterilizasyona önem verilmiştir. Steril eldiven, steril maske, kullanılan pens, bisturi gibi aletler ve çalışacağımız alan steril kabin içindeki 2600 A° luk UV lambası ile steril edilmiştir. Kullanılan pens, bisturi, spatül gibi aletler her işlemten sonra % 96'luk alkole batırılıp bek ateşinde yakılarak steril edilmiştir.

2.2.2. MS besiyerinin hazırlanması ve sterilizasyonu

Bu meristem kültürü çalışmasında MS (Murashige ve Skoog) besi ortamı kullanılmıştır. Bitki doku kültürü çalışmalarında besi ortamında su, inorganik ve organik bileşikler bulunmaktadır.

Besi ortamının döküleceği temiz petri kapları 180 °C'deki kuru havalı fırında 3 saat süre ile steril edilmiştir. Ekim sırasında kullanılacak saf su cam balona konmuş, ağzı pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Aynı şekilde besi yerleri de pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılarak 120° de 1,5 atmosfer basınçta 1 saat 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.

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

Makro Elementler	mg/l	Mikro Elementler	mg/l	Organik Bileşikler	mg/l
NH ₄ NO ₃	1650	H ₃ BO ₃	6.2	Sukroz	30000
KNO ₃	1800	MnSO ₄ 4H ₂ O	22.3	Agar	10000
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	ZnSO ₄ 4H ₂ O	8.6	Glycine	2
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	KI	0.86	Inositol	100
KH ₂ 7PO ₄	170	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.25	Nikotinic Asit	0.5
Na ₂ Edta	37.5	CuSO ₄ 7H ₂ O	0.025	Pridoksin- HCl	0.5
FeSO ₄ 7H ₂ O	27.8	CoCl ₂ 6H ₂ O	0.025	Thiamin- HCl	0.1
				Kinetin	1
				NAA	0.5
				2,4-D	0.5
				IAA	0.5

2.2.3. Meristemlerin yüzey sterilizasyonu ve ekimi

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

Bu üç beherde ekimi yapılacak meristem dokuları önce çamaşır suyunda 2 dakika, %75'lik alkolde 2 dakika ve steril saf suda 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra meristem dokular alkollenip alevden geçirilmiş pens ve bisturi yardımıyla bek alevi yanında besi yeri bulunan petrilere ekilmiştir. Petriler parafilm ile sarılmış 25°C' ye ayarlı iklim kabinine konulmuştur. Fotoperiyot için toplam 80W'lık beyaz flüoresans lambalar ile aydınlanan iklim kabini kullanılmıştır. Aydınlık ve karanlık periyotlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması şeklinde yapılmıştır.

3. BULGULAR

Ekimi yapılan meristem dokuların kök ve yaprak uzunlukları ile canlı bitki sayıları her hafta ölçülmüştür. Deneyler sırasında kontaminasyonlar ve doku kararmaları görülmüştür. *In vitro* koşullardaki kararma, kimyasal olarak açıklanabilen ve çoğunlukla tanenler ve okside olan polifenoller nedeniyle ortaya çıkan bir olaydır. Kontamine olan petrilerdeki bitkiler hesaplara katılmamıştır.

3.1. *Origanum onites* ve *Origanum majorana*'da Tuz Stresi

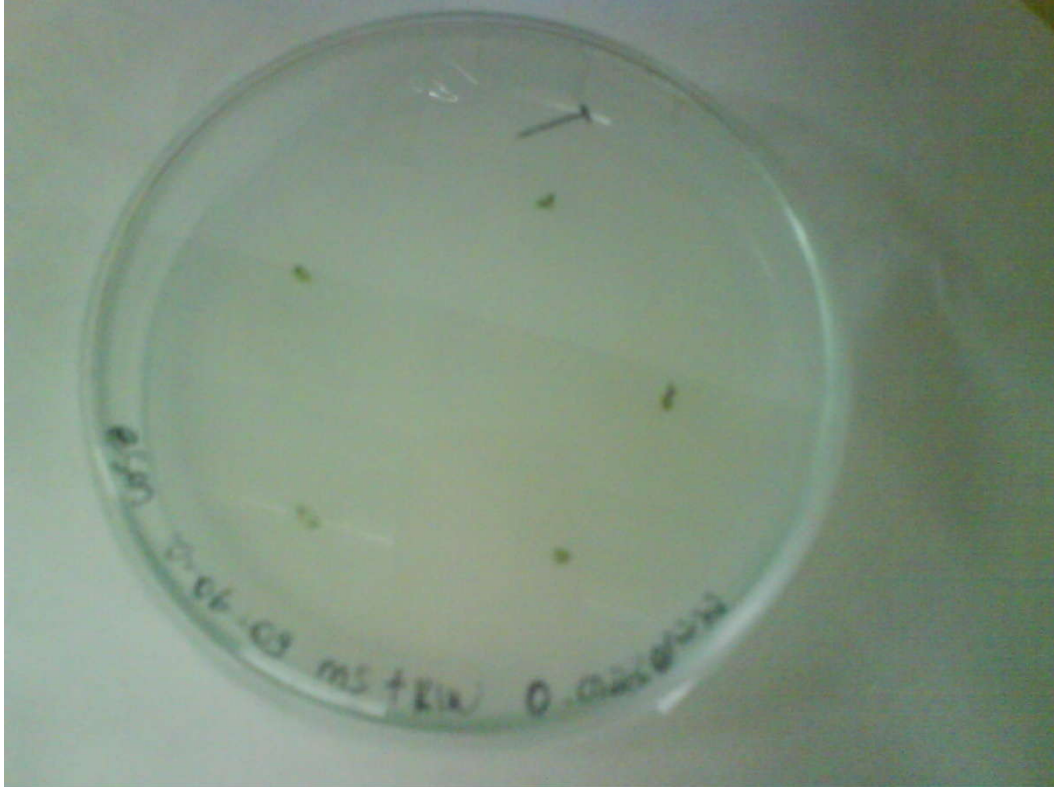
Origanum onites ve *O. majorana* meristemleri farklı oranda tuz içeren besiyerlerine ekiminden bir hafta sonra yaprak gelişimi *O.onites*'te sabit görülmesine rağmen, *O. majorana*'da % 0.02 ve 0.03 gr NaCl içeren besiyerlerinde yaprak gelişimi aynı düzeyde gözlenmiştir (Çizelge 3.1 ve 3.4). Kök gelişiminde en iyi gelişim *O. onites*'te kontrol grubuna göre % 0.01 gr ve % 0.02 gr tuz içeren petrilerde gözlenirken *O.majorana*'da % 0.01 ve % 0.02 gr tuz içeren petrilerde gelişim daha iyi düzeydedir (Çizelge 3.2 ve 3.5).

İkinci haftada yaprak gelişimi *O.onites*'te % 0.02 gr tuz içeren petride artış görülmüştür. % 0.01 gr ve % 0.03 gr tuz içeren petrilerde gelişim görülmemiştir (Çizelge 3.1). *O. majorana*'da % 0.01 gr ve % 0.02 gr tuz içeren petrilerde artış görülmüştür. % 0.03 gr tuz içeren her iki bitkide de 2.haftada yaprak büyümesi görülmemiştir (Çizelge 3.4). Kök gelişimi *O.onites*'te % 0.03 gr tuz içeren petrilerde artış görülürken, *O.majorana*'da herhangi bir gelişim görülmemiştir (Çizelge 3.2 ve 3.5). *O.majorana*'da kontrol grubunda bir bitkide kararma görülmüştür (Çizelge 3.6). Kontrol grubunda *O. majorana*'da yaprak uzunluğu artarken *O.onites*'te yaprak ve kök uzunluğu sabit kalmıştır (Çizelge 3.1, 3.2 ve 3.4).

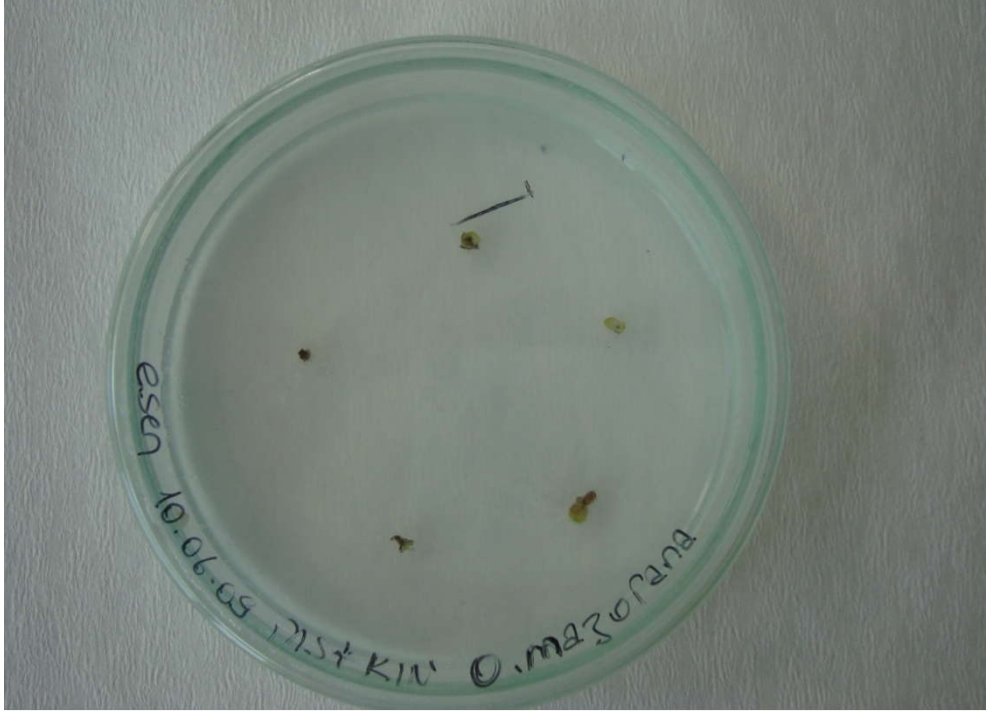
Üçüncü haftada *O.onites*'te % 0.01 gr ve % 0.02 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak uzunluğu artarken, *O.majorana*'da bir artış görülmemiştir (Çizelge 3.1 ve 3.4). Kök gelişimi *O.onites*'te ve *O.majorana*'da % 0.01 gr tuz içeren petrilerde artmıştır (Çizelge 3.2 ve 3.5). *O.onites*'te kontrol grubundan ve

% 0.02 gr, % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerindeki birer bitki kararmıştır (Çizelge 3.3). Kontrol grubunda hem *O.majorana*'da hem de *O.onites*'te yaprak ve kök uzunluklarında artış görülmüştür.

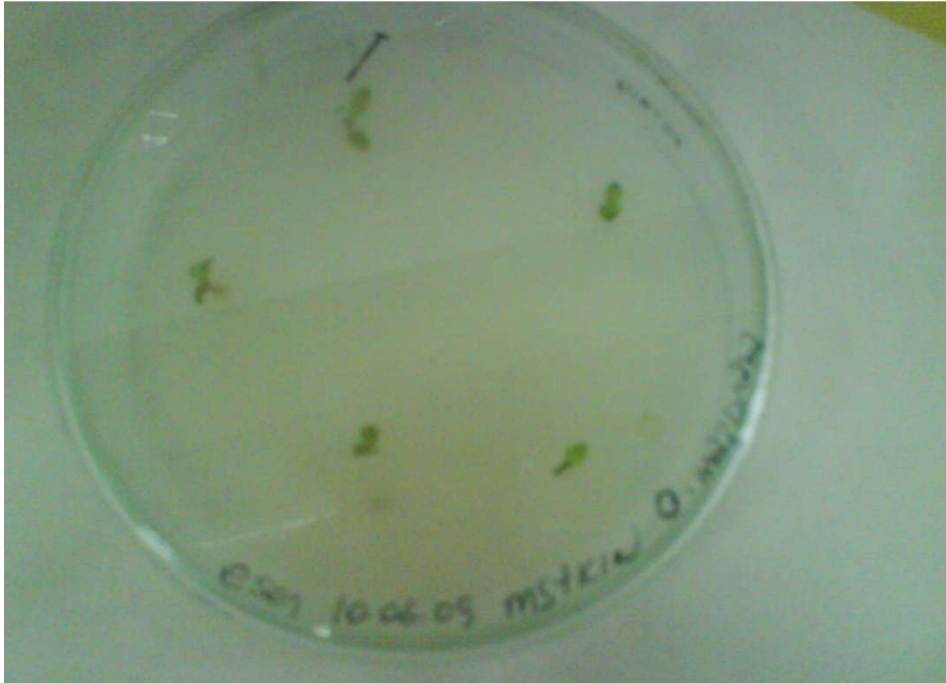
Dördüncü haftanın sonunda *O.onites*'te yaprak uzunlukları % 0.01 ve % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerinde artmıştır (Çizelge 3.1). *O.majorana*'da % 0.01 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak uzunlukları artmıştır (Çizelge 3.4). Kök uzunlukları *O.onites*'te son haftada % 0.02 gr tuz içeren besiyerinde artış görülürken, *O.majorana*'da % 0.02 gr tuz içeren besiyerinde artış görülmüştür (Çizelge 3.2 ve 3.5). Kontrol grubunda *O.onites*'te yaprak uzunluğu artarken, *O.majorana*'da hem yaprak hem de kök uzunluğu artışı görülmüştür (Çizelge 3.1, 3.4 ve 3.5).



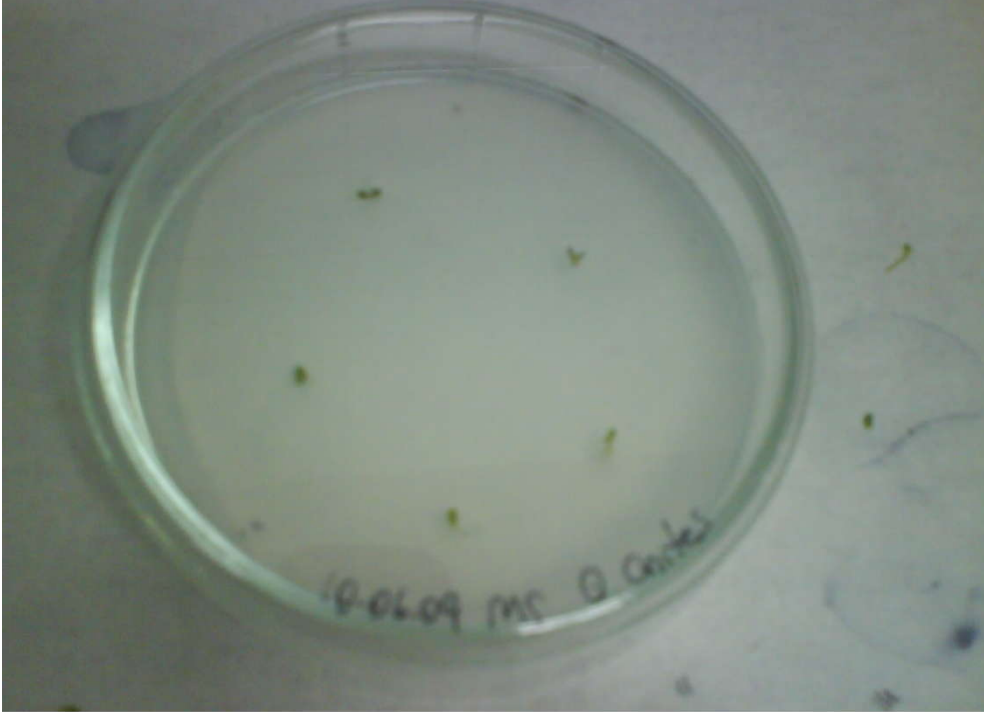
Şekil 3.1. MS besiyerine ekilen *O.majorana* eksplantları



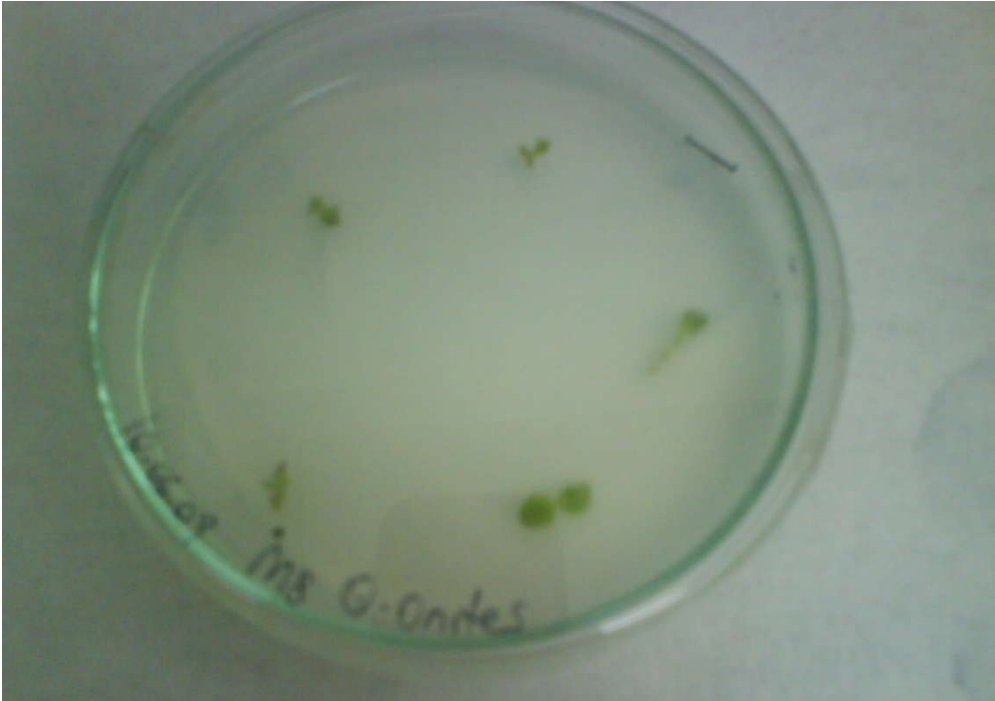
Şekil 3.2. MS besiyerine ekilen *O. majorana* eksplantlarının 2 hafta sonraki görünümleri



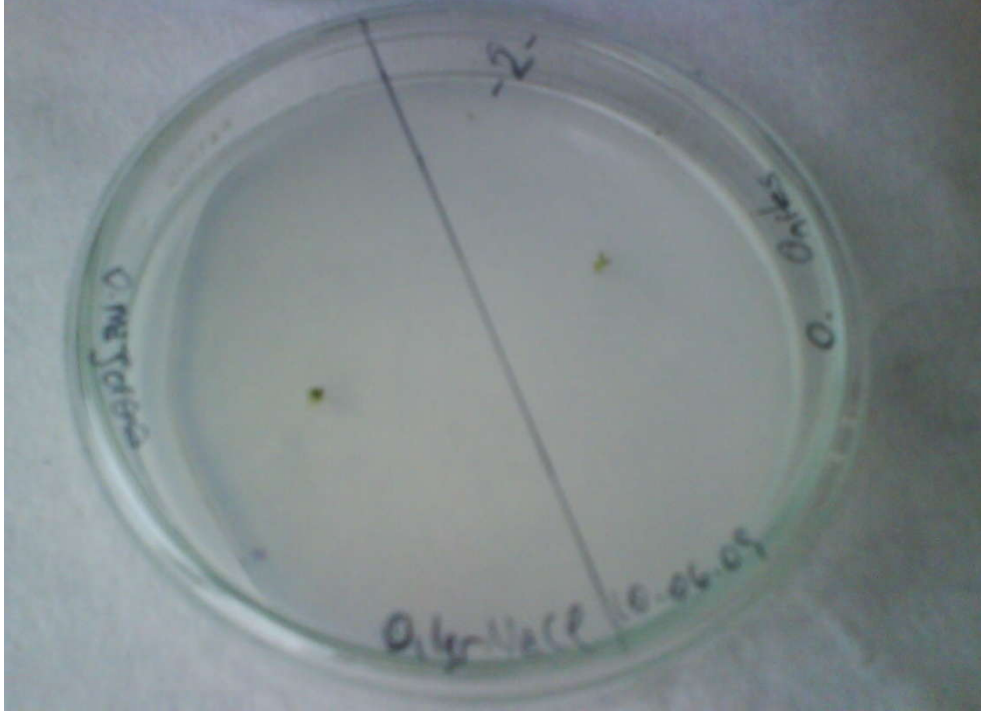
Şekil 3.3. MS besiyerine ekilen *O. majorana* eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri



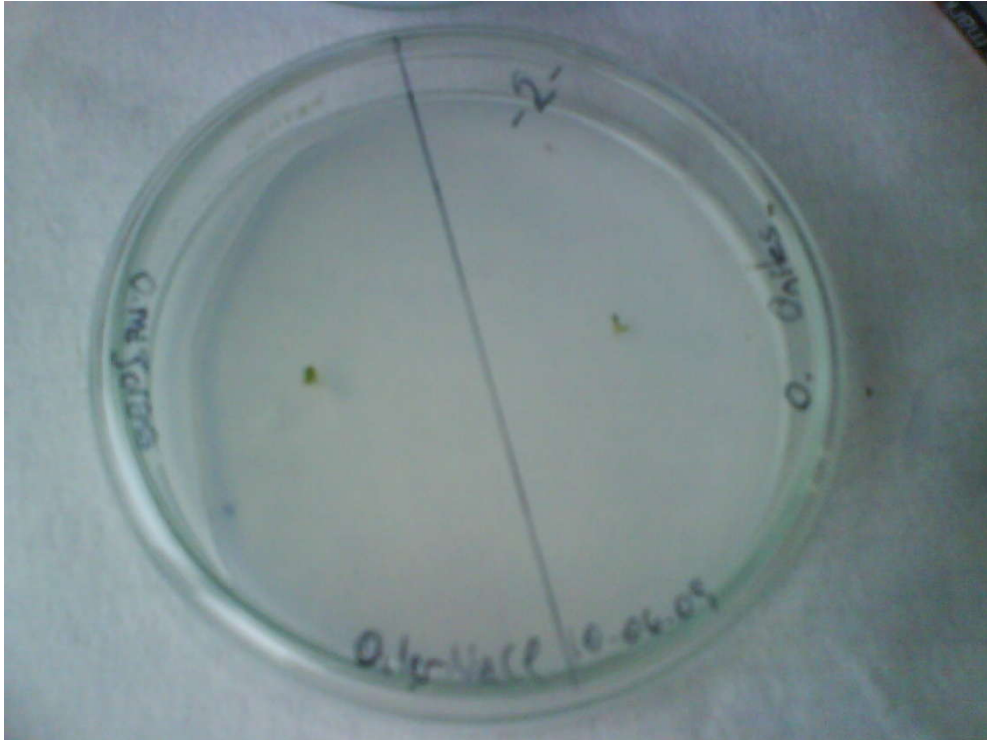
Şekil 3.4. MS besiyerine ekilen *O.onites* eksplantlarının 1 hafta sonraki görünümleri



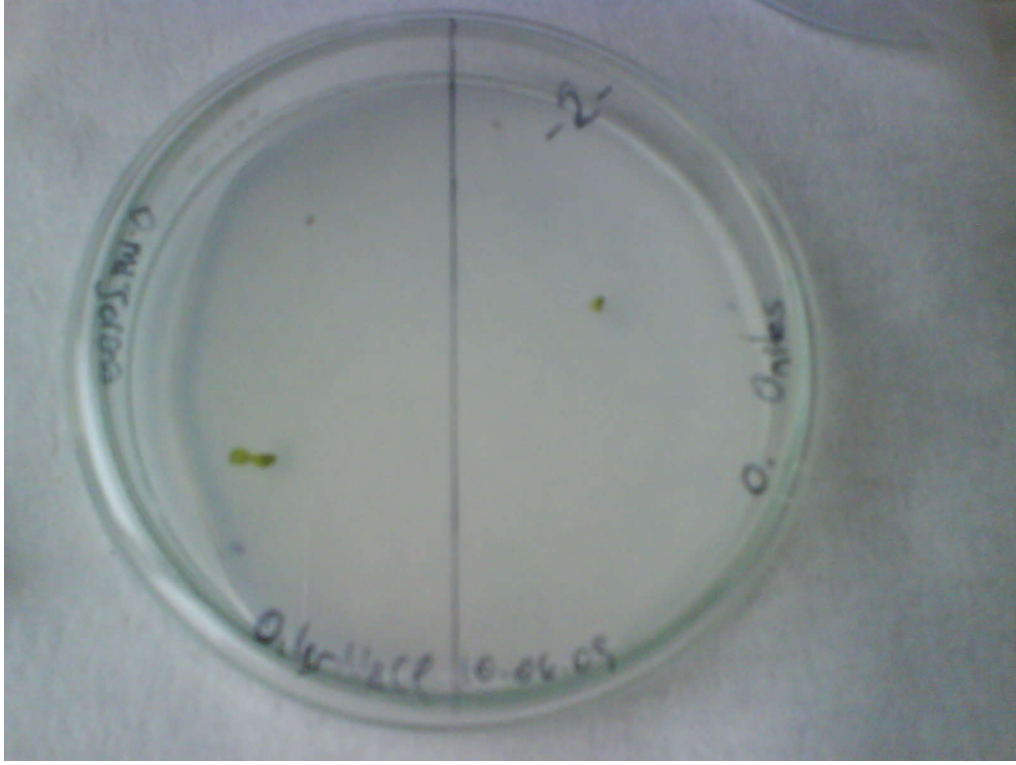
Şekil 3.5. MS besiyerine ekilen *O.onites* eksplantlarının 4 hafta sonraki görünümleri



Şekil 3.6. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantları



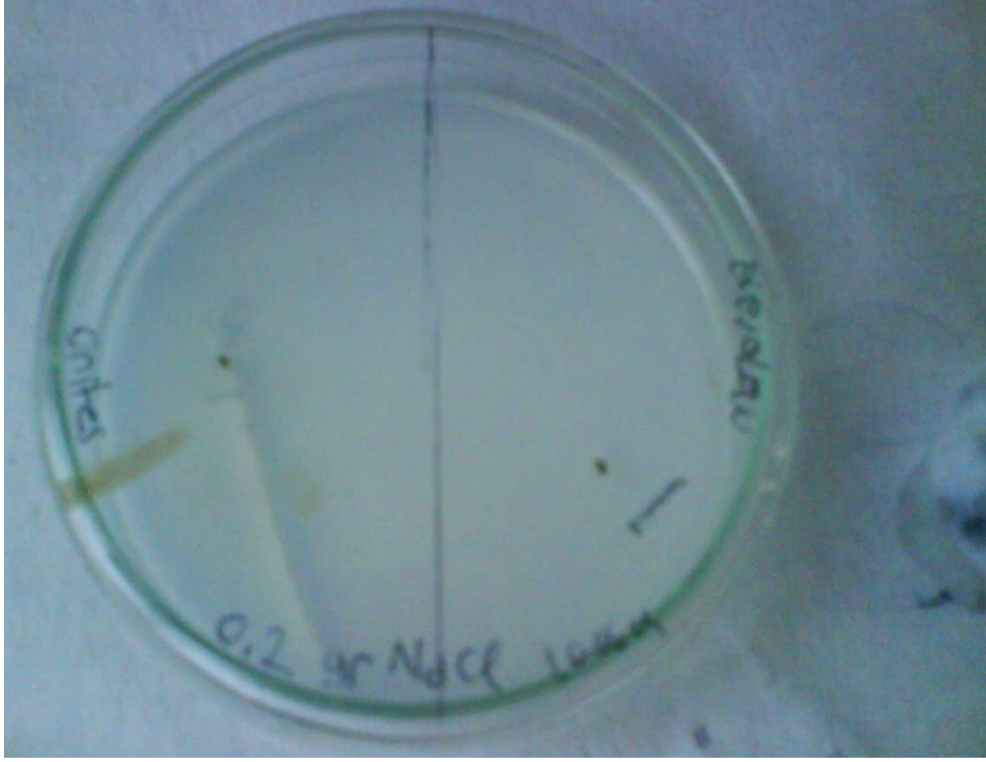
Şekil 3.7. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 2 hafta sonraki görünüşleri



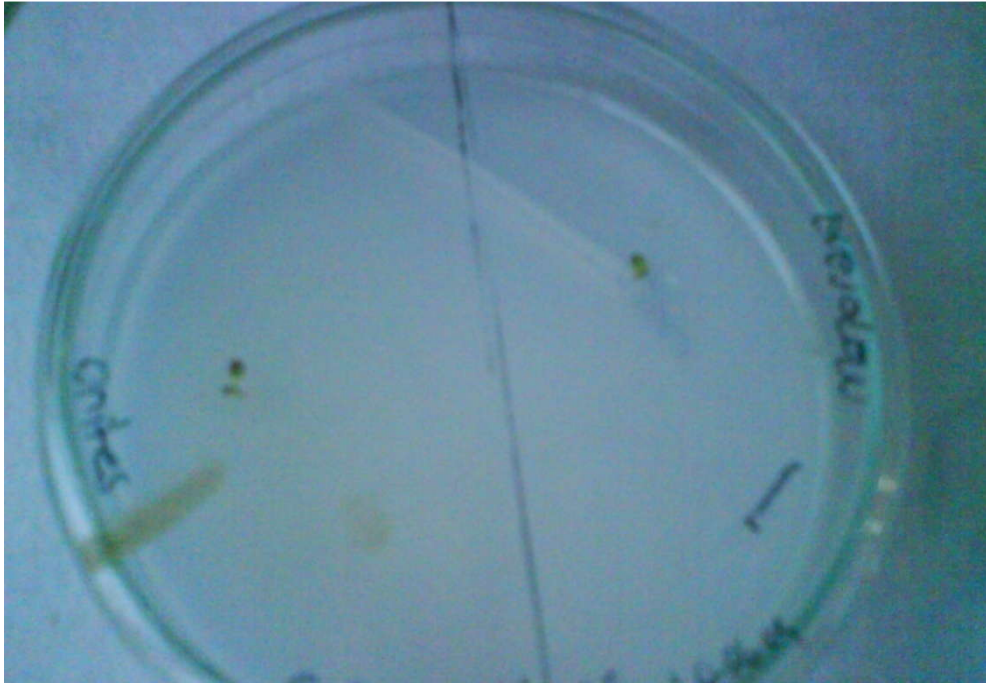
Şekil 3.8. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 3 hafta sonraki görünüşleri



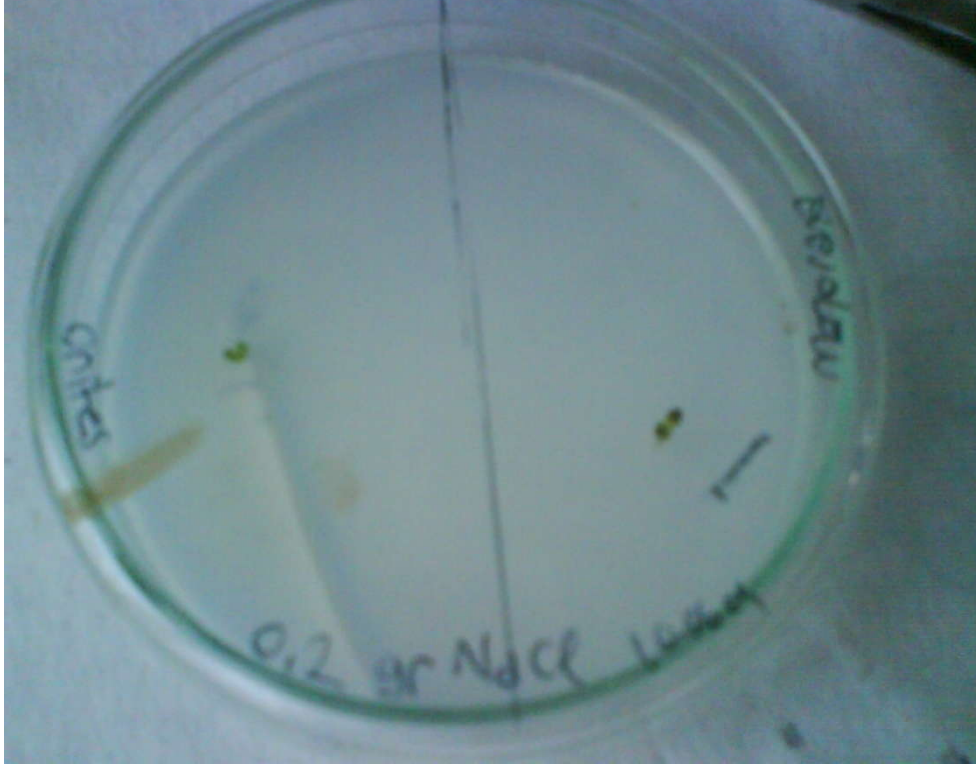
Şekil 3.9. % 0.01 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem eksplantlarının 4 hafta sonraki görünüşleri



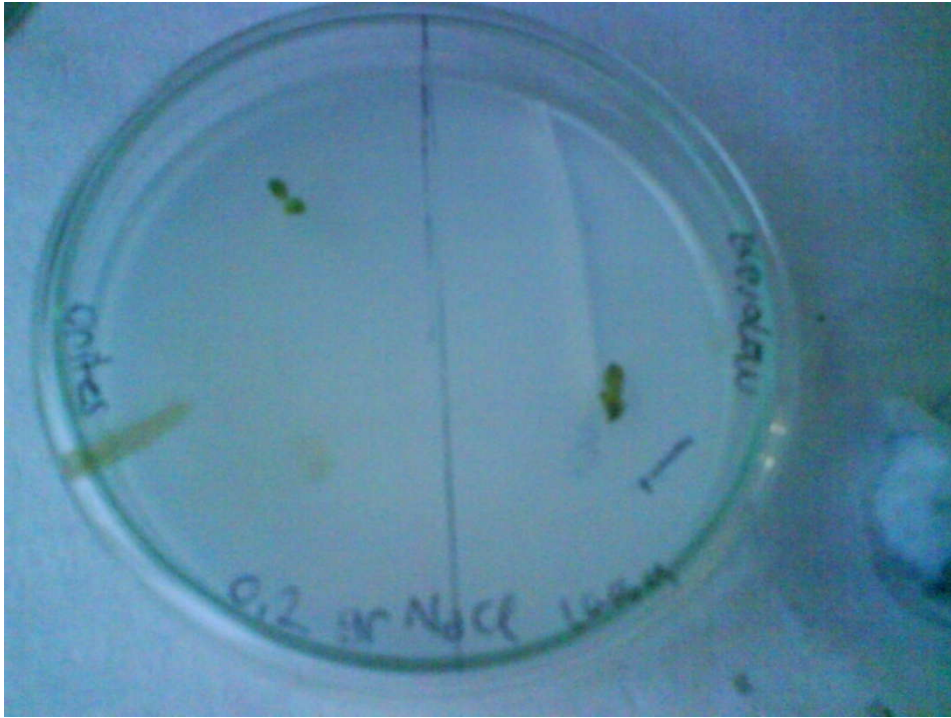
Şekil 3.10. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantları



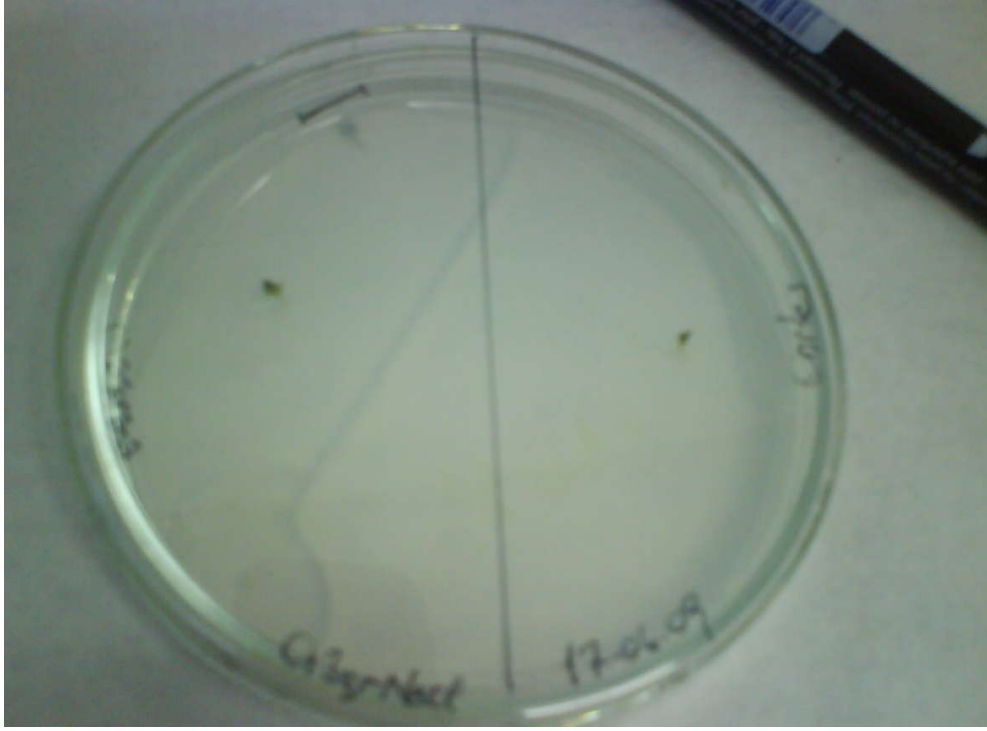
Şekil 3.11. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 2 hafta sonraki görünüşleri



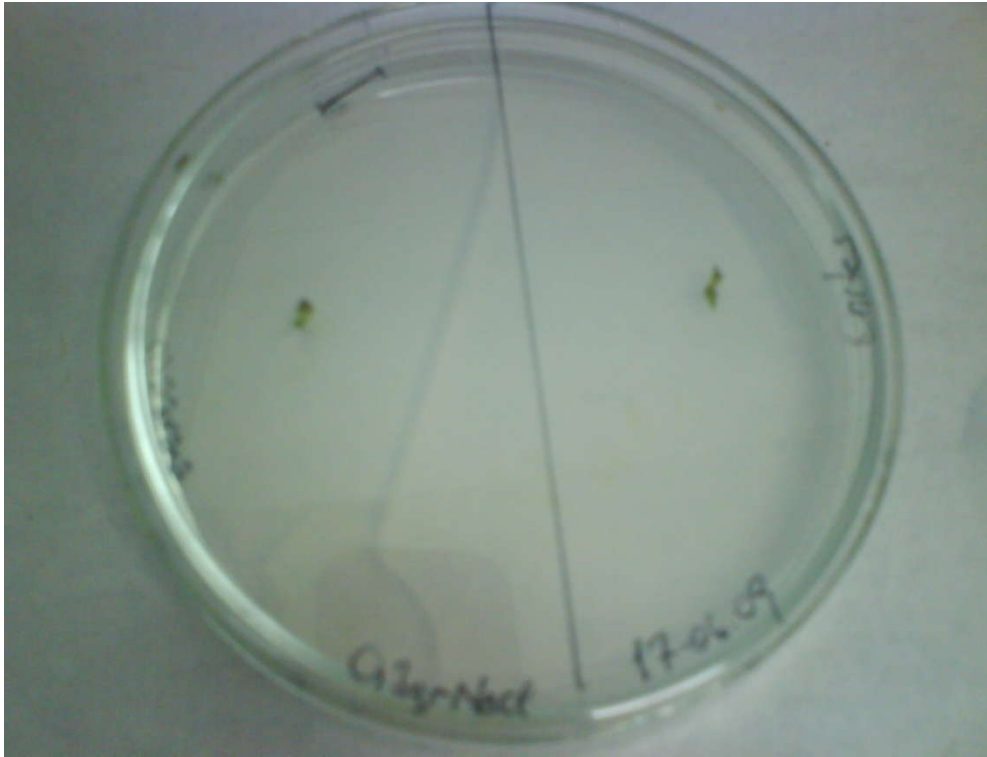
Şekil 3.12. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünüşleri



Şekil 3.13. % 0.02 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünüşleri



Şekil 3.14. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantları



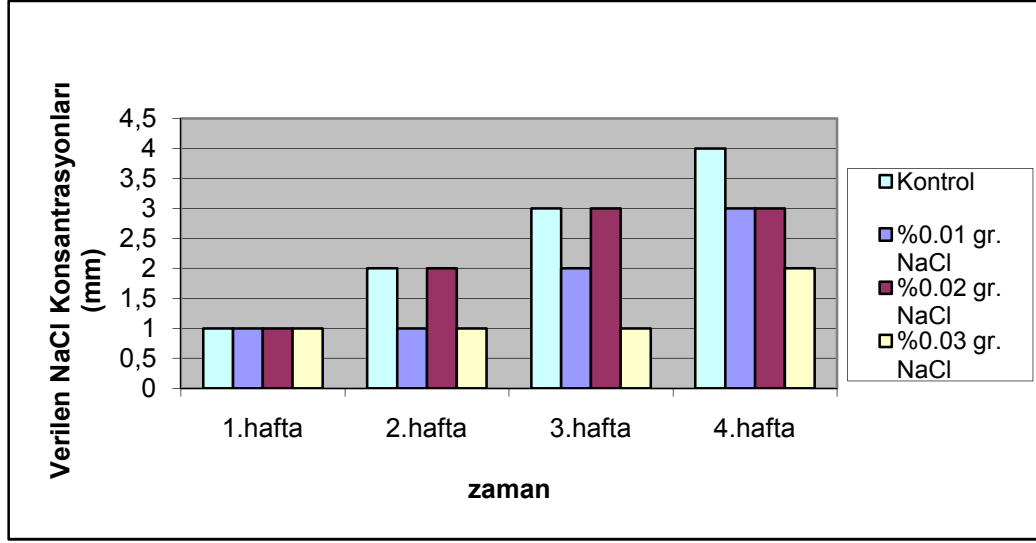
Şekil 3.15. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 3 hafta sonraki görünümü



Şekil 3.16. % 0.03 gr NaCl içeren MS besiyerine ekilen meristem ekplantlarının 4 hafta sonraki görünümü

Çizelge 3.1. *Origanum onites*'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

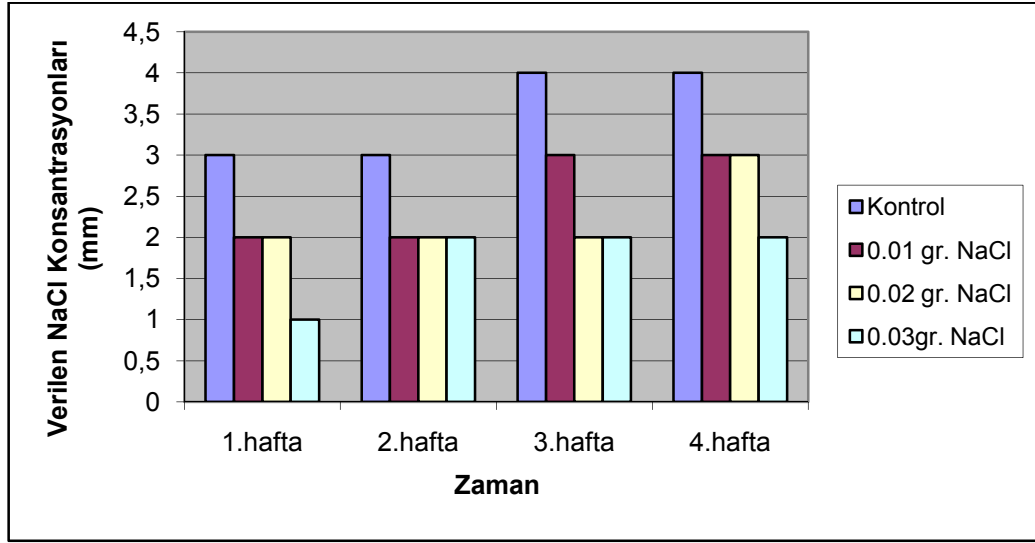
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	1	1	1	1
2.hafta	2	1	2	1
3.hafta	3	2	3	1
4.hafta	4	3	3	2



Şekil 3.17. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

Çizelge 3.2. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları (mm)

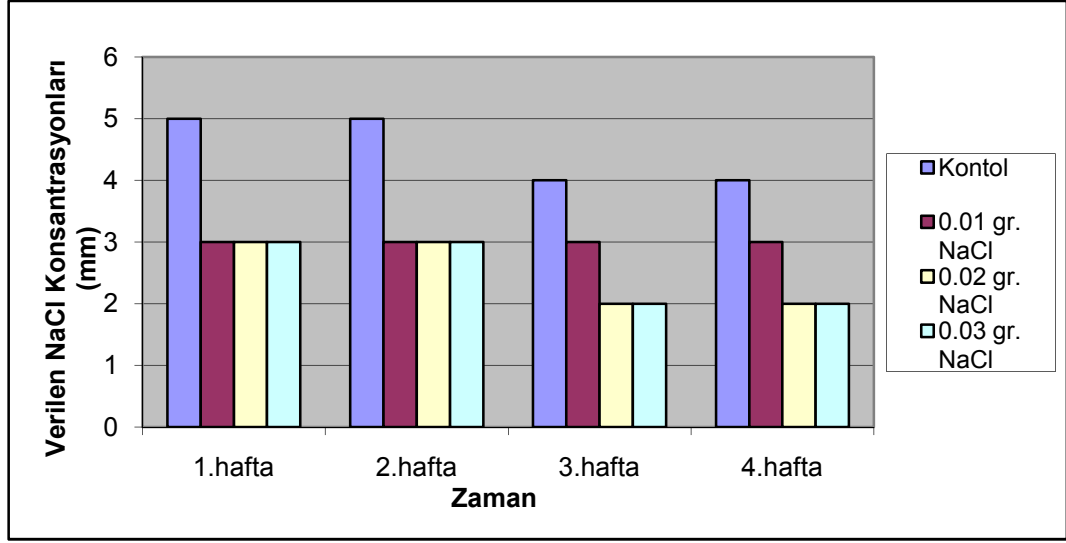
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	3	2	2	1
2.hafta	3	2	2	2
3.hafta	4	3	2	2
4.hafta	4	3	3	2



Şekil 3.18. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları (mm)

Çizelge 3.3. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

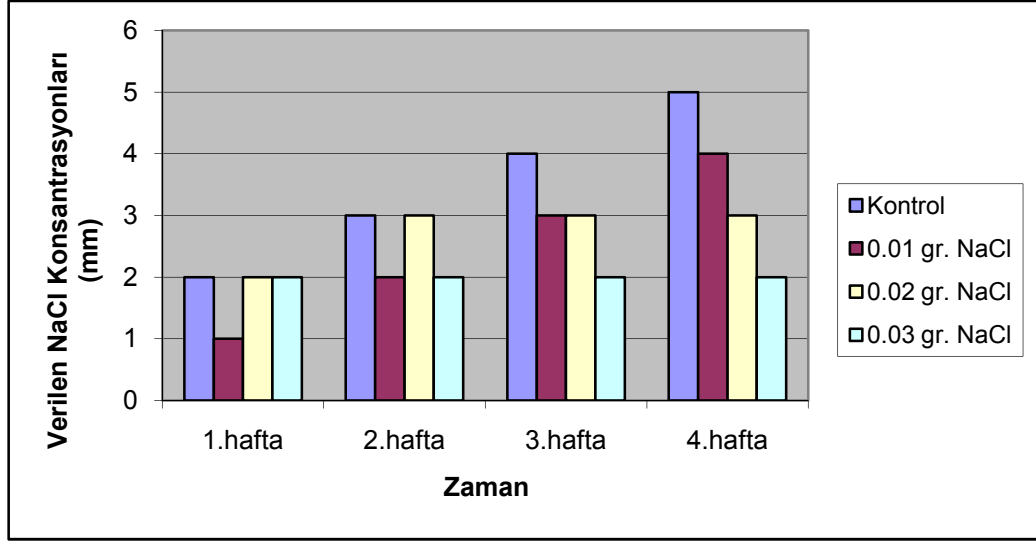
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	5	3	3	3
2.hafta	5	3	3	3
3.hafta	4	3	2	2
4.hafta	4	3	2	2



Şekil 3.19. *Origanum onites* 'de NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

Çizelge 3.4. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

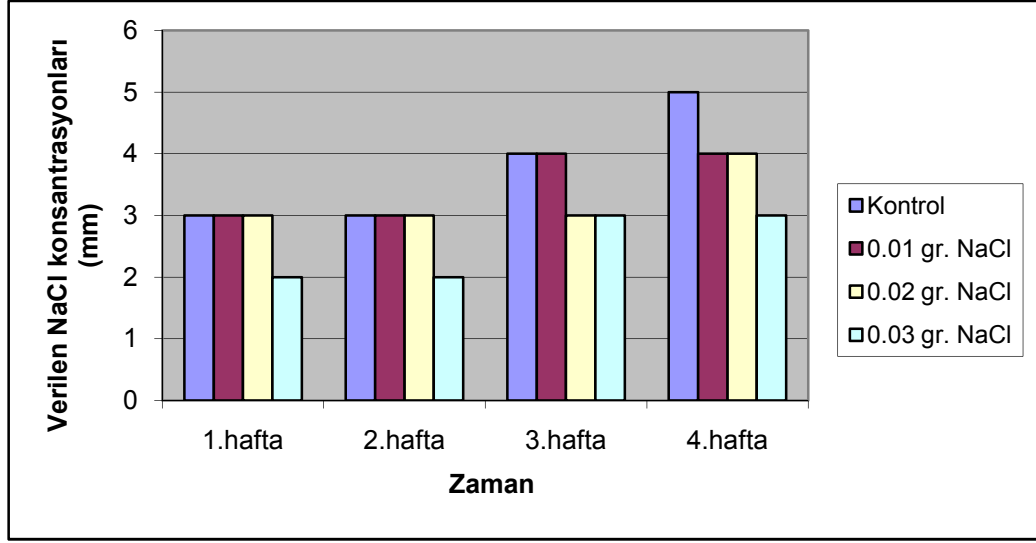
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	2	1	2	2
2.hafta	3	2	3	2
3.hafta	4	3	3	2
4.hafta	5	4	3	2



Şekil 3.20. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı ortalama yaprak uzunlukları (mm)

Çizelge 3.5. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı kök uzunlukları (mm)

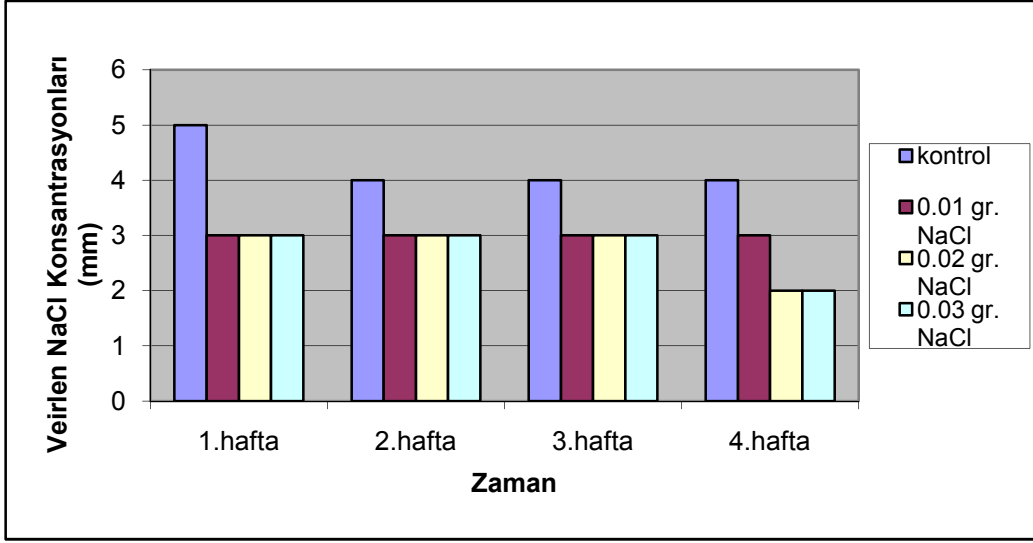
	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	3	3	3	2
2.hafta	3	3	3	2
3.hafta	4	4	3	3
4.hafta	5	4	4	3



Şekil 3.21. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı ortalama kök uzunlukları (mm)

Çizelge 3.6. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

	Kontrol	0.01gr NaCl	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
1.hafta	5	3	3	3
2.hafta	4	3	3	3
3.hafta	4	3	3	3
4.hafta	4	3	2	2



Şekil 3.22. *Origanum majorana* 'da NaCl stresine bağlı canlı bitki sayıları

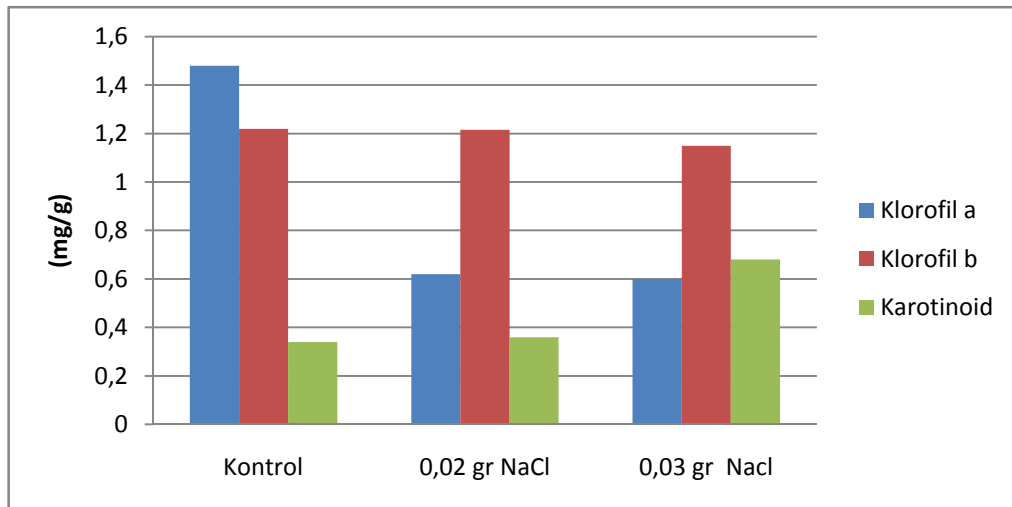
3.2 *Origanum majorana*'da Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotinoid Ölçümü

Klorofil içeriği, tuz stresi altındaki bitkilerde olumsuz etkilenmektedir. *O.majorana*'da yapılan hesaplamalar sonucunda Klorofil-a ve Klorofil-b tuz konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Klorofil-a'da, kontrol bitkilerine oranla tuz içeren besiyerlerinde bariz azalma görülmüştür. Klorofil-b'de fark çok fazla görülmemiştir. Karotinoid miktarında ise en fazla artış % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde görülmüştür (Çizelge 3.7).

Tuz stresi altında genel metabolik faaliyetlerin aksaması, başta Ca ve K olmak üzere N, P ve Mg gibi makro besin elementlerinin alınımında kısıtlanma gibi faktörler klorofil aktivasyonunu olumsuz etkiler. Bu çalışmada da NaCl uygulamasıyla beraber klorofil miktarında azalma, karotinoid miktarında artma görülmüştür (Şekil 3.23).

Çizelge3.7. *O.majorana* 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları

	Kontrol	0.02gr NaCl	0.03gr NaCl
Klorofil-a	1,48	0,62	0,6
Klorofil-b	1,22	1,21	1,15
Karotinoid	0,34	0,36	0,68



Şekil.3.23. *O.majorana* 'da Klorofil-a , Klorofil-b ve Karotinoid oranları

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı tuz konsantrasyonlarının *O.onites* ve *O.majorana* üzerinde oluşturduğu stres incelenmiştir. Bu amaçla farklı oranlarda NaCl içeren MS besiyerlerinde *O.onites* ve *O.majorana* ekplantlarının gelişimi dört hafta süre ile izlenmiştir.

O.onites'te kontrol grubuna göre, % 0.02 gr tuz içeren konsantrasyonda daha hızlı yaprak büyümesi gözlenirken % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde yavaş ve zor bir yaprak büyümesi görülmüştür (Şekil 3.13 ve 3.16). Aynı şekilde kök uzunluğuda % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde düşük ve zor bir büyüme incelenmiştir. En iyi kök uzunluğu kontrol grubunda görülürken, % 0.01 gr tuz içeren besiyerinde de kök büyümesi rahat gözlenmiştir. (Çizelge 3.2). Artan NaCl konsantrasyonu *O.onites*'te gelişimi azaltmıştır.

O.majorana'da yaprak uzunluğu en fazla kontrol grubunda görülmüştür. % 0.01 ve % 0.02 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak büyümesi görülürken % 0.03 gr tuz içeren besiyerinde yaprak büyümesi durmuştur (Şekil 3.16). Kök uzunluğu ise % 0.01 ve % 0.02 gr tuz içeren besiyerlerinde daha fazla gelişmiştir (Çizelge 3.5).

Canlı bitki sayılarına baktığımızda tuz konsantrasyonlarındaki artış çok fazla strese neden olmadığı görülmüştür. % 0.01 gr tuz içeren besiyerindeki bitkilerin tamamı hayatta kalırken, % 0.02 ve % 0.03 gr tuz içeren besiyerlerinde ve kontrol grubundan her birinde birer tane bitkilerin karardığı görülmüştür (Çizelge 3.3 ve 3.6).

Bu sonuçlara genel olarak bakıldığında tuz konsantrasyonundaki artışa paralel olarak tuzun neden olduğu stres bitkide ölüme neden olmamıştır. Ancak tuz konsantrasyonu artıkça bitki büyümesi daha yavaşlamış ve zorlaşmıştır.

Tuz stresine maruz kalan bitkilerde genel olarak karşılaşılan farklılıklar:

- Kök, gövde ve sürgün uzunluğunda azalma;
- Bitki yaş ve kuru ağırlıklarında azalma;
- Yaprak alanı ve sayılarında azalma;
- Klorofil miktarında azalma;
- Verimde, meyve tat ve renklerinde bozulmadır.

Yaşar (2003) toplam 38 adet patlıcan genotipinde yaptığı çalışmada 150 mM NaCl uygulaması ile oluşturulan tuz stresi karşısında, tuzluluğa karşı genotiplerin büyük ölçüde varyasyon gösterdiğini, tuzlu koşullarda gövde ağırlıkları ve boyundaki azalmaların, kök ağırlığı ve bitki boyundaki azalmalardan daha fazla olduğu gözlenmiş; bu durumda tuz stresinin patlıcanda yeşil aksam üzerinde köklere göre daha fazla olumsuz etkide bulunduğunu görmüştür.

Tuz konsantrasyonu arttıkça *O.onites* ve *O.majorana*'da özellikle yaprak gelişimi % 0.03 gr'lık tuz içeren besiyerinde neredeyse durmuştur. Tuzluluğa en fazla duyarlılık gösteren organların yapraklar olduğunu bildiren Munns ve Termaat (1986)'ın açıklamalarından sonraki yıllarda yapılan başka çalışmalar sonucunda mısırdaki (Cramer ve ark., 1988) ve domateste (Snapp ve Shennan, 1992) kök büyümesi ve gelişmesinin de tuzluluktan benzer biçimde etkilendiğini ortaya konmuştur. Benzer şekilde *O.onites* ve *O.majoranada*'da kök gelişiminin tuz konsantrasyonu arttıkça yavaşladığı hatta % 0.03 gr'lık besiyerlerinde her iki bitki içinde bir süre sonra durduğu görülmüştür.

Zhu ve Boyer'e (1992) göre yüksek tuzluluktan kaynaklanan büyüme azalması turgor kaybından değil, enerji metabolizmasındaki ve hücre çeper polimerlerinin sentezindeki azalmadan kaynaklanmaktadır. Kaiser ve ark.'na (1983) göre tuzlu ortamda yetişen ıspanak bitkilerinde büyüme azalması fotosentezin inhibisyonundan çok stoma direncinin artışına bağlanmaktadır.

Aynı araştırmacılar, büyüme azalmasının besin ve su alımının azalmasından kaynaklanabileceğini de bildirmişlerdir. Wang ve ark. (1997) tuzluluğun zararlı etkilerinin su stresi, iyon toksisitesi ve iyon dengesizliği (K⁺ alımında inhibisyon) ya da bu faktörlerin bir kombinasyonuna bağlamışlardır.

Ayrıca Wang ve ark. , (1997) fotosentez oranlarındaki azalmanın stoma iletkenliğinin azalması ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Ortamda düşük bulunan tuz konsantrasyonlarındaki bitkilerde gelişim daha rahat gözlenmiştir. Özellikle % 0.01 gr tuz içeren besiyerlerinde yaprak başta olmak üzere köklerde de gelişim görülmüştür. Düşük tuz konsantrasyonunda görülen yaprak ve kök gelişimi *O.onites* ve *O.majorana*'nın düşük tuz stresine toleranslı olduğunu bize göstermektedir. Tuzlu koşullar altında tolerant türler, hassas türlere göre hem iyon alımını hemde bitki içinde bu iyonların dağılımını daha iyi düzenleyebilmektedirler. Genel olarak kabul edilen görüş, kök bölgesinde aşırı Na varlığında, bir çeşidin K alımını sürdürebilme ve K seviyesini koruyabilme yeteneği tuza toleransta önemli bir kriterdir (Yaşar, 2003). Tuza tolerans konusunda yapılan bir çok çalışmada, iyon birikimi açısından tolerant olan çeşitlerde Na birikiminin hassas çeşitlere göre daha az olduğu bildirilmektedir.

Tuz stres faktörünün bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak maksadıyla sıkça başvurulan yollardan biri organizmadaki klorofil içeriğini belirlemektir. Klorofil miktarı, yüksek tuz konsantrasyonlarında kontrole göre azalmaktadır (Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; Sivritepe, 1995). Tuz stresi, bitkinin ölümüne neden olabildiği gibi tolerans durumuna bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroplastların tahrip olması nedeniyle kloroz ve nekrotik lekelerin oluşumuna yol açabilmektedir (Hasegawa ve ark., 1986). Kavun ve acur genotiplerinde de tuz uygulaması, büyük bir çoğunlukla klorofil miktarında azalmaya neden olmuştur. Klorofildeki azalma, kavun yapraklarının sararması ile kendini göstermiş olup bunun hemen ardından kurumalar meydana gelmiştir.

Yüksek tuz konsantrasyonlarında; iyon birikimi stomaların açılıp kapanmasındaki düzensizlikler nedeniyle toplam klorofil miktarında azalmalar

olmakta bunun sonucu olarak fotosentez etkinliğinin azalarak bitkinin gelişiminde gerilemeler ortaya çıkmaktadır.

Bu bilgiler ışığında *O.majorana* 'da yapılan klorofil tayininde tuz konsantrasyonu arttıka klorofil-a ve klorofil-b'de kontrol grubuna göre dş görülmüştür. Karotenoid miktarı ise en yüksek % 0.03 gr'lık tuz stresindeki bitkide görülmüştür.

Vicia faba'da L. yapraklardaki klorofil-a ve klorofil-b içeriği deniz suyu ile sulama yapıldığı süre boyunca azalma göstermiştir. Diğer taraftan karotenoid içeriği düşük ve orta miktarda deniz suyu sulamasında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış görülmüştür (Mohamed & Mohamed, 2009).

Tüm bu bulgulara göre düşük miktarda tuzun *O.onites* ve *O.majorana*'nın gelişimini engellemediği görülmüştür. Artan tuz miktarına bağlı olarak gelişim yavaşlamıştır.

KAYNAKLAR

Aktas, H. (2002) *Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı*. Ç.Ü Fen Bilimleri Enst. (doktora tezi), Adana, 105 s.

Al-Karaki, G.N. 2000. Growth, Water Use efficiency and Sodium and Potassium acquisition by Tomato Cultivars grown Under Salt Stress. *J. of Plant Nutrition* 23 (1): 1-8.

Anonim (2007), <http://www.dogalTEDAVI.net>

Anonim (2008),

http://www.genbilim.com/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=3132.

Başer, K.H.C. (2001) *Her Derde Deva Bir Bitki Kekik*, Bilim ve Teknik, Mayıs, 74-77.

Başer, K.H.C. (1995) *Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey*. Proceedings of the 13 th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, İstanbul, Turkey, 15-19 October 1995, 67-79.

Bohra, J.S., Döfling , K., (1993) *Potassium Nutrition of Rice (Oryza sativa L.) Varieties Under NaCl Salinity*. Plant and Soil 152: 299-303.

Çevik, B., (1986) *Toprak Su Koruma Mühendisliği*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 108, Adana.

Çiçek, N. ve Çakırlar, H., (2002) *The Effect of Salinity on Some Physiol. Parameters in two Maize Cult.* Bulg. J.Plant Physiol.,28(1-2),66-74.

Chow, W.S., Ball, M.C., Anderson, J.M. (1996) *Grow and Photosynthetic Response of Spinach to Salinity: Implications of K Nutrition for Salt Tolerance*. Aust. J. Plant Physiol., 17: 563-578.

Cramer. G.H., Epstein, E., Lauchli, A. (1988) *Kinetics of Root Elongation of Maize in Response to Short-Term Exposure to NaCl and Elevated Calcium Concentrasyo* J.Exp. Bot. 39: 1513-1522.

Dasgon, H.Y., Aktas, H., Abak, K., Çakmak, L., 2002. Determination of Screening Techniques to Salinity Tolerance in Tomatoes and Investigation of Genotype Responses. *Plant Science* 163 (2002) 695-703.

Demir, K. (1992) *Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Bes Degisik Fasulye Çesidinde Çimlenme, Çıkıs ve Fide Gelisimi Üzerine Etkileri* GAP 1. Sebze Tarımı Sempozyumu, Şanlı Urfa, 335-342.

Elliatioğlu, Ş. (2000) *Doku kültürü uygulamalarında kararmayı engelleme yöntemleri*, Biyoteknoloji Dergisi, 24, 38-39.

Elliatioğlu, S., Tıprıdamaz, R., (1998) *Doku Kültürünün Tuz Stresine Dayanıklılıktaki Kullanımı* Bitkilerde stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu, 22-26 Haziran 1998, Bornova-zmir, s: 70-81.

Franco, J.A., Estaban, C., Rodriguez, C., 1993. Effect of Salinity on Various Growth Stages of Muskmelon cv. Revigal. *J. Hort., Sci.* 68:899-904.

Greenway, H., Munns, R., 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhallophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31:149-190.

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, A.V. (1986) *Cellular mechanisms of salinity tolerance* Hort. Sci., 21:1317-1324.

Heimler, D., Tatini, M., Tici, S., Coradeshi, M.A., Traversi, M.L. (1995) *Growth, Ion Accumulation and Lipid Composition of Two Olive Genotypes Under Salinity* J. Plant Nutrition, 18: 1723-1734.

Karanlık, S. (2001) *Değişik Bugday Genotiplerinde Tuz Stresine Dayanıklılık ve Dayanıklılığın Fizyolojik Nedenlerinin Araştırılması* (doktora tezi). Ç.Ü.Fen Bil. Enst., Adana.

Kaya, C., Kırmak, H., Higgs, D., Saltalı, K., 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. *Sci. Horti.* 93, 65-74

Kocaçalışkan, İ. (2002) *Bitki Fizyolojisi*, 2.Baskı, Kütahya

Levitt, J. (1980) *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Vol. II, 2 ed. Academic Press, New York, pp:607.

Lopez, M.V., Satti, S.M.E. (1996) *Calcium and Potassium –Enhanced Growth and Yield of Tomato Under Sodium Chloride Stress* Plant Sci., 114: 19-27.

Mer, R.K., Prajith., P.K., Pandya, D.H., Pndey, A.N. (2000) *Effect of Salt on germination of seeds and Growth Young Plants of Hordeum vulgare, Triticum aestivum, Cicer arietinum and Brassica juncea* J. Gron. Crop. Sci. 185:209-217.

Mohamed, M. A. Ve Mohamed A. A. (2009) *The inductive role of Vitamin C and its Mode of Application on rowth, Water Status, Antioxidant Enzyme Activities and Protein Patterns of Vicia faba L. Cv. Hassawi Grown under Seawater Irrigation* American Journal of Plant Physiology, 4(1) 38-51.

Munns, R., Termaat, A. (1986) *Whole-Plant Responses to Salinity* Aust. J. Plant Physiol., 13: 143-160.

Nelson, H., Paris, H.S. (1984) *Effects of Salinity on Germination, Seedling Growth and Yield of Melons* Irrigation Science-5:265-273.

Nui, X., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., Pardo, J.M. (1995) *Ion Homeostasis in NaCl Stress Environments* Plant Physiol. 109: 479-486.

Olivier, W.G. (1997) *The World Market of Oregano*, In: Padulosi, S (Ed)., *Oregano Proceedings of the IPGRI International Workshop*, IPGRI, Rome, s 144.

Oflaz, S. (2001) *Ticari Origanum Türlerinin Farmakognozik Araştırması* Anadolu Ünivrsitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi).

Önder N. ve Yentür, S (1999) *Bitkilerin Büyüme Gelişme Farklılaşma ve Hareket Fizyolojisi* İ.Ü. Yayınları, İstanbul.

Reddy MP ve Vora AB. (1986) *Changes in pigment composition, Hill Reaction activity and saccharides metabolism in bajra (Pennisetum typhoides S&H) leaves under NaCl salinity* Photosynthica 20:50-55.

Santos, C. (2004) *Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stres in sunflower leaves* Scientia Horticulturae 103:93-99.

Scardaci, S.C., Eke, A.U., Hill, J.E., Shannon, M.C. and Rhoades, J.D., 2002. *Water and Soil Salinity Studies on California Rice*. U.S. Salinity Lab., USDA, 450w. CA, 92507, California

Sivritepe, N. (1995) *Asmalarda Tuza Dyanıklılık Testleri ve Tuza Dayanımda Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Arastirmalar* Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, (Doktora Tezi), Bursa, 176s.

Snapp, S.S., Shennan, C. (1992) *Effects of Salinity of Root and Deth Dynamics of Tomato, Lycopersicum esculantum Mill*, New Phytol. 121: 71-79.

Sönmez, B. (1990) *Tuzlu ve Sodyumlu Topraklar*. TOKB Köy Hizmetleri Sanlı Urfa Arastırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 62:60 s.

Strain, H.H. ve Svec, W.A. (1966) *Extraction, Separation, Estimation and Isolation of Chlorophylls. In The Chlorophylls*, Vernon, L.P. ; Seely, G.R. Acad. Press, N.Y. 21-66.

Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, S. 1994. *Domates Genotiplerinde Tuza Dayanımlılığın Belirlenmesinde Değişik Tekniklerin Kullanımı*. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, Yayın No: 1358, Bilimsel Ar. Ve İnc.: 752, 21s.

Yasar, F. (2003) *Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin in vitro ve in vivo Olarak incelenmesi* (Doktora Tezi) Y.Y.Ü. Fen Bil. Enst., Van.

Zhu L., J.S. Boyer (1992), *Plant Physiol.* 100: 2071–2080.

W. M. Kaiser, H. Weber, M. Sauer, Z. (1983) *Pflanzenphysiol. Bd.* 113, 15.

Yu, B., Gong, H., Liu, Y. (1978) *Effects of Calcium on Lipit Composition and Function of Plasma Membrane and Tonoplast Vesicles Isolated from Roots of Barley Seedlings Under Salt Stres* J. Plant Nutr. 21:1589-1600.

Yurtseven, E., 2000. Patlıcanda (*Solunum melongena L.*) Su Tüketimine Tuzluluğun Etkisi. Toprak Su Dergisi, Sayı: 2, Ankara.