

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**BAZI ABİYOTİK STRESLERİN PROLİNLE DESTEKLENEN
TURUNÇGİL ANACI ÇÖĞÜRLERİ ÜZERİNE MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK
VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ**

Zeynep ÜNAL

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EYLÜL 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ABİYOTİK STRESLERİN PROLİNLE DESTEKLENEN
TURUNÇGİL ANACI ÇÖĞÜRLERİ ÜZERİNE MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK
VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ**

**Zeynep ÜNAL
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2018-4060 nolu proje ile desteklenmiştir.

EYLÜL 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ABİYOTİK STRESLERİN PROLİNLE DESTEKLENEN
TURUNÇGİL ANACI ÇÖĞÜRLERİ ÜZERİNE MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK
VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

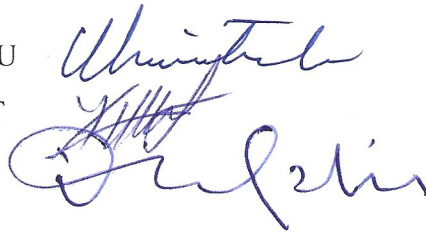
Zeynep ÜNAL
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 02/09/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi İlhami TOZLU

Prof. Dr. Yaşar KARAKURT

Doç. Dr. Özer ÇALIŞ



ÖZET

BAZI ABİYOTİK STRESLERİN PROLİNLE DESTEKLENEN TURUNÇGİL ANACI ÇÖĞÜRLERİ ÜZERİNDE MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

Zeynep ÜNAL

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İlhami TOZLU

Eylül 2019; 127 sayfa

Turunçgiller cinsinin içinde yer aldığı Aurantiodeae alt familyası yaklaşık 3600 türü içeren dinamik bir bitki topluluğundan oluşmuştur. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de en fazla yetiştirilen ve en yüksek ihracat değerine sahip meyve grubunu oluşturmaktadır. Ticari anlamda en yüksek üretim değerleri sırasıyla; portakal, mandarin, limon ve altıntop türlerine aittir. Tüm bitkiler gibi turunçgillerin de yaşamları sürecinde karşılaştıkları farklı ekolojik koşullar nedeniyle fizyolojik ve metabolik aktiviteleri etkilenebilmektedir. Bitkinin biyolojik sistem veya fonksiyonuna zarar veren, bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyen güç, durum veya madde faktörleri stres olarak tanımlanmaktadır. Stres faktörleri, orijinlerine göre değişik şekillerde sınıflandırılabilirler. Bunlar biyotik (parazit bitki, hayvan, patojen ve çeşitli antropojenik aktiviteler) ve abiyotik stres faktörleri (oksidatif stress, ağır metal, tuz, kuraklık, düşük-yüksek sıcaklık, su baskını, radyasyon, tarımsal ilaçlar) olarak isimlendirilmektedirler. Tuzluluk ve kuraklık gibi abiyotik stresler biyosferi ve onun parçaları olan ekosistemleri oluşturan canlı ve cansız tüm unsurları olumsuz etkilemekte ve tarımsal açıdan da büyük ölçüde kayıplara neden olabilmektedir. Bitki bünyesinde oluşan tuz birikimi bitkilerin fizyolojik aktivitelerini etkilemekte, verimliliklerini düşürmekte sonuçta da ürün kaybına ve kalitesinin düşmesine yol açmaktadır. Bitkilerin stresin zararlı etkilerine karşı dayanım performansları bitkinin metabolik faaliyetleri, stresin türü, maruz kalma süresi ve stresin dozuna doza bağlı olarak farklılık göstermektedir. Kuraklık ve tuzluluk gibi osmotik stresler bitki morfolojisini etkilemekte ve ortak bir savunma mekanizması olarak saçak köklerde artışa neden olabilmektedirler. Bu nedenle stresin etkisi üzerine stres türü, miktarı, bitkideki yarar-zarar eşiği ve şiddeti bitki fizyolojisi ve gelişimi açısından oldukça büyük önem arz etmektedir. Osmoregülasyonu etkileyen kuraklık stresi de yarı kurak iklimlerde çok yaygın olarak görülen, bitki büyümesi, gelişimi ve veriminde azalmaya neden olan en önemli abiyotik streslerden birisidir. Küresel ısınmanın bir sonucu olarak ortaya çıkan kuraklık stresi özellikle azalan su kaynakları nedeniyle kuraklık ve çölleşme ile sonuçlanmakta buda biosferi bozmakta ve sonuçta tarımsal verimlilik azalmaktadır. Kuraklık stresinin etkilediği ortamlarda bitkilerin tepkilerini ve savunma mekanizmalarını anlamak, bitkileri strese karşı daha toleranslı hale getirmenin önemli bir parçasıdır. Araştırmada Carrizo anacı ile kuraklık ve tuzluluk streslerinin tercihi bu streslere karşı var olan olası savunma mekanizmalarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bitkilerde oluşan stres etkileri dışsal bir takım uygulamalar ile azaltılabilir, dayanımı artırılabilir, ya da onarılabilir. Prolin, stres koşulları altında yetişen bitkilerde birikimi en fazla olan ve basit bir kimyasal yapı ile en düşük molekül ağırlığına sahip

bir amino asittir. Bitkilerin su noksanlığı, soğuk, ağır metaller, sıcaklık ve tuzluluk gibi osmotik streslere maruz kaldığı koşullarda ilk fizyolojik tepkisi olarak ortaya çıkan ve hücre içindeki vakuolde konsantrasyonunun artmasıyla strese karşı ne kadar ve hangi oranda bitkinin dayanıklı olabileceğinin bir göstergesidir. Prolinin hücre içindeki yoğunluğunun artması strese karşı bir indikatör olup, aynı zamanda da bitkinin bu strese karşı savunma mekanizmasını harekete geçiren bir dizi metabolik reaksiyonun ilk basamağını oluşturmaktadır.

Abiyotik streslerin neden olduğu üretim kaybına karşı turuncgillerin davranış mekanizmalarının bilinmesi ve strese karşı korunma tedbirlerinin alınması üretim miktarlarının azalmasını engelleyebilecektir. Bu çalışmada, kuraklık ve tuzluluk streslerinin bireysel ve kombine etkileri, fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal parametreler bakımından topraksız koşullarda yetiştirilen Carrizo anacı üzerinde incelenmiştir. Bu amaçla uygulamaların etkisini net olarak ortaya konması için topraksız tarım ortamında kontrol, PEG 6000, PEG 6000 + prolin, PEG 6000 + Mikoriza, NaCl, NaCl + prolin, NaCl + mikoriza, NaCl + PEG 6000, NaCl + PEG 6000 + Mikoriza. Mikoriza uygulamaları olmak üzere 10 farklı stres ve ozmoprotektanlı kombinasyonların tuzluluk ve kuraklık stresine karşı gösterdiği tepkiler bitkinin bütün aksamlarında çalışılmıştır. Denemede üç tekerrürlü bölünen bölünmüş parseller deneme deseni kullanılmış ve her tekerrürde 5 çöğür kullanılmıştır. Değerlendirmeler, çimlenmiş ve gerçek yaprağını oluşturmuş (2-3 aylık) çöğürler ile başlamış ve 15 haftalık strese maruz bırakılmıştır. Stres sürecinde öngörülen morfolojik ve fizyolojik ölçümler yapılacak, deneme bitiminde de yine morfolojik analizler yanında kimyasal ve biyokimyasal analizler (MDA, LOX, APX, GR, SOD, POD, CAT) yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, Carrizo çöğürleri üzerine uygulanan streslerin sebep olduğu morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler ortaya koyulmuştur.

Sonuç olarak; Bitki büyüme ve gelişmesi üzerine incelenen parametrelerin sonuçlarında, arbusküler mikorizal fungus ile inokülasyonunun tuzlu koşullarda yetişen turuncgil çöğürlerinin büyümesini artırmıştır. Fizyolojik yaprak parametreleri sonuçlarına göre Carrizo çöğürleri üzerine mikoriza kolonizasyonunda en iyi sonuç saptanmıştır. Mikorizal kolonizasyon Cu miktarı alımını kısıtladığı sonucuna varılmıştır. Antioksidan enzimlerin (MDA, LOX, APX, GR, SOD, POD, CAT) her biri Tuz uygulaması bulunan çöğürlerde en yüksek değeri göstermektedir. Çalışmada Prolin analizinde yapraklarda uygulamalar arası herhangi bir farkın bulunmaması stres miktarının bitki bünyesinde maksimum düzeyde bulunmasından dolayı dışsal prolin uygulamasının bitki üzerine bir etkisi olmadığı sonucunu göstermektedir. Köklerde yapılan prolin analizinde ise M uygulamasının en düşük grupta yer alması Mikorizal kolonizasyonun köklerde daha aktif rol oynamasından kaynaklandığını göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Kök Morfolojisi, MDA-LOX-APX-GR-SOD-POD-CAT, PEG-6000-Polietilen Glikol, Osmotik Stres, Tuzluluk,

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi İlhami TOZLU

Prof. Dr. Yaşar KARAKURT

Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF SOME ABIOTIC STRESSES ON PROLINE-SUPPORTED CITRUS ROOTSTOCKS

Zeynep ÜNAL

MSc. Thesis in Horticulture

Supervisor: Assist. Prof. Dr. İlhami TOZLU

September 2019, 127 pages

The Aurantioideae sub-family, in which citrus species are classified, consists of a dynamic plant group with approximately 3600 species. As in the world, among the all fruit groups, citrus is the highest in both amount produced and export value in our country. The highest commercial production values belong to the types of orange, mandarin, lemon and grapefruits, respectively. Like all plants, the physiological and metabolic activities of citrus fruits can be affected from different ecological conditions encountered during their life cycle. The situations in which plant's biological system or function damaged, plant growth and development adversely affected are defined as stress. Stress factors can be classified in different ways according to their origins. These are called biotic (parasitic plant, animal, pathogen and various anthropogenic activities) and abiotic stress factors (oxidative stress, heavy metal, salt, drought, low-high temperature, water flooding, radiation, agricultural drugs). Abiotic stresses, such as salinity and drought, negatively affect all living and non-living elements that form the biosphere and its components, and can lead big losses in agricultural systems. The salt accumulation within the plant affects the physiological activity of plants, decreasing their productivity, resulting in product loss and decrease in quality. The performance of the plants against the harmful effects of stress varies depending on the metabolic activity of the plant, type of stress, duration of exposure and dose of stress. Osmotic stresses such as drought and salinity affect plant morphology and cause an increase in fibrous roots as a common defence mechanism. For this reason, stress type, amount, severity and benefit-harm threshold in plants are of great importance in terms of plant physiology and development. Drought stress affecting osmoregulation is also one of the most important abiotic stress that causes decrease in plant growth, development and yield in semi-dry climates. The drought stress is a result of global warming, especially due to decreasing water resources, leads to drought and desertification and this disrupts the biosphere and consequently decreases agricultural productivity. Understanding the responses and defence mechanisms of plants in environments affected by drought stress is an important part of making plants more tolerant to stress. In this study, the preference of drought and salinity stress on Carrizo rootstocks is to determine its potential defence mechanisms against these stresses. Stress effects to plants can be reduced, increased, or repaired with external applications. Proline is an amino acid with the highest accumulation in plants grown under stress conditions and having the lowest molecular weight with a simple chemical structure. Increased amount of proline concentration in vacuoles and within the cell is the first physiological reaction of plants in osmotic stress conditions including; water deficiency, cold, heavy metals,

temperature and salinity and it is an indicator of how much and the extent of the plant can be resistant to a given stress. The increase in the concentration of the proline in the cell is an indicator of stress, and it is also the first step in a series of metabolic reactions that trigger the plant's defence mechanism against stress.

Knowing the mechanisms of behaviour of citrus against the loss of production caused by abiotic stresses and taking measures to protect against stress may prevent the reduction of production amounts. In this study, individual and combined effects of drought and salinity stress were investigated on Carrizo rootstocks grown in soilless conditions in terms of physiological, morphological and biochemical parameters. For this purpose, 10 ten different treatments including; control, PEG 6000, peg 6000 + prolin, PEG 6000 + Mikoriza, NaCl, NaCl + PROLIN, NaCl + Mikoriza, NaCl + peg 6000, NaCl + mikoriza, NaCl + peg 6000 + mikoriza were studied on all organs of Carrizo seedlings grown in the soilless media. In the experiment, split parcel design with three replication each of which contains five seedlings were used. The experiment were carried on 2-3 months old real leaf formed seedlings that were subjected to 15 weeks of stress. While planned morpho-physiological analyses were carried during the assaying period, chemical and biochemical analyses (MDA, LOX, APX, GR, SOD, POD, CAT) were performed at the end of the trial.

In summary; as a result of the parameters examined on plant growth and development, inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi increased the growth of citrus seedlings grown in saline environment. According to the results of physiological leaf parameters, the best results were found in mycorrhizal colonization on Carrizo seedlings. Mycorrhizal colonization was found to limit the intake of Cu. Each of the antioxidant enzymes (MDA, LOX, APX, GR, SOD, POD, CAT) shows the highest value in seedlings with salt application. In the study, it was concluded that there was no effect of exogenous proline application on the plant due to the fact that there was no difference leaf prolin levels among the treatments. In the roots, on the other hand, the lowest proline level found in the roots of M treatment suggested that mycorrhizal colonization was probably reduced the effect of stress that stimulates the proline production in the roots.

KEYWORDS: MDA-LOX-APX-GR-SOD-POD-CAT, PEG 6000-Polyethylene Glycol, Root Morphology, Osmotic Stress, Salinity

COMMITTEE: Assist. Prof. Dr. İlhami TOZLU

Prof. Dr. Yaşar KARAKURT

Assist. Prof. Dr. Özer ÇALIŞ

ÖNSÖZ

Tuzluluk ve kuraklık gibi abiyotik stresler biyosferi ve onun parçaları olan ekosistemleri oluşturan canlı ve cansız tüm unsurları olumsuz etkilemekte, tarımsal açıdan da büyük ölçüde kayıplara neden olabilmektedir. Bitki bünyesinde oluşan stres birikimi bitkilerin fizyolojik aktivitelerini etkilemekte, verimliliklerini düşürmekte dolayısıyla ürün kalitesi ve miktarının azalmasına yol açmaktadır. Araştırmada kullanılacak basit ama etkin stratejik teknikler ile turunçgil fidan üretiminde bazıları ilk kez denenmiş olan yeni uygulamalar, ülkemizin sürdürülebilir turunçgil meyveciliğine azımsanmayacak ölçüde pozitif katkı sağlaması amaçlanmıştır. Bu çalışmanın Carrizo çöğürlerinin fizyolojik bakımdan belirlenen tuzluluk ve kuraklık streslerine karşı gösterdiği tepkiler osmotik uyum mekanizmalarının belirlenmesine katkı sağlaması ve öncülük etmesi hedeflenmiştir.

Yüksek Lisans eğitimimin her aşamasında bilgi, deneyim ve fikirleri ile bana daima yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi İlhami TOZLU'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecimde laboratuvar imkanı sağlayarak çalışmamda bulunan analizlerin gerçekleştirilmesi konusunda bilgi, öneri ve olanaklarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Özer ÇALIŞ'a ve Prof. Dr. Yaşar KARAKURT'a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimimde beni yönlendiren, daima yardım ve önerileri ile destekleyen, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK'e, Prof. Dr. Mustafa Erkan'a ve Prof. Dr. Halil İbrahim UZUN'a çalışmalarım süresince gösterdikleri özveri için çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın sonucunda tüm yoğunluğuna rağmen bana vakit ayırarak istatistiksel analizlerimin yapılmasında beni yönlendiren ve yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Kemal KARABAĞ'a çok teşekkür ederim.

Çalışmamda kullandığım klorofil floresans cihazı için Prof. Dr. Taner AKAR'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Kullandığım ortamın materyal temini konusunda yardımcı olmuş olan hocam Prof. Dr. Sadık ÇAKMAKÇI'yı rahmetle anıyorum.

Tezim için gereken bitkisel materyalin teminini sağlayan Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve uygulama materyalimin teminini sağlayarak bilime katkı adı altında çalışmamda büyük desteği olan Doktor Tarsa Tarım'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesi ile daima yardımcı olan Öğretim Görevlisi Recep BALKIÇ'a, Ar. Gör. Adem DOĞAN'a, Ar. Gör. F. Burcu ÇELİKLİ'ye ve Zir. Yük. Müh. Lokman ALTINKAYA'ya teşekkür ederim.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim boyunca katkı ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yardımlarını aldığım ve alabileceğimi bildiğim değerli büyüklerim Mehmet ATILGAN'a ve Mithat ATILGAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitim hayatım boyunca bana bilimsel ve akademik bir ufuk kazandıran Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü tüm değerli Hocalarıma, Araştırma Görevlileri arkadaşlarıma ve Bahçe Bitkileri Bölümü tüm idari personeline çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın laboratuvar analizlerinde emeği olan Zir. Yük. Müh. Sercan ÖNDER'e, Zir. Müh. Gülşen ERBERK'e ve arazi çalışmalarımın yürütülmesinde yardımcı olan Lisans öğrencisi Burcu İNAN'a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans öğrenimime başladığım ilk günden itibaren her zaman yanımda olan, fikirleri ve bakış açısıyla bana hep ivme kazandıran ve hayatım boyunca altına imzamı atacağım her çalışmada emeği ve sevgisi olacağını bildiğim değerli arkadaşlarım Zir. Yük. Müh. Duygu MIŞRAKLI'ya, Zir. Müh. Gizem DEMİRKAPLAN'a, Zir. Müh. Seren SARGIN'a, Zir. Müh. Emine KOĞAR'a, Zir. Müh. Ayşe KATGICI'ya ve değerli Zir. Müh. Yusuf KAÇAR'a çok teşekkür ederim.

Son olarak, hayatım boyunca varlıkları ile bana daima güç veren, her zaman büyük bir sabırla her sıkıntının üstesinden gelmemi sağlayan, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, daima arkamda olduğunu bildiğim ve en önemlisi her an aklımda olup bana umut vererek tutunabilmemi sağlayan, sevgili annem Emel ÜNAL'a, sevgili babam Hakan ÜNAL'a, canım kardeşim Sena ÜNAL'a tüm sevgi ve özverileri için çok teşekkür ederim.

Her zaman her koşulda bana en büyük desteği, sevgiyi ve emeği veren, doğruyu, başarmayı ve samimiyeti öğreterek daima sığınabileceğim en güzel yerin kalpleri olduğunu bildiğim canım dedem Hasan KATI'ya ve canım anneannem Zeynep KATI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	8
2.1. Stresin Anlam ve Önemi.....	8
2.1.1. Strese karşı bitkilerin savunma mekanizmaları	10
2.1.1.1 Stresten kaçınma	10
2.1.1.2. Strese tolerans	11
2.2. Tuz Stresi.....	11
2.2.1. Bitkilerde tuz stresine karşı geliştirilen mekanizmalar.....	20
2.3. Kuraklık Stresi.....	23
2.3.1. Bitkilerde kuraklık stresine karşı geliştirilen mekanizmalar	33
2.4. Düzenleyici Osmolitlerin Biyosentezi ve Prolin	36
2.5. Bitkisel Üretimde Mikoriza (Mantar).....	41
3. MATERYAL VE METOT.....	46
3.1. Materyal	46
3.1.1. Bitkisel materyal	46
3.1.1.1.Carrizo sitranjı (<i>Citrus sinensis</i> Osb. X <i>Poncirus trifoliata</i> Raf.).....	46
3.2. Metot	47
3.2.1. Uygulamalar	47
3.2.2. Uygulamalarda kullanılacak olan ürünler ve uygulama şekilleri	49
3.2.3. Çöğür üretim seraları	50
3.2.4. Kültürel işlemler	50
3.2.5. Sıcaklık ölçümleri.....	50
3.2.6. Çöğürlerde bitki büyümesi ve gelişmesi ölçümleri	52
3.2.7. Fizyolojik yaprak parametreleri.....	53

3.2.8. Dokuların bitki besin elementi içerikleri	54
3.2.9. Kök ve rhizosferde bulunan mikroorganizmalar	55
3.2.10. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi.....	60
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	69
4.1. Bitki Büyüme ve Gelişmesi.....	69
4.1.1. Çap ölçümleri.....	69
4.1.2. Bitki boy ölçümleri	73
4.1.3. Toprak üstü ve altı organların kuru ve yaş ağırlık ölçümleri.....	74
4.2. Fizyolojik Yaprak Parametrelerinin Değerlendirilmesi	78
4.3. Uygulamaların Kök ve Yaprak Dokularındaki Bitki Besin Elementi İçerikleri ..	81
4.4. Kök ve Kök Bölgesinde İncelenen Mikroorganizmalar	87
4.4.1. Mikoriza tayini.....	87
4.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri.....	91
5. SONUÇLAR	96
6. KAYNAKLAR	100
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Bazı Abiyotik Streslerin Mikoriza ve Prolinle Desteklenen Turunçgil Anacı Çöğürleri Üzerine Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

02/09/2019

Zeynep ÜNAL



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

-	:Eksi
%	:Yüzde
+	:Artı
<	:Küçüktür
≥	:Büyük Eşittir
μ	:Mikro
μm	:Mikrometre
μmol	:Mikroequivalent
°C	:Santigrat derece
cm	:Santimetre
Cm ²	:Santimetrekaire
Cm ³	:Santimetrekaip
Da	:Dekar
G	:Gram
Ha	.Hektar
Kg	:Kilogram
L	: Litre
m	:Metre
m ³	: Metrekaip
ml	:Mililitre
Mm	:Milimetre
Mm ²	:Milimetrekaire
Mmol	:Milimol
Nm	:Nanometre

Kısaltmalar

AAS	:Atomik Absorbsiyon Spektrometre
ABA	:Absisik Asit
AKİB	:Akdeniz İhracatçı Birlikleri
AMF	:Arbusküler Vesiküler Mikoriza
AN	:Net CO ₂ Asimilasyon Oranı
APX	:Askorbat peroksidaz
B	:Bor
BATEM	:Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
BSA	:Bovine Serum Albümin
BSG	:Bitki Su Gerilimi
BSP	:Bitki Su Potansiyeli
Ca(NO ₃) ₂	:Kalsiyum Nitrat
Ca ⁺²	:Kalsiyum
CaCl ₂	:Kalsiyum Klorür
CaCO ₃	:Kalsiyum Karbonat
Cad	:Kadaverin
CaSO ₄	:Kalsiyum Sülfat
CAT	:Katalaz
CEV	:Turunçgil Cüceleşme Virüsü
Cl ⁻	:Klor
CO ₂	:Karbondioksit
CO ₃	:Karbonat
CTV	:Citrus Tristeza Virüsü
Cu	:Bakır
DAB	:Diaminodenzidin-tetrahidroklorid dihidrat

Dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
EC	:Elektriksel iletkenlik
EDTA	:Etilendiamintetraasetik asit
ERS	:Endo Roots Soluable
FAO	:Food and Agriculture Organization of the United Nations
Fe	:Demir
Fm	:Maksimum Flouresans
Fv	:Değişken Flouresans
GB	:Glisin – Betain
GR	:Glutasyon Redüktaz
Gs	:Stoma İletkenliği
H ⁺	:Hidrojen
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	:Hidrojen Peroksit
HCl	:Hidroklorik asit
HCO ₃	:Bikarbonat
HKT	:High Affinity Potassium Transporter
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
K	:Kuraklık
K ⁺	:Potasyum
K+M	:Kuraklık+Mikoriza
K+PR	:Kuraklık+Prolin
K ₂ O	:Potasyum oksit
KNO ₃	:Potasyum Nitrat
KOH	:Potasyum Hidroksit

LCT	:Low Affinity Cation Transporter
LOX	:Lipoksigenaz
M	:Mikoriza
MDA	:Malondialdehit
Mg	:Magnezyum
MgCl ₂	:Magnezyum Klorür
MgSO ₄	:Magnezyum Sülfat
Mn	:Mangan
MPa	:Megapaskal
MT	:Murashige ve Tucker
N	:Azot
NA	: Nutrient Agar
Na ⁺	:Sodyum
Na ₂ CO ₃	:Sodyum Karbonat
Na ₂ EDTA	:Etilendiamintetra Asetik Asit
Na ₂ NO ₃	:Sodyum Nitrat
Na ₂ O	:Sodyum oksit
Na ₂ SO ₄	:Sodyum Sülfat
NaCl	:Sodyum klorür
NADPH	:Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaHCO ₃	:Sodyum bikarbonat
NaOH	:Sodyum Hidroksit
NBT	:Nitroblue Tetrazolium
NH ₄	:Amonyum
NHX	:Na ⁺ / H ⁺ antiportları
NHX	:Na ⁺ / H ⁺ antiportları

NO ₃	:Nitrat
NSCC	: None Selective Cation Chanals
O ₂ ⁻	: Süperoksit
OH ⁻	:Hidroksit
P	:Fosfor
P ₂ O ₅	:Fosfor Pentaoksit
P5CR	:Prolin-5-karbolsilat Redüktaz
P5CS	:Prolin-5-karbolsilat Sentetaz
PAR	:Fotosentetik Aktif Reaksiyon
PDA	:Patates Dekstroz Agar
PEG	:Polietilen Glikol
pH	:Hidrojen iyon konsantrasyonunun negatif logaritması
POD	:Peroksidaz
ppm	:Milyonda bir kısım
PRD	:Partial Rootzone Drying
PS	:Potansiyel Tuzluluk
PSII	:Photon Systems II
Put	:Putresin
QY	:Kuantum Verimi
RNA	:Ribonükleik Asit
ROT	:Reaktif Oksijen Türleri
RSC	:Kalıcı Sodyum Karbonat
RuBPCase	:Ribuloz 1-5-bisphosphate karboksilaz
SAR	:Sodyum Adsorpsiyon Oranı
SO ₄	:Sülfat
SOD	:Süperoksit dismutaz

Spd	:Spermidin
Spm	:Spermin
T	:Tuz
T+K	:Tuz+Kuraklık
T+K+M	:Tuz+Kuraklık+Mikoriza
T+M	:Tuz+Mikoriza
T+PR	:Tuz+Prolin
TBA	:Thiobarbütirik Acid
TCA	:Trichloro Aceticacid
TÜİK	:Türkiye İstatistik Kurumu
USDA	:Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
VAM	:Vesiküler-Arbüsküler Mikoriza
Vd	:Ve diğerleri
Zn	:Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Abiyotik streslere karşı bitkisel tepki dinamikleri (Kosová ve ark, 2011).	9
Şekil 2.2. Bitkilerde strese dayanıklılık, stresi önleme ve tolerans mekanizmaları.....	9
Şekil 2.3. Sodyum'un toprak- kök ve iletim demetlerindeki hareketinin şematik gösterimi (Apse ve Blumwald, 2007'den modifiye edilerek alınmıştır).....	22
Şekil 2.4. Uzun (sol) veya kısa (sağ) dönem kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde gözlenen değişimler (Chaves ve ark., 2003).....	27
Şekil 2.5 Kuraklık stresi ile mücadelede bitkiler tarafından kullanılan mekanizmaların sınıflandırılması (Mundree vd. 2002).....	35
Şekil 3.1. Hava budamaya uygun tabansız saksı görünümü.....	48
Şekil 3.2. Bençler üzerine dizayn edilmiş ızgara sisteminin görünümü	48
Şekil 3.3. Deneme süresince serada aylara bağlı olarak saptanan minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık değerleri.....	51
Şekil 3.4. Deneme süresince serada aylara bağlı olarak saptanan minimum, ortalama ve maksimum nem değerleri	51
Şekil 3.5. Deneme başlangıcında farklı uygulamalara tabi tutulacak bitkilerinin ilk görüntüleri	52
Şekil 3.6. Bitkinin tüm aksamalarında örneklenen kök gövde ve yaprağın yaş görüntüleri	53
Şekil 3.7. Kök bölgesinden (rizosfer) hazırlanan ve mikoriza sayımı yapılacak olan solüsyonlar	56
Şekil 3.8. İnce köklerde Mikoriza uygulamalarında kök bünyesinde saptanacak enfeksiyonunun belirlenmesi için hazırlık aşamalarından görüntüler.	57
Şekil 3.9. Boyama işlemi yapılan köklerin lamaların üzerine taşınması.	58
Şekil 3.10. Topraktaki toplam bakteri sayısının belirlenme aşamaları.....	59
Şekil 3.11. Ekstraksiyon için hazırlanan ve tartılan kimyasallardan örnek bir aşama....	60
Şekil 3.12. Ekstraksiyon karıştırma aşaması.....	61
Şekil 3.13. Yaş yaprak ve kök örneklerinin sıvı azot ile parçalanması	61
Şekil 3.14. Parçalanmış örneklerin yapılan enzim analizine uygun ekstraksiyonları ile tüplere alınarak santifirüj edilmesi	62

Şekil 3.15. Santfirüj edilen örneklerin miracloth bezi ile süzülüp süpernatant kısmının analiz için ayrılması	62
Şekil 3.16. Süpernatant kısımları ayrılan örneklerin falcon tüplerine alınması ve enzim aktivitesinin belirlenmesi için örneklerin hazırlanması	63
Şekil 3.17. Total protein miktarının belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması Protein standartları (a), Protein analizi (b)	63
Şekil 3.18. Total prolin miktarının belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması ...	64
Şekil 3.19. MDA (Lipid peroksidasyonu) içeriğinin belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması (a) yaprak örnekleri (b) kök örnekleri	65
Şekil 3.20. LOX miktarının belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması.....	65
Şekil 3.21. Örneklerin APX miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması	66
Şekil 3.22. Örneklerin GR miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması	66
Şekil 3.23. Örneklerin SOD miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması	67
Şekil 3.24. Örneklerin POD miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması soldaki tüpler H ₂ O ₂ eklenmiş hali sağdaki tüpler H ₂ O ₂ eklenmemiş örnekler	67
Şekil 3.25. Örneklerin CAT miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması	68
Şekil 4.1. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında çap ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler.....	70
Şekil 4.2. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında boy ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler.....	73
Şekil 4.3. Carrizo çöğürlerinde T+K+M ve T+K uygulamasının araştırma s onunda ki durumu	74
Şekil 4.4. Carrizo çöğürlerinde analiz öncesi sırasıyla (soldan sağa) T+M, T, T+PR, T+K uygulamalarının görünümü	75
Şekil 4.5. Carrizo çöğürlerinde analiz öncesi K (a) ve K+M (b) uygulamalarının görünümü	76
Şekil 4.6. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında klorofil indeksi ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler	79
Şekil 4.7. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında klorofil floresans ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler	81
Şekil 4.8. Carrizo çöğürlerinin köklerinde M uygulamasında 10x10 (sol), 4x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü.....	88

Şekil 4.9. Carrizo çöğürlerinin köklerinde K+M uygulamasında 10x10 (sol), 4x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü.....	89
Şekil 4.10. Carrizo çöğürlerinin köklerinde T+M uygulamasında 10x10 (sol), 40x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü.....	89
Şekil 4.11. Carrizo çöğürlerinin köklerinde T+K+M uygulamasında 10x10 (sol), 4x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü.....	90
Şekil 4.12. Carrizo çöğürlerinde mikorizalı uygulamaların spor miktarını belirlemek için yapılan örnekleme ve meydana gelen enfeksiyonun görünümü	91



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 2017 yılı ülkeler bazında total turunçgil üretim miktarları (FAO, 2017).....	1
Çizelge 1.2. Dünyada toplam turunçgil üretim miktarlarının yıllara göre dağılımı (FAO, 2017).....	2
Çizelge 1.3. Türkiye toplam turunçgil üretim miktarının yıllara göre dağılımı (TÜİK, 2018).....	2
Çizelge 1.4. Türkiye için türler bazında toplam turunçgil üretim miktarları (TÜİK, 2017).....	3
Çizelge 2.1. Stresi etkileyen Abiyotik ve biyotik faktörler (Lewitt, 1980).	8
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan suyun fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları	55
Çizelge 4.1. Uygulamaların bitki büyüme ve gelişim parametreleri üzerine etkisi.....	71
Çizelge 4.2. Deneme boyunca devam eden uygulamaların klorofil indeksi ve klorofil floresansı üzerine Carrizo çöğürlerine etkisi.....	78
Çizelge 4.3. Uygulamaların Carrizo çöğürleri üzerine yapraktaki bitki besin elementi içerikleri	85
Çizelge 4.4. Uygulamaların Carrizo çöğürleri üzerine kökteki bitki besin elementi içerikleri	86
Çizelge 4.5. Carrizo çöğürlerinde kök bölgesinde mikoriza spor sayısı (adet) ve mikoriza enfeksiyon oranı (%)	87
Çizelge 4.6. Uygulamaların yaprak dokularında belirlenen antioksidan enzim aktiviteleri.....	94
Çizelge 4.7. Uygulamaların köklerinde belirlenen antioksidan enzim aktiviteleri.....	95

1. GİRİŞ

Turunçgiller cinsi (Citrus; n=9), Rutaceae familyası, Aurantioideae alt familyası içinde sınıflandırılmakta olup yaygın ticareti yapılan ekonomik türleri (portakal, limon, mandarin, vb.) bünyesinde barındırmaktadır. Ekvatorun 40. güney ve kuzey enlemleri arasında sıcaklığın -7 °C'nin altına düşmediği ekolojilerde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Turunçgil tür ve çeşitlerinin iki ayrı bölgeden ortaya çıktığı düşünülmektedir. Yaygın üretilen turunçgil türlerinin anavatanı; Hindistan, Malezya, Güneydoğu Çin, Filipinler, arasındaki Asya'nın tropik ve subtropik bölgeleri olarak kabul edilirken (Davies ve Albrigo 2005), daha önce yakın akraba cinsleri olarak anılan *C. australasica*, *C. glauca* gibi türler günümüzde Citrus içerisinde sınıflandırılmakta olup ana vatanları Avustralyadır.

Dünya üzerinde yaklaşık 9,5 milyon hektar alanda 146,4 milyon ton turunçgil üretimi yapılmaktadır. Gerek ülkemiz gerekse dünya nüfusunun artışına paralel olarak diğer tarımsal ürünlerde olduğu gibi turunçgil üretiminde de artışlar olmaktadır. Dünyadaki en büyük turunçgil üreticisi ülkeler; sırasıyla, Çin (38,853,849 ton), Brezilya (19,798,912 ton) ve Hindistan (11,419,000 ton) dır (FAO 2017), (Çizelge 1.1.).

Ülkemizde 2017 yılında 4,769,726 ton total turunçgil üretim miktarı kaydedilmiştir. (FAO 2017), (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. 2017 yılı ülkeler bazında total turunçgil üretim miktarları (FAO 2017)

Ülke	Toplam Üretim (ton)
Dünya	146599168
Çin	38,853,849
Brezilya	19,798,912
Hindistan	11,419,000
Meksika	8,273,673
ABD	7,002,308
İspanya	6,330,626
Türkiye	4,769,726
Mısır	4,396,242
Iran	3,351,058

Dünyada nüfusunun artışına paralel olarak turunçgil üretiminde de artışlar olmaktadır. Türkiye'de üretilen turunçgillerin % 63'ü iç piyasada tüketilirken (USDA–FAS 2017) 880 milyon dolar değerinde de ihracat yapılmaktadır. Ülkemizin 2017 yılında turunçgil ihracatı yaptığı ülkeler arasında Rusya Federasyonu, Irak ve Ukrayna ilk üç sırada olup, bu üç ülkeye yapılan ihracat toplam ihracatın % 67,6'sını oluşturmaktadır (AKİB 2018). TÜİK'e (2018) göre Türkiye'de turunçgil üretim alanları 135 bin hektara çıkmıştır. Türkiye'de toplam turunçgil üretiminin % 86,78'i Akdeniz, % 12,70'i Ege, % 0,29'u Batı Marmara, % 0,16'sı Karadeniz ve % 0,07'si Güneydoğu Anadolu bölgelerinden elde edilmektedir (TÜİK 2018). Dünya genelinde ve Türkiye de yıllara göre turunçgil üretim miktarları Çizelge 1.2 ve Çizelge 1.3'te sunulmuştur.

Çizelge 1.2. Dünyada toplam turunçgil üretim miktarlarının yıllara göre dağılımı (FAO 2017)

Yıllar	Dünya (Ton)
2017	146,599,168
2016	145,568,804
2015	144,764,512
2014	140,449,409
2013	138,773,864

Çizelge 1.3. Türkiye toplam turunçgil üretim miktarının yıllara göre dağılımı (TÜİK 2018)

Yıllar	Türkiye (Ton)
2018	4,902,052
2017	4,769,726
2016	4,293,007
2015	3,975,873
2014	3,783,517

Turunçgillerin nitelikli bir fonksiyonel gıda olması ve turunçgil tür ve çeşitlerinin farklı tüketim şekillerine (meyve suyu, taze tüketim, endüstriyel tüketim vb.) uygun olması, tüketici talebini artırmakta bu durumda üretimi teşvik ederek sürekli bir artış sağlamaktadır. Toplam üretim içerisinde portakallar 1 900 000 ton ile en fazla üretimi yapılan tür iken, mandarin 1 650 000 ton ile ikinci, limon 1 100 000 ton ile üçüncü sıradadır. Bu türleri 250 000 ton ile altıntop ve 2 052 ton ile turunç türleri takip etmektedir. (TÜİK 2018). Ülkemizin 2017 yılı toplam yaş meyve ve sebze ihracatı içinde turunçgiller; 1.672.800 ton ve 849,6 milyon dolarlık bir payla birinci sırada yer almaktadır. Turunçgil ihracatının 697.200 tonunu mandarin, 475.100 tonunu limon, 368.800 tonunu portakal, 131.600 tonunu altıntop ve 42 tonunu diğer turunçgil tür ve çeşitleri oluşturmaktadır. Ülkemizin 2017 yılında turunçgil ihracatı yaptığı ülkeler arasında Rusya Federasyonu, Irak ve Ukrayna ilk üç sırada olup, bu üç ülkeye yapılan ihracat toplam ihracatın % 67,6'sını oluşturmaktadır (AKİB 2018).

Çizelge 1.4. Türkiye için türler bazında toplam turunçgil üretim miktarları (TÜİK 2017)

Ürün	Toplam Üretim (ton)
Portakal	1,900,000
Mandarin	1,650,000
Limon	1,100,000
Altıntop	250,000
Turunç	2,052

Yetiştiricilikte anaç kullanımı tüm dünyada yaygınlaşmış ve önem kazanmıştır. Tüm meyvelerde olduğu gibi turunçgillerde de genotipik ve fenotipik özellikleri ile anaçlar ön plana çıkmaktadır. Ülkemizde en fazla kullanılan anaç turunç olmakla birlikte, turunca alternatif olarak Carrizo anacının kullanımı giderek artmaktadır. Carrizo anacı 1897 yılında Washington Navel x Üç yapraklı melezi olarak WT Swingle tarafından üretilmiştir. Florida'da 1894 – 1895'de oluşan donlar sonucunda soğuklara dayanıklı portakal çeşidi geliştirmek için yapılan ve ilk organize meyvecilik ıslah çalışması olması nedeniyle önem arzeden bir çalışma sonucunda elde edilmiştir. Meyvelerinin yenilemeyecek kadar acı olması ve CTV'ye dayanıklı olmasından dolayı anaç olarak kullanılmaya başlanmıştır (Davies ve Albrigo 1994). Portakal ve altıntoplarda yaygın İsrail'de mandarinlerin vazgeçilmez anaç durumunda olduğu, İspanya'da mandarin ve melezlerinin yanında portakallarda Carrizo anacı kullanım oranı % 80 olduğu ve ayrıca Güney Afrika'da kullanılan en yaygın anaçlar içerisinde yer aldığı bildirilmiştir (Saunt 2000). Carrizo anacı Akdeniz ülkeleri yanında ABD-Kaliforniya'da da yaygın olarak kullanılmaktadır. Troyer sitranjı Carrizo ile aynı ıslah çalışmasından geliştirilmiş olmakla birlikte Carrizo daha hızlı gelişmekte ve üzerine aşıl原因an çeşidin meyve kalitesini daha olumlu etkilemektedir. Üzerine aşıl原因an çeşidi erken meyveye yatırmakta olan verimliliği yüksek bir anaçtır. Bunların yanında

kuraklığa Troyer sitranjına göre daha toleranslıdır (Gardner ve Horanic 1961a; Gardner ve Horanic 1961b; Ford 1966; Blondel 1967; Tuzcu 1978; Özcan ve Ulubelde 1984; Castle 1984 ve Tuzcu 1994). Uçkurutan (*Phoma tracheiphila*) ve göçüren (CTV) hastalıkları ile nematoda (*Radopholus similis* Cob.) dayanıklı, bir virüs hastalığı olan exocortis'e (cüceleşme-CEV) çok duyarlıdır. Meyveleri bol çekirdekli, yüksek nuseller embriyonu oranı yüksek, çoğaltımı ve çoğurlerinin aşılması kolaydır (Davies ve Albrigo 1994). Kireçli topraklarda zayıf gelişmekle birlikte üç yapraklı'yla karşılaştırıldığında görece daha iyi geliştiği bildirilmekle beraber (Davies ve Albrigo 1994), ülkemizin yüksek kireç içeren topraklarında yapılan dikimlerde bir sorun rapor edilmemiştir. Türkiye'de genel olarak turunç anacı (% 85) kullanılmakla beraber, turunçgil yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan diğer anaçların başında Carrizo (% 7) ve Troyer (% 2) sitranjları gelmekte ancak, Ege bölgesinin bir bölümünde de üç yapraklı (% 6), kullanılmaktadır (Yeşiloğlu vd. 2017). Günümüzde Ege ve Doğu Akdeniz Bölgesinde Carrizo kullanımının önerildiği ve giderek yaygınlaştığı bildirilmiştir (Kaplankıran 2001).

Ülkemiz turunçgil üretimi yarı kurak iklim koşullarında yer aldığı için abiyotik stres faktörlerine maruz kalması kaçınılmaz olarak görülmektedir. Bilindiği gibi bu koşullarda kuraklık büyük sorun oluşturmaktadır. Çeşitlerin morfolojik olarak uyumlu, hastalıklara dayanıklı, toprak koşulları ve ekolojiye uygun anaçlar üzerine aşılması ve bu kombinasyonlarla bahçelerin kurulması, uzun süreli bir yatırım olan turunçgil üretiminin sürdürülebilir olması bakımında büyük önem taşımaktadır. Abiyotik streslerin neden olduğu üretim kaybına karşı turunçgillerin bu streslere karşı davranış mekanizmalarının bilinmesi ve bunlara göre korunma tedbirlerinin alınması üretim bu sürdürülebilirliğin sağlanmasında büyük yer tutmaktadır.

Stres, bazı metabolik ve fizyolojik değişimlere neden olarak bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz şekilde etkilemekte, bitki organlarının fonksiyonlarını kaybetmesine üründe de nitelik ve nicelik kaybına neden olabilmektedir.

Ülkelerin gelişim sürecindeki hızlı artış dolayısıyla meydana gelen birçok faktör çevre de kirliliği olumsuz etkilemektedir. Hareket etme yeteneği olmayan bitkiler bu durumdan olumsuz etkilenmektedir (Munzuroğlu ve Gür 2000). Sanayi ve teknolojinin gelişmesinin en önemli olumsuz yan etkilerinden biri çevre sorunlarının ve buna paralel olarak canlı yaşamının sürdürülebilirlik tehlikesinin artmasıdır. Oldukça önemli olan çevre sorunlarından birisi toprak ve su kaynaklarının kirlenmesidir. Toprakta kontaminasyona neden olan etmenleri; tarım alanlarında hayvan gübresi, pestisit, fungusit kullanımı ile metal kaplama, ilgili madenlerin çıkarılması ve işlenmesi, kontrolsüz sanayileşme süreci, sağlıksız kentleşme, kömürün yakılması, pil depolama merkezlerinden kaynaklanan sızıntılardan ve kirliliğe sahip akarsu sistemleri ile sulama olarak sıralanabilir (Sharma vd. 2007; Qishlaqi vd. 2008; Vousta vd. 1996; Zhang vd. 2013). Sanayi devrimiyle birlikte fosil yakıtların kullanımının giderek artması ve ormanların hızla yok edilmesi bu olumsuz etkileri neredeyse önüne geçilemeyecek halde ciddi boyutlara taşımıştır (Korkmaz 2007).

Ülkemiz, küresel ısınma sonuçları bakımından etkilenecek potansiyel ülkeler arasında yer almaktadır. Oluşacak iklim değişiklikleri başta su kaynaklarının olumsuz etkilenmesi olmak üzere, kuraklık ve çölleşme, orman yangınları ile bunlara bağlı çevresel bozulmaları ortaya çıkaracağı belirtilmektedir (Öztürk 2002). Petrol, kömür,

doğal gaz vb. gibi fosil yakıtları kullanılan enerji kaynaklarının %85'ini oluşturması, doğal olarak küresel ısınmanın temel sebebinin endüstriyel ve günlük enerji tüketimi (enerji ve ulaşımda kullanılan) sonucu oluşan karbon (sera gazı) salınımı ile tarımsal etkinliklerden kaynaklanan salınımdaki artışlar olduğu söylenebilmektedir (Houghton 2005). Küresel ısınma nedeniyle oldukça artan abiyotik stresler üretimi yapılan bitkilerde kök - gövde uzunluğunda, toplam suda çözünür protein ve şeker ile RNA miktarında azalma ve DNA segmentlerinde değişimlere sebep olabilmektedir (İbrahim vd. 2013; Mengoni vd. 2000). Ülkemizde de sera gazı salınımı sanayileşme ve trafik yoğunluğu nedeniyle artmaktadır. Bitkilerin fizyolojik ve metabolik aktivite olarak kendileri için ideal koşullarda en iyi gelişim performansı gösterirler, günlük/mevsimlik normal değişimler herhangi bir olumsuzluğa yol açmazken, ani ve/veya sürekli olarak beklenmedik değişimlerle karşılaştıklarında hastalıklar, hasarlar veya fizyolojik değişimler meydana gelebilir (Shao vd. 2008). Bitkinin biyolojik sistem veya fonksiyonuna zarar veren, bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyen güç, durum veya madde faktörleri stres olarak tanımlanmaktadır. Stres faktörleri, orijinlerine göre değişik şekillerde sınıflandırılabilirler. Bunlar düşük sıcaklık, tuzluluk, kuraklık, su baskını, radyasyon, ağır metaller, pestisitler, oksidatif stres gibi abiyotik veya parazit bitkiler, patojenler, hayvanlar ve çeşitli antropojenik aktivitelerin oluşturduğu biyotik stres faktörleri olabilirler. (Taiz ve Zieger 2002). Tarım alanlarında en fazla kuraklık stresi görülürken (% 26) bunu %20'lik etkisiyle mineral stresi izlemektedir (Blum 1985). Mineral stresinin bir bölümümü tuzluluk nedeniyle oluşan stresler olup dünyada bu stresin etkisi altında 9 milyon ha'dan fazla alan bulunmaktadır (Tuteja 2007). Dünyada tarım alanlarının %17'sinde sulu tarım yapılmakta olup bunun da %20'sinin (227 milyon ha) tuzluluk stresi ile karşı karşıya olduğu bildirilmektedir (Pitman ve Läuchli 2002; Tuteja 2007). Türkiye'de bu oran görece daha düşüktür toplam tarım alanlarının sadece % 2'sini çorak alanlar oluştururken bu alanların da % 74'ü (12 bin ha) tuzlulukla karşı karşıyadır (Kendirli vd. 2005). Tuzluluk stresi, bitki gelişiminde fizyolojik, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeylerde etkilere neden olmaktadır.

Gerek dünya üzerinde yaşayan kişi sayısı gerekse kişi başına tüketilen su miktarı artış göstermektedir. Tarih ve nüfus itibarıyla (1700 yılı 700 milyon insan) su tüketimi çoğu tarımsal amaçlı (%90) olmak üzere kişi başına 110 m³ iken günümüzde bu 40 kattan fazla artarak yaklaşık 4400 m³ olmuştur (Kılıç 2008). Mevcut su kaynaklarının değişmemiş ve sulama koşulları görece kısıtlanmıştır. Dünyada tarım alanlarının sadece %10'u strese maruz kalmazken en fazla (%26) kuraklık stresi görülmekte olup bunu mineral madde (%20) ile soğuk ve don stresleri (% 15) izlemekte, kalan % 29'luk alan diğer stres faktörlerinden etkilenmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005). Bitkiler abiyotik streslere karşı en az zarar görece şekilde tepki vermekte olup bu konu uzun yıllar birçok araştırmaya konu olsada bu tepkilerin mekanizmaları henüz tam anlamıyla anlaşılamamıştır.

Bitkiler, kendilerini stres koşullarına adapte etmeye dönük bazı mekanizmalar geliştirmişlerdir (Manoj ve Lata 2011). Bitkilerin genetik yapısı bunu sağlayabilmektedir. Bitki - çevres stress ilişkilerinde tolerans bitki ve stresin türüne, stresin süre, miktar ve etkilenen dokuların yapısına bağlı olarak değişebilmektedir (Gür vd. 2004). Strese karşı bitkiler tarafından üretilen ozmoregülatörlerin miktar ve yoğunluğu maruz kalınan stresin derecesine bağlıdır. Birçok farklı stres faktörlerine karşı bitkiler tarafında üretilen ozmoregülatörlerin, hücre içindeki konsantrasyonu

maruz kalınan osmotik stresin düzeyine örneğin tuzun oranına, kuraklıkta su kıtlığının derecesine ve soğuk stresinde soğuğun stres derecesine bağlıdır. Ancak tuzcul (halofit), kurakçıl (kserofit) ve yaygın bitkilerin (mezofit) tümünde osmotik streslere karşı osmoregülasyon mekanizmasının benzer olmasıdır (Flowers vd. 1977; Turner ve Madelaine 1980; Jefferies 1981). Örneğin bitki prolin düzeyi, sıcaklık, kuraklık ve açlık gibi streslere karşı tolerans parametresi olarak kullanılmaktadır (Abdul Jaleel vd. 2007). Bitkiler osmoregülasyonu sağlamak için tuz stresinde oluşan fizyolojik kuraklığa karşı protein (prolin, betain) ve bazı karbonhidrat kökenli osmoregülatörler üretilir hücre içi osmotik basıncı yükseltirler. Tarımsal bitkilerde saptanan tuz stresine tepki olarak glisin betain birikimi de buna bir örnek olmaktadır (Ashraf ve Foolad 2007; Abdul Jaleel vd. 2007). Buna sebep olarak tuz birikiminin enzim yapısını bozması ve bunu önlemek içinde osmoregülatör olarak birçok organik madde üretiminin gerekmesidir.

Stres altındaki bitkiler geliştirdikleri mukavemet mekanizmalarıyla stresin olumsuz etkilerini önlemekte veya dayanıklılık mekanizmalarıyla stresle mücadele ederek hayatta kalabilmektedirler. Stres sonucu artan serbest radikaller, membran lipidlerinin peroksidasyonu, protein ve nükleik asit gibi makromoleküllerde hasara yol açarak hücre duvarı ve membran yapısını bozulmaktadır (Sreenivasulu vd. 1999). Stres sonucu oluşan oksijen radikallerine karşı bitkilerde birçok enzim bulunmaktadır (antioksidantlar). Bunlardan biri olan süperoksit dismutaz (SOD), oksijen radikali olan süperoksitin (O_2^-) zararlı etkilerini nötralize etmek için bitkilerce üretilir ve aktivitesi sonucunda hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. SOD aktivitesi sonucu oluşan ve toksik olan H_2O_2 , daha sonra bazı enzimler vasıtasıyla (askorbat peroksidaz -APX, glutatyon redüktaz – GR ve katalaz -CAT) H_2O ve O_2 'ye dönüştürülür (Dionisio-Sese vd. 1998; Hernandez vd. 1995). Topraktaki stres miktarının fazlalığı bitkinin transpirasyonunu, solunumu, topraktan su almasını ve köklerde meydana gelen gelişimi azaltmaktadır. Bu durumların oluşması bitkinin fotosentez hızının azalmasına, nitrattan yararlanamamasına ve buna bağlı olarak da protein sentezinin yavaşlamasına neden olmaktadır (Dölarslan ve Gül 2012).

Ülkemiz için birçok yönden ideal özellikler taşıyan bir anaç olan Carrizo, turunçgil tür ve çeşitleri ile iyi uyum sağlamakta, CTV'ye dayanıklı ve Akdeniz'in kireçli ve yüksek pH'lı topraklarına uygun olması nedeniyle de Akdeniz bölgesinin en önemli turunçgil anacı olan turunca başta portakal, mandarin ve hibritleri olmak üzere başarılı bir alternatif anaç durumundadır. Alternatif olma potansiyeli olan bu anacın farklı ekolojilere uyumları ve stres faktörlerine karşı gösterdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerin anlaşılabilirliği üretiminde karşılaşılabilecek olası sorunların giderilmesi yönüyle büyük önem taşımaktadır. Özellikle yaygınlaşan kullanımında olası sorunların anlaşılması gerekli önlemlerin doğru alınması yönüyle sürdürülebilir turunçgil üretimi için büyük önem arz etmektedir. Bitkilerde strese neden olan etmenlerin meydana getirdikleri zarar, bitkinin sahip olduğu tolerans mekanizmasına göre farklılık gösterebilmektedir. Bitkilerin sahip olduğu bu mekanizma onların değişik bölge ve şartlarda en iyi şekilde gelişmelerini sağlamaktadır. Geliştirdikleri mekanizmalarla stresin etkilerini önleyebilmekte ve/veya tolerans mekanizmaları ile strese karşı koyarak ve yaşamlarını idame ettirebilmektedirler.

Ülkemiz için önemli bir ticari değere sahip olan turunçgillerde de bu çalışmaların yapılarak sonuçlandırılması bu bitki grubunda verim ve kalite de artışı destekleyecektir. Önemli bir turunçgil anacı olan ve ülkemizdeki kullanımı artış

gösteren Carrizo anacı dünyada da yaygın bir kullanıma sahip olup abiyotik stres faktörlerine karşı göstereceği tepkilerin araştırılarak var olan olası savunma mekanizmalarının belirlenmesi ve pratik karşılığının saptanması gerekmektedir. Bu çalışma ile Carrizo anaçlarının fizyolojik bakımdan belirlenen tuzluluk ve kuraklık stresine karşı gösterdiği tepkiler bitkinin bütün aksamalarında çalışılarak, Carrizonun tuzluluk tolerans mekanizması ile kuraklığa karşı dayanımı, prolin birikimi ile olan ilişkilerinin araştırılması osmotik uyum mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, ülkemizde turunca alternatif anaç olarak tercih edilen Carrizo'nun abiyotik stres faktörleri (tuzluluk-kuraklık) karşısında gösterdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler ile savunma mekanizmalarının araştırılması ve sonuçta uzun, sürdürülebilir turunçgil yetiştiriciliğine katkılar sağlamak hedeflenmiştir.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Stresin Anlam ve Önemi

Bitkiler de insan ve hayvanlar gibi strese girmekte, zarar görmektedir. Lewitt (1980) stresin tanımını “canlılar için elverişsiz çevre koşulları” olarak yapmıştır. Bitkinin biyolojik sistem veya fonksiyonuna zarar veren, bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyen güç, durum veya madde faktörleri “stres” olarak tanımlanmaktadır. Stres faktörleri bitkilerin yaşamlarının herhangi bir döneminde ortaya çıkarak bitkileri olumsuz yönde etkilemektedir. Bitkiler yaşam süreçlerinde birden fazla stres ile aynı zamanlarda karşılaşabilmektedir (Larcher 1995).

Stres faktörleri, oluşum şekline göre biyotik ve abiyotik stres faktörleri olarak isimlendirilmektedirler. (Lewitt 1980; Alexieva vd. 2005; Çizelge 2.1).

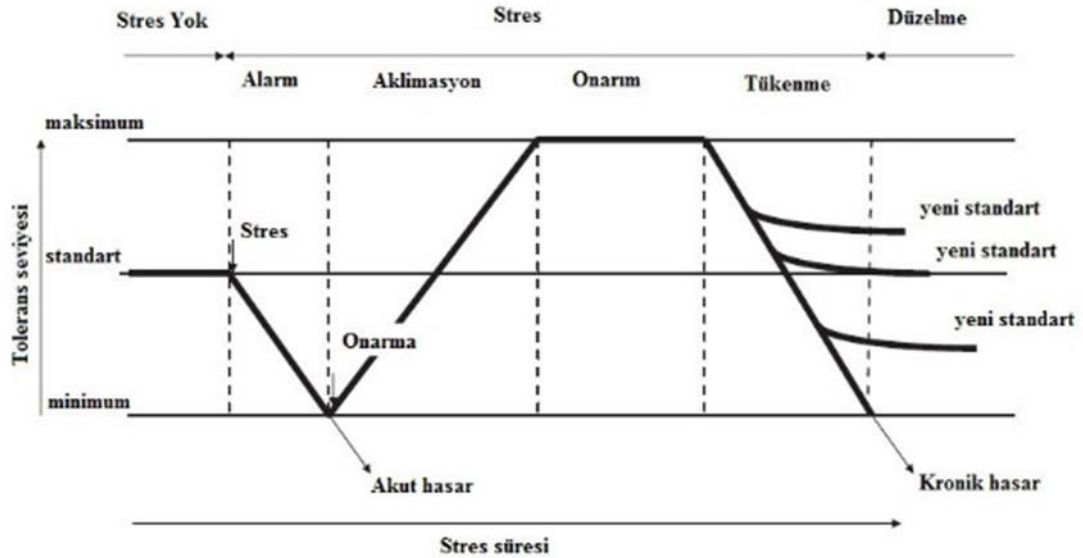
Çizelge 2.1. Stresi etkileyen Abiyotik ve biyotik faktörler (Lewitt 1980)

<u>Abiyotik Etmenler</u>		<u>Biyotik Etmenler</u>
Fiziksel	Kimyasal	
Kuraklık	Hava Kirliliği	Yabancı otlar
Sıcaklık	Ağır Metaller	Böcek
Radyasyon	Tarımsal ilaç	Mikroorganizma (bakteri ve mantar)
Su Baskını	Toksinler	Hayvan
Mekanik Etki (rüzgâr, kar)	Tuzlar	Hastalık
Toprağın manyetik etkisi	Toprak pH'sı	Virüs

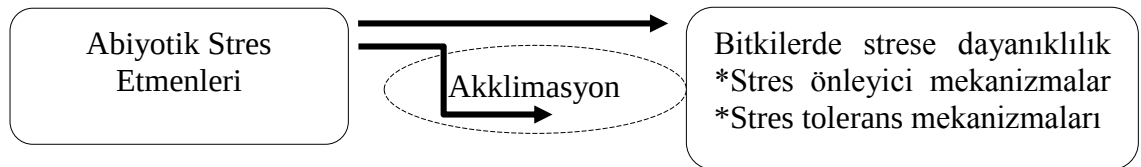
Abiyotik stresler biyosferi ve onun parçaları olan ekosistemleri oluşturan canlı ve cansız tüm unsurları olumsuz etkilemekte ve tarımsal açıdan da büyük ölçüde kayıplara neden olabilmektedir. Stres etkili olmaya başladıktan sonra bitki fizyolojik aktivitelerini etkileyerek, ürün kalitesi ve miktarını azalmasına dolayısıyla verimin düşmesine neden olmaktadır (Kacar vd. 2002). Stres dolayısıyla oluşan zarar düzeyi, bitkinin genotipik ve fenotipik etkileşimlerine bağlıdır. Bu etkileşim, türlerin farklı biosistemlerde gelişme potansiyelini belirleyen en temel etmendir (Dubey 1994). Bitkilerin strese karşı dayanma kabiliyetleri metabolik aktiviteler ile strese bağlı olarak (stresin türü, süresi ve dozu) farklılık gösterir.

Bitkilerin streste olduklarını anlamak her zaman olası değildir. Çevredeki çoğu stres etmenin belirgin bir tanı vermeden bitkilerde simptom oluşturabilir. Ayrıca bitkiler

metabolik değişimlerle stres etmenlerine karşı dayanıklılık kazanır ve zararı en az düzeye indirmeye çalışır (Şekil 2.1). Bu bağlamda bitkilerin sahip olduğu dayanıklılık mekanizmaları iki şekilde etkili olmaktadır. Bunlar önleyici mekanizmalarla stresin etki derecesini azaltarak stresi bertaraf ederek veya tolerans mekanizmalarıyla stres etmenlerine karşı mukavemet göstererek yaşantılarını sürdürmeleri şeklindedir. (Şekil 2.2). Stres veya çevre koşullarındaki değişimlere uyum için bitki değişimlere metabolizmasının uyarlayarak yani bir dengeleme evresi geçirir. Fazladan enerji kullanımı gerektiren bu süreç (Kosová vd. 2011) akklimasyon denmektedir (Mittler 2006; Suzuki ve Mittler 2006). Akklimasyon (acclimation) bir başka deyişle iklim koşullarına alışmak suretiyle bitkiler abiyotik stres etmenlerine dayanıklılık kazanmaktadır. Kısa süreli akklimasyonda bitkideki transkripsiyon, translasyon ve protein sentezi hızında, değişen çevre koşullarına uyum sağlamak adına değişimler gözlenebilir. Uzun süreli akklimasyonda ise bitkiler bazı organlarını kaybedebilir ve daha sonra kaybedilen organın yerine yeni organlar tekrar oluşur. Bitki bu oluşumlar sonucu yeni bir morfolojik ve anatomik yapıya sahip olur (Gaspar vd. 2002).



Şekil 2.1. Abiyotik streslere karşı bitkisel tepki dinamikleri (Kosová vd. 2011)



Şekil 2.2. Bitkilerde strese dayanıklılık, stresi önleme ve tolerans mekanizmaları

Değişik çevre koşullarında yetişen farklı bitki genotipleri morfolojik, fizyolojik ve metabolik değişimlerle stres etmenlerine karşı savaşım vermektedir. Örneğin çoğu sıcak iklim (çöl) bitkilerinin kütin tabakası kalınlaşırken, yüzey/hacim oranı azalmakta,

stomalar (gözenekler) olabildiğince derine yerleşmekte, gündüzleri kapanmakta, yapraklar kıvrılmakta, yaprak üzerinde tüyler oluşmakta ve bitki güneş ışınlarını en fazla yansıtacak konuma girmektedir. Bitki kökleri olabildiğince derine doğru gelişme göstermekte ve bitki çeşitli değişimlerle geliştiği çevre koşullarına adapte olmaktadır (Kacar vd. 2002).

Bitkiler ekolojik strese karşı kompleks tepkiler gösterebilir. Bu durum basit kimyasal - biyokimyasal tepkiler ile hormonal ve kalıtsal olarak ortaya çıkan birçok fizyolojik cevap yollarını bulundurmaktadır (Kadioğlu 2004).

2.1.1. Strese karşı bitkilerin savunma mekanizmaları

Bitkiler stres koşullarının neden olduğu olumsuzluklara bir derecede karşı koyabilme veya canlı kalabilme potansiyeline sahip olmaları amacıyla çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bitkilerin geliştirdiği savunma mekanizmaları sayesinde organizmanın stres şartları altında canlılığını sürdürme yeteneği “stres direnci” (Resistance) ya da “stres dayanıklılığı” (Tolerance) olarak tanımlanır. Bitkilerin stres faktörleri karşısında gösterdikleri yanıtların şiddeti birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bitki strese tamamen dayanıklılık gösterebileceği gibi, yalnızca bazı organları strese karşı dayanıklılık da geliştirebilir.

Bazı bitki doku ve organları strese daha dayanıklı iken (tohum, tomurcuk ve dinlenmedeki hücre ve dokular) iken, diğer bazı doku ve organları (meristem dokular, su içeriği yüksek (sukkulent) organlar ve fideler) daha dayanıksızdır (Kadioğlu 2004). Örnek olarak genç bitkiler, yaşlı bitkilere oranla stres etkenlerine karşı daha duyarlıdır. Ayrıca kuru tohumlar ve dormant tomurcuklar strese karşı büyük ölçüde dayanıklıdır, fakat meristemler ve sukkulent yapılar strese karşı oldukça büyük hassasiyet göstermektedir (Hale ve Orcut 1987).

Bitkilerde stres faktörlerine karşı oluşan stres dayanıklılığı “sakınma” (escape) ve “tolerans” olarak iki kısma ayrılmaktadır (Lewitt 1980). Bu sınıflandırma bitki metabolizması ve stres faktörü arasında oluşan termodinamik etkileşimlere göre şekillendirilmiştir.

2.1.1.1 Stresten kaçınma

Stres faktörlerinin bitki bünyesine ulaşımının önlenmesini ya da etki seviyesinin düşürülmesini anlatan ve bitkinin bu süreçte yaşam döngüsünü tamamlayabilme yeteneğidir. Stresten kaçınma (escape) özetle bitkinin stresle yüzleşmekten uzak durması durumudur. Kserofit efemeraller buna iyi bir örnektir. Bunlar, yaşam döngüsü kısa (tek yıllık), büyük bir bitki grubudur. Kuraklık stresine karşı kurak sezonu sürecini tohum formunda kalarak, bu stresten “kaçan” bitkilerdir. Yağmurla birlikte tohumlar çimlenerek topraktaki nem kaybolmadan yaşam döngülerini (çiçek, meyve ve tohum) kısa bir sürede tamamlarlar. Bu şekilde de çöl koşullarında dahi, hücreleri içerisinde “negatif su potansiyeli” oluşturacak osmotik stresten “kaçarlar”(Salisbury ve Ross 1992).

“Kaçınma” mekanizması iki yolla açıklanabilmektedir.

a) Bitki-çevre ilişkisinde bulunan yüzeylerde kimyasal ve morfolojik kompozisyondaki farklılaşmalar olabilmektedir; yaprak alanı ve kalınlığı, stoma sayısı ve büyüklüğü, epidermis kalınlığı ve içeriği, yaprak-kök salgılarında değişimler.

b) Ontogenetik değişimler (stres faktörlerinden mevsimsel olarak kaçınma): stres ortaya çıkmadan önce, örneğin kuraklık öncesi, önce dormant faza geçilerek (tohum, yumru oluşumu) bitki üretkenliği korumaya alınmaktadır.

2.1.1.2. Strese tolerans

Tolerans mekanizması, bitki metabolizması ile stres faktörü arasındaki termodinamik bir etkileşimin varlığını gösterir Stres faktörlerinin etkisini azaltma veya tamir etme mekanizmalarını ifade etmektedir. Bitkinin çevresel stres şartlarında olduğu kadar içsel stres altında da bir dereceye kadar fonksiyonlarını ya da canlılığını devam ettirme yani strese dayanıklılık kapasitesidir. Bu tepki tipi, doku seviyesindeki değişiklikleri (sakızların, yara periderminin oluşumu gibi), hücresel (subsellüler) seviyedeki değişiklikleri (duvar ilavelerinin; membran, kloroplast ve hücre duvarı modifikasyonlarının oluşumu gibi), moleküler (sekonder metabolitlerin, polisakkaritlerin, fenol polimerlerinin ve stres proteinlerinin sentezi) ve submoleküler seviyedeki değişiklikleri (elektronlar, iyonlar, serbest radikaller gibi) kapsamaktadır. Kısaca strese tolerans, dayanıklı olmayan türler ya da bireylerde organizmaların canlı kalması için letal ya da inhibe edici şartlar altında özel biyolojik mekanizmaların gelişmesini ifade etmektedir (Edreva 1999; Taiz ve Zeiger 2002; Kadioğlu 2004). Sonuç olarak iki durum söz konusudur. Bitki ya stresten etkilenmemektedir ya da stresin sebep olduğu zarar tamir edilmektedir.

2.2. Tuz Stresi

Tuzluluk, canlı yaşamının artmasıyla birlikte dünya üzerinde verimli tarımı tehlikeye atarak gıda ürünlerinin üretimini önemli ölçüde kısıtlayan çevresel faktörlerden biridir (Botella vd. 2005). Tuzluluk problemi, oluşum nedenlerine göre primer (doğal) ve sekonder tuzluluk olarak iki grup altında incelenmektedir. Primer tuzluluğun oluşma nedenleri; tuz depo kaynağı okyanuslar, ana kayaların ayrışması ve iklim faktörleri oluşturmaktadır (Munns ve Tester 2008). Sekonder tuzluluğun oluşma sebepleri ise; tarım alanlarında yapılan yoğun ve aşırı sulamada kaynaklı olarak çeşitli tuz içerikleri bakımından zengin yer altı suyu seviyesinin toprak yüzeyine yükselmesi oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra aşırı otlatma, bir bölgede ki doğal vejetasyonun yok edilerek tarım arazilerinin açılması ve topraklarda tuzluluğa sebep olan kimyasalların toprak kontaminasyonuna açık hale gelmesi gibi faktörler (Pessarakli ve Szabolcs 1999) gösterilebilir. Tuzluluk oluşumuna imkan sağlayan önemli bir diğer unsur ise; seralarda yapılan mono kültür uygulamalarıdır. Özellikle yetiştiriciliği desteklemek amacıyla kullanılan gübre ve kimyasalların etkisi, bilinçsiz olarak gerçekleştirilen sulama uygulamaları, belli bir süre sonra toprakta önemli düzeyde tuz birikimine neden olabilmektedir (Quamme ve Stushnoff 1983; Sevgican 2002). Tuzluluk problemine neden olan bileşikler ise, klorürler (NaCl , CaCl_2 , MgCl_2), sülfatlar (Na_2SO_4 , MgSO_4), nitratlar (Na_2NO_3 , KNO_3), karbonatlar, bikarbonatlar (CaCO_3 , Na_2CO_3 , NaHCO_3) ve boratlardır. (Munns ve Termaat 1986) Toprak tuzluluğu ve tuz stresi denildiğinde

önemli ölçüde Na_2SO_4 ve NaCl 'nin dominant varlığından söz edilmektedir (Pessarakli ve Szabolcs 1999). Bitki dokularında bu iyonların konsantrasyonlarının, bitkinin tolere edebileceği miktarın üzerine çıkması ile toksik tesir görülür. Bu etkiyi araştırmacılar “spesifik iyon etkisi” olarak tanımlamaktadır (Bernstein 1975; Maas ve Hoffman 1977; Greenway ve Munns 1980; Munns ve Termaat 1986; Pasternak 1987; Grattan 1993). Bitkilerin gelişimleri süresince yetiştikleri tuz ortamı, spesifik iyon etkisi, düşük osmotik potansiyel ve beslenme dengesizliği gibi etkilere neden olarak bitki gelişimi üzerine birçok olumsuz etkiye yol açmaktadır. Tüm bu faktörler bitkileri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde etkilemekte, bitki büyüme ve gelişmesini kısıtlamaktadır (Munns ve Tester 2008).

Turunçgiller, tuzluluğa karşı çok hassas bitkiler grubunda yer aldığı için (Maas ve Hoffman 1977; Cole ve McCloud 1985; Maas 1993) tuz toleransları çok incelenmiş tür, çeşit ve ticari anaçları arasında, Cl^- ve Na^+ alınımlı, birikimi ve taca taşınımı açısından dikkate değer farklılıklar bulunduğu görülmüştür. (Ream ve Furr 1976).

Tuzlu koşullarda bitki bünyesinde “Stres” üç yolla oluşmaktadır.

1) Kök ve çevresinde oluşan düşük su potansiyeli: Bitkilerde kök çevresinde meydana gelen tuz kontaminasyonun artmasıyla birlikte bitki-su potansiyeli azalmaktadır. Tuz kontaminasyonunun artmasıyla birlikte bunun bir sonucu olarak bitki daha az su almaktadır. Bitki de meydana gelen bu durum osmotik stres veya fizyolojik kuraklık olarak nitelendirilmektedir (Munns ve Termaat 1986; Lauchli 1986; Marchner 1995).

2) Kök bölgesinde artan Na ve Cl iyonları: Kök bölgesinde artan Na^+ ve Cl^- iyonlarının fazla miktarda bitkiye girişi toksisiteye neden olmaktadır (Lauchli 1986; Munns ve Termaat 1986; Marchner 1995).

3) Beslenmede ortaya çıkan dengesizlikler: Ortamda Na katyonunun, Cl^- ve SO_4 anyonlarının artması, diğer mineral maddelerin alımı sırasındaki rekabette kök çevresinde iyon dengesinin bozulmasına neden olmaktadır (Munns ve Termaat 1986; Lauchli 1986; Marchner 1995).

Bu gruplar ışığında tuz stresinin bitki büyümesi üzerine sınırlayıcı etkisi bazı yeni yaklaşımlar ile birlikte üç grup altında yeniden değerlendirilmiştir (Sevengör 2010).

- Su eksikliği veya fizyolojik kuraklık stresi; Yüksek tuz koşullarında besin solüsyonundan düşük su potansiyeli nedeniyle su alımı mümkün olmamaktadır. Köklerin suyu bitki bünyesine alması zor hale gelmektedir. (Cheong ve Yun 2007; Munns ve Tester 2008; Gluffrida vd. 2009).

- Tuzluluğa sebep olan iyonların (Na^+ ve Cl^-) fazla miktarda alınması nedeniyle oluşan iyon toksisitesi; Klor, sodyum, magnezyum, sülfat, bor gibi özel bazı toksik iyonların bitki hücrelerinde birikmesi nedeniyle önemli fizyolojik süreçlerin bozulması ile sonuçlanır. Özellikle sodyum birikiminde yapraklarda nekroze olma durumu yaşanır, gelişme geriler. Bu durumda başka iyonları hücrede biriktirerek, topraktaki düşük su potansiyeline rağmen turgoru sağlayıp pozitif büyüme durumuna geçebilmek

mümkündür (Kuşvuran vd. 2007). Toksik etkinin büyük bölümünden artan Na^+ iyonu sorumludur, klor ile ilgili de zaman içerisinde zararlanma artmaktadır (Estan vd. 2005; Mata-Gonzalez ve Mellendez-Gonzalez 2005). Bazı bitkilerde vakuoller içerisinde bu iyonların biriktirilerek sitoplazmadan uzak tutulması da söz konusudur (Munns 2002).

- K/Na ve Ca/Na oranlarının bozulması sonucunda ortaya çıkan iyonu özgü stres; Halofit bitkilerin NaCl ihtiyacının dışında kültür bitkilerinde eğer Na iyonu, K iyonundan daha fazla olursa stres ortaya çıkmaktadır (Blumwald vd. 2004; Debouba vd. 2006). Tuz stresinde bitkide Na^+ ve Cl^- iyonları artarken K^+ , Ca^{++} ve Mg^{++} iyonları azalmaktadır. Bu dengesizlik ise bitkinin su alım mekanizmasını bozmaktadır.

Tuz zararı, her bitkide farklı etki gösterdiği gibi bitkiler üzerinde farklı belirtiler de gösterebilmektedir. Tuzluluk sorunu, bitkinin anatomi ve morfolojisini kapsayan tüm metabolizmasını etki altına alabilen bir faktördür (Levitt 1980). Toprak çözeltisindeki tuz kontaminasyonu artmasıyla birlikte su potansiyeli azaldığında, bitki hücrelerinin ozmotik potansiyeli düşmektedir. Bu durum bitki hücrelerinin bölünmesi ya da uzamasını aniden yavaşlatan önemli bir faktördür. Bitki tuz stresi koşulları altında su kaybını azaltmak için stomalarını kapatır ve bunun sonucunda da bitkide fotosentez azalır. Stres koşullarının devamı halinde bitki büyümesi tamamen durabilir (Ashraf 1994).

Farklı bitkiler, tuzun neden olduğu susuzluk koşullarına farklı tolerans ve mikro besin elementlerini farklı alma yeteneği gösterirler (Alam 1994). Tuz stresi farklı parametreler üzerine etkili olmakta, fotosentez üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Bitkilerde elektron taşınım aktivitesini ve karbon metabolizmasını engellemektedir. Tuz stresi altında bitkiler stomalarını kapattığı için, CO_2 gazının girişinde engellenmektedir. Bunun sonucu olarak CO_2 fiksasyonu azalmakta ve fotosentez olumsuz etkilenmektedir (Abdullah ve Ahmad 1990; Güneş vd.2006; Sreenivasulu vd. 2000).

Tuzluluk sürgün gelişmesini, yaprak oluşumunun başlangıcını ve yaprak gelişmesini engelleyebildiği gibi boğum aralarının uzamasını yavaşlatır ve yaprak dökümlerine neden olur. Anaç olarak kullanılan bazı yabancı formlar tuzluluğa farklı dayanım gösterir. Örneğin tuzluluk, turuncgillerde en çok *Citrus jambhiri* ve *Poncirus trifoliata*'nın gelişimine zarar verir (Kozlowski 1997). Tuzluluğa yol açan iyonlardan biri olan Sodyum, bitkide hem floem, hem de ksilem içerisinde hareket edebilme yeteneğine sahip bir element olarak bilinmektedir (Marschner 1997).

Tuzluluk birçok kültür bitkisinde büyüme parametrelerinden olan gövde çapı, sürgün taze ve kuru ağırlığı, yaprak alanı gibi özellikler üzerinde negatif yönde ve engelleyici etki yapmaktadır (Colla vd. 2012; Howladar 2014; AlHarbi 2016). Bütün bu özelliklerdeki olumsuz etkilenme durumu bitkinin verimine yansımakta olup tuzluluk sonuç olarak ürün verimini azaltmaktadır (Tuna 2014; Howladar 2014; Abu-Muriefah 2015). Büyüme ve ürün verimindeki azalmanın; net fotosentez miktarının azalması, klorofil miktarının düşmesi, toksik tuz (Na^+ ve Cl^-) iyonlarının bitki hücresi içerisindeki miktarının artması gibi nedenleri vardır (Colla vd. 2012; Abu-Muriefah 2015). Bunlardan başka bitkinin su alımının engellenmesi ve metabolik yolların zarar görmesi; bitkinin meristematik aktivitesi, hücre genişlemesi ile bölünmesinin, hızlanan solunum nedeniyle yavaşlamasına yol açmaktadır. Biberde yapılan bir çalışmada meyve veriminin tuz stresi altındaki bitkilerde düşmesi; polen canlılığının azalması, stigma

yüzeyinin reseptivitesini kaybetmesi, çiçek dökümü veya genç meyvelerin yaşlanma hormonu etilen nedeniyle dökülmesi sebepleriyle açıklanmaktadır (Abu-Muriefah 2015).

Türler arasında tuza hassasiyet bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin Brugnoli vd. (1991) fasulye ve pamukta aynı tuz uygulamalarını yaptıkları halde, sonuçlar farklı çıkmış olup; fasulyede 50 mM NaCl dozunda birkaç gün içerisinde zararlanmalar görülmeye başladığı halde pamukta daha yüksek dozlara bile dayanımın mümkün olabildiği gösterilmiştir. Bitkilerin stres koşullarında ortaya koymuş oldukları tepkiler çoğu zaman aynı olmayabilir. Bitkiler arasında ortaya çıkan bu farklılık iyon konsantrasyonu, bitki tür ve çeşidi, kök sistemi, bitkinin içinde bulunduğu gelişme aşaması, stres süresi, strese maruz kalan bitki kısmı gibi birçok faktörün etkisi altında gerçekleşmektedir. Genel olarak bitki gelişiminin erken aşamasında stres koşullarına çok daha hassas olduğu, bu nedenle bitkilerde büyüme ve gelişmenin engellendiği bildirilmiştir (Yetişir ve Uygur 2009).

Seemann ve Critchley (1985) ile Aranda ve Syvertsen (1996), tarafından bildirildiğine göre; bitki de yüksek tuz kontaminasyonuna bağlı olarak iyon birikimi ve stomaların açılıp kapanmasında düzensizliklerin meydana gelmesiyle toplam klorofil miktarında azalma olduğu böylece fotosentez etkinliğinin azalarak bitkinin büyüme ve gelişiminde gerilemeler ortaya çıktığını belirlemişlerdir.

Munns ve Termaat'a (1986) göre bitki gelişmesinde erken olan gerileme spesifik iyon stresinin değil su stresinin bir sonucudur. Buna göre, ağacın sürgün gelişmesini köklerin su kapasitesi, özellikle ABA'nın dahil olduğu hormonal sistem sayesinde düzenler. Diğer bir düşünce ise apikal meristem dokularındaki besin maddelerinin zarar görmesi sonucu sürgün meristeminin, gelişmekte olan yapraklara sinyal göndermesidir. Bitkilerin haftalar ya da aylar 48 süren tuz stresi sonucu yapraklarında fazla miktarlarda tuz biriktirdikleri ve bunun da simplastta su eksikliğine ve toksik iyon etkisine neden olduğu bilinmektedir.

Lloyd vd. (1989), "Prior Lizbon" limonunda ve "Valencia" portakalı ile yaptıkları bir çalışma sonucunda, CO₂ asimilasyonunun artan yaprak Cl⁻ konsantrasyonu ile önemli düzeylerde azaldığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, tacın iyonları sitoplazma dışında tutma yeteneğinin, tuzların vokuollerde tutulma yeteneğine bağlı olduğunu, bu olayların bitkinin tuzluluğa hassasiyeti üzerinde önemli bir rol oynadığını ve Na/Ca oranının bu açıdan büyük önem taşıdığı bildirilmiştir. Geniş Na/Ca oranı, turuncgillerde de zararlanmalara sebep olmaktadır. 45 mol/m³ NaCl ve 10 ve 20 mol/m³ Ca [Ca(NO₃)₂ ve CaSO₄ karışımı] ile hazırlanan solüsyonla yetiştirilen iki yaşlı Navel portakal fidanlarında sadece NaCl ile hazırlanan solüsyonda yetiştirilen fidanlara oranla gelişmedeki yavaşlamanın ve yapraklardaki dökülmenin azaldığı görülmüş, Ca⁺⁺ ilavelerinin, hem Kleopatra mandarininde, hem de Troyer citrange'de köklerden taca Na⁺ ve Cl⁻ taşınımını azalttığı saptanmıştır (Banulus vd. 1991). Kıbrıs'taki Valencia portakalı plantasyonlarının beslenme durumlarının incelendiği çalışmada, özellikle denize yakın bahçelerde topraktaki Na birikiminin fazla olduğu bildirilmiştir (Özerdem vd. 1987).

Bohra ve Döffling (1993), yaptıkları çalışmada tuz stresi altında bitkilerin kök bölgesinde iyon dengesinin bozulduğunu; sodyum alımında miktarın artmasıyla diğer

bitki besin elementlerinin alımı ile rekabete girerek bitkilerde beslenme eksikliğine yol açtığını bildirmişlerdir.

Villora vd. (1997), tarafından yapılan çalışmada iyon dengesizliğinin köklerde hücre zarı geçirgenliğinin bozulmasına, bitkinin beslenme rejimini etki altına alarak, metabolik fazda kullanılan bazı temel elementlerin alımını engellediği, bu durumdan dolayı fizyolojik sorunların ortaya çıkmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür.

Romero vd. (1997). Yaprak dokularında Na konsantrasyonunun artması fotosentez ve transpirasyonu olumsuz yönde etkilemekte, K ve Na iyonlarının antagonistik etkiye neden olmakta ve bunun sonucunda K eksiklikleri ortaya çıkmaktadır. Tuz miktarının yüksek olması, bitkinin Ca^{++} alımını ve taşınımını azaltarak, Ca^{++} yetersizliği ve iyon dengesizliğine neden olmaktadır (Cramer ve ark. 1986, Huang ve Redman 1995). Tuz stresinde bitki de olumlu etkiye sahip bir element olan Kalsiyum, yüksek oranda dışarıdan Ca^{++} uygulaması, Na^+ iyonuna karşı hücre zarında geçirgenliği azaltmaktadır. Böylece sodyumun pasif alımla bitkide ve hücre içinde birikmesi önlenmektedir (Hoffman vd. 1989, Whittington ve Smith 1992).

Zhu (2001) araştırmasında da, tuz stresinin bitki de stomaların kapanmasına neden olduğu, kloroplast yapısının bozulmasıyla CO_2 fiksasyonunun azalmasına yol açtığını, bu durumların da fotosentezi olumsuz yönde etkilediğini bildirmiştir.

Zhang ve Blumward (2001) yaptıkları çalışmada, Na iyonunun vakuollerde birikmesini sağlayan geni domates bitkisine aktardıktan sonra elde edilen transgenik bitkilerin, tuzlu koşullarda yetişmiş, meyve olgunlaşma dönemine kadar incelenen bitkilerde tuzun yaşlı yaprakların vakuollerinde depolandığı bildirilmiştir. Buna ek olarak ise meyvelerde çok düşük oranlarda bulunduğunu kaydetmişlerdir. Yüksek tuz kontaminasyonu bitkilerde bodur büyümeye ve kök büyümesinde gerilemeye yol açmaktadır. Toprak üstü organların gelişimi olumsuz etkilenir, bitki de tomurcuk oluşumu azalır ve yapraklar olması gerekenden daha küçük halde kalır. Hücrelerin ölmeleri sonucu ise köklerde, yaprak kenarlarında, tomurcuklarda ve büyüme uçlarında nekrozlar meydana gelir. Büyüme mevsimi bitmeden nekrozların olduğu yapraklarda kuruma görülür ve en sonunda bitkinin tamamı kurur (Larcher 1995).

Yokoi vd. (2002), bitki bünyesine alınan tuzların kimyasal yapısı nedeniyle apoplast ve simplast taşınım sırasında su potansiyeli özelliği açısından dengesizliklerin ortaya çıktığını, böylece bitki gelişimini olumsuz etkilediğini belirtmektedir. Hücre duvarı turgor basıncının düşmesi ile birlikte bitki gelişimi yavaşlamaktadır. Turgor kaybı ile oluşan su potansiyelindeki farklılıklar hücresel seviyede su kaybına neden olmaktadır. Net karbondioksit asimilasyon oranı, stoma iletkenliği ve transpirasyon oranı tuz stresi sırasında azalır. Başta yan kök gelişimi olmak üzere büyüme ve gelişme şiddetli bir biçimde azalır (Tattini ve ark, 2002).

Arbona vd. (2003), yaptıkları çalışmada turuncgillerde farklı tuz konsantrasyonlarında antioksidan savunma mekanizmalarını incelemişler ve enzimatik olan, enzimatik olmayan antioksidanların verdikleri tepkileri araştırmışlardır. Tuzluluğun etkisiyle birlikte bitkilerde oksidatif stres olduğu ve bu durumdan kaynaklanan zararlanmaların olduğu bildirmişlerdir. Oksidatif zararlanma miktarları; SOD, APX, MDA, CAT ve GR aktiviteleri ile enzimatik olmayan antioksidanların

miktarlarını ölçülerek belirlenmiştir. Ayrıca bitkilerde prolin birikimi de ölçülerek oksidatif zararlanmayı belirlemişlerdir. Turunçgiller tuzun neden olduğu oksidatif strese enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların miktarlarında artma meydana gelmesi ile bir tepki oluşumu göstermiştir. Stres süresinin uzamasıyla bu savunma bileşik ve enzimlerin arttığını göstermiştir. MDA içeriğinde önemli ölçüde bir değişiklik olmamakla birlikte, tuzun neden olduğu oksidatif stresten çok Cl^- stresinin zararlı olduğu belirlenmiştir. Ulaşılan bulgulara ilaveten 30 mM NaCl uygulanan bitkilerde yedi günde prolin içeriğinin en yüksek seviyeye ulaştığı, uygulanan tuz miktarı arttıkça ise bitkilerdeki prolin miktarında arttığı bildirilmiştir.

Tuz stresi ve tuz stresi ile birlikte bor uygulamalarının bitki bünyelerinde prolin birikimini arttırdığı belirlenmiştir. Stres altında bitkilerde prolin miktarının artmasıyla ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Gunes vd. (1999) biberde, Arbona vd. (2003) turunçgillerde, Turan ve Aydın (2011), fasulye bitkisinde tuz konsantrasyonlarının artan uygulamalarının ve tuz stresi ile birlikte bor uygulamasının bitki bünyesinde prolin miktarlarını artırdığını bildirmişlerdir.

Kehu vd. (2010) Mandalina (*Citrus reticulata* blanco), Limon (*Citrus limonia* osbeck) ve Portakal (*Citrus grandis* osbeck) turunçgillerin tuz stresine karşı göstermiş oldukları tepkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada NaCl tuzunun çeşitli enzimatik antioksidanlar üzerindeki etkilerini belirlemek için bitkiler 21 gün boyunca farklı NaCl (0,5, 0, 100, 150, 250 ve 350 mmol/L) uygulanmıştır. Bitkilerin yaprakları glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) maddeleri bakımından analizler yapıldı. Katalaz içeriği bitkilerin yapraklarında tuz stresi altında azalma göstermiştir. Glutatyon içeriği ise kontrole göre 350 mmol/L 'de %137 ile % 90.8 oranında artış göstermiştir. Çalışma sonuçlarına göre ise enzimatik antioksidanların NaCl çözünürlüğünde önemli rol oynadığı saptanmıştır.

Grewal (2010) tarafından yapılan çalışma da yüksek miktarda tuz uygulamalarının kök gelişimi ve yeşil aksam ile kök/gövde oranı ve su kullanım etkinliği gibi parametreleri olumsuz etkilediğini belirtmiştir. Ancak, tuza dayanıklı olan bitki türlerinde ise Ca/Na ve K/Na oranlarının daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Balal vd. (2011) Turunçgillerin tuz stresine karşı göstermiş oldukları tepkileri belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, on farklı turunçgil anacı 90 gün boyunca, 30, 60 ve 90 mM NaCl tuz stresine maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda yüksek düzeyde bulunan tuz konsantrasyonlarında yaş - kuru sürgün ve kök ağırlıklarında büyük ölçüde azalmalara sebep olmuştur. Bu değişimlerin sebebi olarak yaprak klorofil miktarındaki azalmalar gösterilmiştir. Buna ilaveten tuz seviyesinin artması ile prolin miktarı artmış ve bu osmolitin tuz stresine tolerans sağlamada önemli rol aldığı belirlenmiştir.

Eisa vd. (2012), Na ve Cl nedeniyle ozmotik potansiyelin azaldığı tuzlu koşullarda yaprak su potansiyelinin de azaldığını kinoa bitkisinde yaptıkları çalışmada ortaya koymuşlardır. Yaprak su potansiyeli; - 0.6MPa olan kontrol koşullarından - 5MPa olan 500 mM NaCl stresi koşullarına geçildiğinde derhal düşmektedir. Benzer bulgular çok sayıda araştırmacı tarafından teyit edilmiştir (Kusvuran 2011). Kavun

bitkisinde tuzluluk yaprak su potansiyelini dramatik bir biçimde düşürmüştür. Aşılama ile elde edilmiş aşılı bitkiler tuzlu koşullarda yetiştirildiğinde aşısız olanlara göre daha yüksek yaprak su potansiyellerine sahip olmaktadır (Martinez-Ballesta vd. 2010)

Sodyum'un spesifik etkileri daha çok üzüm bağı, turunçgiller, avokado ve sert çekirdekli gibi çok yıllık - odunsu bitkilerde görülür (Mass 1990; Mass 1986). Sodyum zararlanmalarının belirtileri, daha çok yaşlı yapraklarda görülmektedir. Sodyum toksisitesi yaprak ucundan başlayarak yaprak kenarları boyunca yanıklıklar ve bitkide doku ölümleri şeklinde kendini göstermektedir. (Chapman 1968).

Bitkilere uygulanan yüksek NaCl konsantrasyonu, bitkide toksik seviyede klor birikimine neden olmaktadır. Tuz stresi altındaki bitkilerde aşırı klorür birikimi sonucu ortaya çıkan olumsuzluklar, asmalarda sürgün uzamasındaki azalma, limonlardaki klorofil miktarında oluşan kayıplar (Nieves vd. 1991) ile portakallarda fotosentez miktarı ve stoma iletkenliğindeki azalmalar (Banuls ve PrimoMilo 1990) olarak yorumlanmıştır. Kavun bitkisinde de tuzun zararlı etkisinin klor toksisitesinden kaynaklandığı yönünde görüşler bulunmaktadır (Kuşvuran 2004; Demir vd. 2012).

Aşırı miktarda tuz kontaminasyonu altındaki bitkilerde kalsiyum alımı ve taşınımı azalmakta, bunun sonucu olarak bitki bünyesinde kalsiyum yetersizliği ile birlikte bitki de iyon dengesizlikleri oluşmaktadır. (Cramer vd. 1986; Huang ve Redmann 1995). Kalsiyumun tuz stresine karşı koruyucu bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu durumu çeşitli mekanizmalarla açıklamaya çalışan araştırmacıların ortak düşünceleri; kalsiyumun hücre zarını sağlamlaştırdığı ve bitkilerde iyon alımını ve taşınımında seçiciliğin kontrolünü sağladığı yönündedir. Kalsiyum iyonunun, hücre zarındaki negatif yüklü temel gruplarla bağlantı yapması sonucu hücre zarının yapısal bütünlüğünü korunduğu bildirilen açıklamalar arasında yer almaktadır (Cramer vd. 1986; Lauchli 1990). Cramer vd. (1986), tarafından su kültüründe yetiştirilen pamuk bitkilerine NaCl ilave ettiklerinde, bitki gelişimi ve kök büyümesinin tuzluluktan etkilendiği bildirilmiştir. Ancak ortama Ca eklenmesiyle kök gelişiminin bu durumdan olumlu yönde etkilendiğini belirlemişlerdir.

Tuz, bitki doku ve organlarında aşırı birikmesi sonucunda, kök uzaması ve biyokütle miktarında azalma, klorofil biyosentezini önleme, bazı enzim aktivitelerinde artma, azalma veya aktiviteyi önleme gibi etkilere yol açmaktadır. Bununla birlikte, hücre duvarı stabilitesini ve hücre turgorunu olumsuz etkilemekte bunun yanı sıra, yaprak alanının azalmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla bitki - su düzenini olumsuz etkilemektedir (Miranda ve Ilangovan 1996). Aynı zamanda, kloroplast ultrastruktürünü bozarak, klorofil sentezini azaltarak, elektron taşınmasını engelleyerek ve Calvin döngüsü enzimlerinin aktivitelerini inhibe ederek bitkilerin fotosentez oranını azaltır. Toprakta pH, partikül büyüklüğü, katyon değişim kapasitesini, kök yüzey alanı, kök eksüdasyonu ve mikorizal transpirasyon oranı bitkilerin varlığını ve alım gücünü etkilemektedir (Sengar vd. 2008). Tuzun kökler tarafından tutulması, sürgünlere göre daha fazla olmaktadır. Bu durum, kök gelişimini azaltmakla birlikte bitkilerin anyon ve katyon alımında oluşan dengesizliklerden dolayı, bitkiye makro ve mikro besin elementi alımını da olumsuz yönde etkilemektedir (Sharma ve Dubey 2005). Sodyum iyonu kök sistemi tarafından alınarak kökler içinde biriktirilir. Bu durum turunçgil ve yerbıstığında "Saçak Kök Yenilenmesi - Fine Root Turnover" saçak köklerin artırılması gibi bir savunma mekanizması olduğunu ortaya çıkarmıştır (Tozlu vd. 2000; Doğan vd. 2013).

Tuz stresi bitkiler üzerinde oksidatif hasara neden oldukları için; lipid peroksidasyonuna (Keller ve Hammer 2004), hücre ve tilakoit membran yapısının bozulmasına, kloroplast yapısındameydana gelen değişimlere bağlı olarak klorofil miktarında azalmaya ve bu sebeplerden dolayı kloroza neden olmaktadır. (Braz 2005). Proteinlerin (-SH) gruplarına bağlanarak enzim aktivitesinin engellenmesine (Van Assche ve Clijsters 1990), oksidatif DNA hasarına (Hernandez-Jimenez vd. 2002; Banfalvi 2011), kromozomsal anormalliğe (Candan 2013) ve diğer mutlak bitki besin elementlerin eksikliğine yol açmaktadır (Meharg 1994; Ouzounidou 1998). Tüm bu etkileşimler bitki fizyolojisini olumsuz yönde etkilemektedir.

Tuz stresi sonucu sinyal iletişiminden görevli salisilik asit ve jasmonik asit gibi sinyal molekülleri, absisik asit sentezini harekete geçirmekte, artış gösteren ABA ise bekçi hücrelerine taşınarak stomaların kapanmasına neden olmaktadır. Tüm stres etmenlerinde görülen bazı faktörler tuz stresinde de görülmekte ve strese ilk tepki olarak bitkiler su kaybını en az düzeye indirebilmek veya önleyebilmek için stomalarını kapatıp, su aktivitesi düzenlemeye çalışmaktadırlar. Stomalar kapandığında yeteri kadar CO₂ fiksasyonu sağlayamayan bitkide, karbondioksit girişi engellenerek fotosentez azalmakta, fotoinhibasyon ile birlikte oksidatif stres oluşmaktadır. Hücre içinde CO₂ fiksasyonunda yer alması gereken, ancak yeterli gaz girişi olmadığı için indirgeme işleminde kullanılamayan elektronlar, klorofiller tarafından tutulan ışık enerjisi ile birlikte O₂'nin aktivasyonunda ve indirgenmesinde rol almaya başlar. Böylece canlı hücre için çok zararlı bileşikler olan serbest oksijen radikallerinin oluşumu meydana gelir. Serbest oksijen radikalleri nükleik asitler, protein membran lipitleri ve klorofil gibi hücre bileşenlerinde hasar oluşturarak hücrelere zarar verir. (Asada 1994; Foyer vd. 1994; Makela vd. 1999; Munns 2000). Serbest oksijen radikallerinin oluşum mekanizmaları, türevleri hakkında önceki yapılan çalışmalarda geniş açıklamalar ve detaylı literatür bilgisi verilmektedir (Yaşar 2003; Doğan 2008; Kuşvuran 2004; Demir 2009; Sevgör 2010).

Tuzlu koşullarda ortaya çıkan en yaygın zararlanma, aşırı miktarda ROT (Reaktif Oksijen Türleri) yani serbest oksijen radikallerinin birikimidir. Fotosentezin azalması sonucunda hücrede gereğinden fazla biriken elektronlar karbon asimilasyonunda kullanılacak yerde oksijen moleküllerini aktive ederler, böylece çok zararlı olan radikaller oluşur (Halliwell ve Gutteridge 1985; Elstner 1987; Makela vd. 1999; Çürük vd. 2009). Tuzluluk ve kuraklık gibi stres koşullarında oluşan serbest oksijen radikalleri, hücre zarlarındaki lipitlerin peroksidasyonuna neden olurken, membran bütünlüğünün ve seçiciliğin de azalmasına yol açmaktadır. Lipit peroksidasyonu, yaşayan her organizmada en yüksek oranda zararlanmaya neden olan biyokimyasal bir reaksiyondur. Membran zararlanması, farklı stres koşullarında lipitlerin yıkım seviyelerinin belirlenmesinde, tek başına kullanılabilecek yetkin ve zararlanma şiddetini çok yüksek doğrulukta veren bir parametre olarak değerlendirilmektedir (Makela vd. 1999; Gill vd. 2010). Stres çalışmalarının birçoğunda, stres koşullarındaki bitkilerin hücre zarlarında ortaya çıkan hasarın belirlenmesinde lipit peroksidasyonun bir ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı belirlenmektedir. Lipit peroksidasyonu, oksidatif zararlanmanın ortaya konulmasında sıklıkla kullanılan bir indikatör olup, MDA miktarında ortaya çıkan artış hücre zarı hasarındaki artışın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Niki 1987).

Tuzluluk nedeniyle ortaya çıkan oksidatif stres, özellikle artan hidrojen peroksit ve lipid peroksit dozu yüzünden mitokondriler üzerinde zararlı etkiler oluşturmaktadır (Mittova vd. 2004). Tuz stresi sonucunda Reaktif Oksijen Türleri (ROT)' ni zararlı bir halden zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidan miktarları ve enzim aktiviteleri, bitkilerin oksidatif strese karşı ortaya koydukları en önemli savunma mekanizmalarını oluşturmaktadır. Kloroplastlar, zararlı oksijen türevlerine karşı antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bunların başında ise; vitamin C, vitamin E, glutatyon ve karotenoidler gibi antioksidan maddeler gelmekte olup; süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz gibi etkin antioksidatif enzimler yer almaktadır. Bu mekanizmalar bitkide stres anında hücre savunma sisteminde olabildiğince hızlı ve olumsuz şartlarda bile aktive olmaktadır.

Enzimatik antioksidan savunma mekanizması denildiğinde, özellikle kloroplast ve mitokondride bulunan H_2O_2 'yi uzaklaştırmak için sırasıyla askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) ortaya çıkmaktadır. Bunun yanında H_2O_2 'yi etkin bir şekilde ortadan kaldıran katalaz (CAT) ve süperoksit anyonlarını temizleyen süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleridir (Scandalios 1997; Ye vd. 2000; Dixit vd. 2001; Shalata vd. 2001; Shigeoka vd. 2000; Demiral ve Turkan 2005; Azevedo-Neto vd. 2006). Bitkilerin bu enzimleri aktive edebilme yetenekleri her bir bitkinin tür ve çeşidine göre farklılık göstermekte, bitkinin stres koşullarına karşı dayanım mekanizması üzerine büyük bir önem taşımaktadır (Yaşar vd. 2012). Bitki hücrelerinde oluşan stres sonucu süperoksit radikalleri, SOD enziminin reaksiyonu ile H_2O_2 'e dönüştürülmektedir (Dixit vd. 2001; Mittova vd. 2004). SOD'un katalize ettiği reaksiyon sonucunda oluşan ve kuvvetli bir oksidant olan H_2O_2 'nin hücrede birikimi, CAT ya da APX - GR döngüsü ile önlenir. Bitkilerin strese tolerans mekanizmaları, bünyelerinde bulunan ve ROT'u zararsız hale getiren antioksidanlar ve antioksidan enzimler ile doğrudan bağlantılıdır (Ashraf ve Ali 2007).

MDA miktarının ve antioksidan enzim aktivitelerinin tuzluluk stresi altında arttığı son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda da vurgulanmaktadır (Xue vd. 2013; Howladar 2014; Tuna vd. 2014). Bununla birlikte enzimlerden bazılarında düşüşler yaşanırken, bazılarında artışlar tespit edilebilmektedir. Örneğin Perveen vd. (2014), iki buğday çeşidinin tuz stresi altında antioksidatif enzimlerini ölçmüşler, SOD aktivitesinde azalma belirlendiği halde CAT enziminde artışların olduğunu kayıt altına almışlardır. Benzer durumları rapor eden Yaşar vd. (2006), antioksidatif enzim aktivitelerinin birbirini takip eden zincir reaksiyonlardan oluştuğunu, stresin farklı günlerinde alınacak örneklerde farklı enzimlerin daha yüksek aktivitede olduklarının belirlenebileceğini ifade etmişlerdir. SOD stresin erken dönemlerinde daha fazla tespit edilebilirken, daha sonra bunun yerini CAT almaktadır. Abu-Murlefeh (2015) de, tolere edilebilir seviyelerde artış olduğu halde yüksek tuz seviyelerinde (200 mM NaCl) SOD ve APX enzimlerin aktivitelerinde düşüşler belirlendiğini bildirmişlerdir. Yaşar vd. (2006) bu konuda da önerilerde bulunmakta olup, özellikle yüksek tuzluluk seviyelerinde çalışıldığında stresin erken dönemlerinde örnek alınması gerektiğini, ölüme yaklaşan bitkilerdeki enzim aktivitelerinin sağlıklı sonuçlar veremediğini ifade etmektedirler. Çalışmaların ortak değişmez bir paydasını stres koşullarında artan MDA miktarı oluşturmaktadır. MDA miktarı artışının plazma membranının, ROT tarafından lipid peroksidasyonu sonucundaki hasarı nedeniyle oluştuğu açıklaması da yine ortak noktalardan birisidir.

Tuzluluk bitki büyümesini olumsuz etkilemektedir. Bunu da nitrat, fosfor, potasyum ve kalsiyum emilimini azaltarak, hücre içerisindeki iyon birikimini artırarak ve osmotik stres sonucu bitki besin elementi alımı – taşınımını sınırlandırarak etkilemektedir. Tuz stresi bitki bünyesine etki altına aldığı sodyum ve klor iyonları proteinlerin hidrasyon katmanlarına emilerek proteinlerin yapısını ve işlevini bozmaktadır. Tuz stresi nedeniyle gerçekleşen iyon toksisitesi, osmotik stres ve besin elementlerinin azalması metabolik aktivitede dengesizlikler oluşmasına neden olmaktadır (Taiz ve Zeiger 2010; Batool ve Sahzad 2014).

Son yıllarda, “iyon dengesi (regülasyonu)” bitkilerin tuz stresine karşı göstermiş olduğu dayanıklılık mekanizmasında çok önemli bir faktörü oluşturmaktadır. Tuzluluk sonucu Na birikiminin, yapraklardaki $\text{Ca}^{++} / \text{Na}^+$ ve K^+ / Na^+ oranlarının artan düzeylerde olması, tuzluluğa karşı dayanım konusunda önemli parametrelerden birini oluşturmaktadır (Cuartero ve Fernández-Muñoz 1999; Al-Karaki 2000; Daşgan vd. 2002). “Tuza dayanım/tolerans”, bitkilerde farklı şekillerde kendini göstermektedir. Levitt (1980)’in bildirdiği iki farklı mekanizma, daha sonraki yıllarda Marschner (1995) tarafından geliştirilerek açıklanmıştır. Bu açıklamalar doğrultusunda, eğer bir bitkide tuz stresine karşı tuz iyonlarına karşı “sakınım” (exclusion) ve “kabullenme” (inclusion) mekanizmalarından bir tanesi iyi gelişmiş ise, bu bitkinin genotip özellikleri bakımından tuza karşı toleransı yüksek düzeyde olmaktadır (Kuşvuran vd. 2008). Tuzlu koşullarda bitkilerin Na^+ iyonuna tercihen Ca^{++} veya K^+ iyonlarının bünyesine alımını tercih etmeleri nedeniyle seçicilik özelliğinin gelişmiş olması ve bununla birlikte ölçülen yüksek Ca/Na ve K/Na oranları, tuz stresine karşı tolerant türlerin, genotiplerin seçilebilmesinde kullanılabilecek bir referans olarak belirtilmektedir (Muhammed vd. 1987; Maathuis ve Altmann 1999).

2.2.1. Bitkilerde tuz stresine karşı geliştirilen mekanizmalar

Tuzluluk stresi sonucu oluşan osmotik stres ve iyon toksisitesine karşı bitkiler, farklı moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bunların bazıları; bazı iyonların tercihen biriktirilmesi veya bünyeden atılması, kökten iyon alım ve taşınımının kontrolü, bitkinin hücre, doku ve organ düzeylerinin belirli bölümlerinde iyon biriktirilmesi ve osmoregülasyonların sentezi ile antioksidan sistemler oluşturmaları olarak sıralanabilir (Parida ve Das 2005). Bitki tür, çeşit ve hatta organlarının tuz stresine karşı tepkileri fizyolojik ve metabolik değişimler bakımından farklılıklar göstermektedir (Awank vd. 1993). Tuz stresine dayanım için bitkide osmoregülasyon mekanizması olması gerekmektedir. Osmoregülasyon, tuz iyonların bünyeye alımı ve hücre içinde depolanması, çözünebilir bazı organik maddelerin sentezlenmesi ile sağlanabilmektedir (Marschner 1995). Bitkilerin tuzlu koşullara karşı gösterdiği tepkiler bitki dokuları ile ortamda bulunan tuz konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Delzoppo 1999).

Tuzlu ortamlarda yetişen bitkiler yapılarındaki tuz miktarını doğrudan fiziksel müdahale ve dolaylı biyokimyasal destekleme mekanizmaları ile düzenlerler. Bu mekanizmaların bazıları aşağıda sıralanmıştır.

Fiziksel müdahale mekanizmaları

a) Tuzun bünyeye alınmaması ile tuzdan sakınma. Tuzun konsantrasyonu rizosferde

yoğun olduğunda kök bazı iyonlar için (Na^+ , Cl^-) daha düşük geçirgenlik gösterir. Ancak belli bir miktar tuz yine de bünyeye alınır (Lüttge 2002). İyon alımının engellenmesi kaspari şeridinin pasif taşınımı engelleyip hücreler arasındaki iyonları membrandan geçmeye zorlamasıyla olur (Botella vd. 2005). Bazı bitkiler bünyeye alınan tuzu kök, gövde, yaşlı yaprak ve çiçek saplarında tutarak, meristem, genç yaprak ve meyveler gibi hassas dokulara ulaşımını kısıtlar (Larcher 1995). Diğer bir yolda köke Na^+ girişini kısıtlarken kökten toprak çözeltisine doğru dışarı rizosfere Na^+ taşınımını artırmaktır (Tester ve Davenport 2003). Bu düzenlemeler iyon taşınma hücrelerinde bulunan seçici kanallarca (transport proteinleri gibi) yapılır (Botella vd. 2005). Bu olaylar kaspari şeridinin pasif taşınımına izin vermeyip iyonların hücre zarından geçmeye zorlaması ve hücre zarında bulunan kontrol noktalarının türe özgü seçiciliği tarafından kontrol edilir.

b) Tuzun uzaklaştırılmasıyla (eleme, atma) sakınma. Bitkiler özelleşmiş yapılar aracılığıyla tuzun uzaklaştırılması ve tuz saklanan bölümlerin uzaklaştırılmasıyla (dökülmesiyle) kurtulurlar. Tuzun bu şekilde uzaklaştırma işlemi epidermisde modifiye olmuş hücre ve dokular tarafından yapılır (trikom - salgı tüyleri ve tuz salgı bezleri) (Munns ve Tester 2008). Salgı bezleri tuzu salgılayarak, trikomalara ise büyük vakuollerinde biriktirerek tuzu zarar verecekleri dokulardan fizyolojik olarak uzaklaştırılır (Breckle 2002). Bir diğer mekanizma ise, tuzun aşırı akümüasyonu yoğunlaşmış olan yaşlı yaprakların dökülmesiyle tuzun atılmasıdır. Bu, tuzlu ekolojilerde yaşayan ve herhangi bir tuz uzaklaştırma bitkilerin karakteristik bir özelliğidir (Cram vd. 2002).

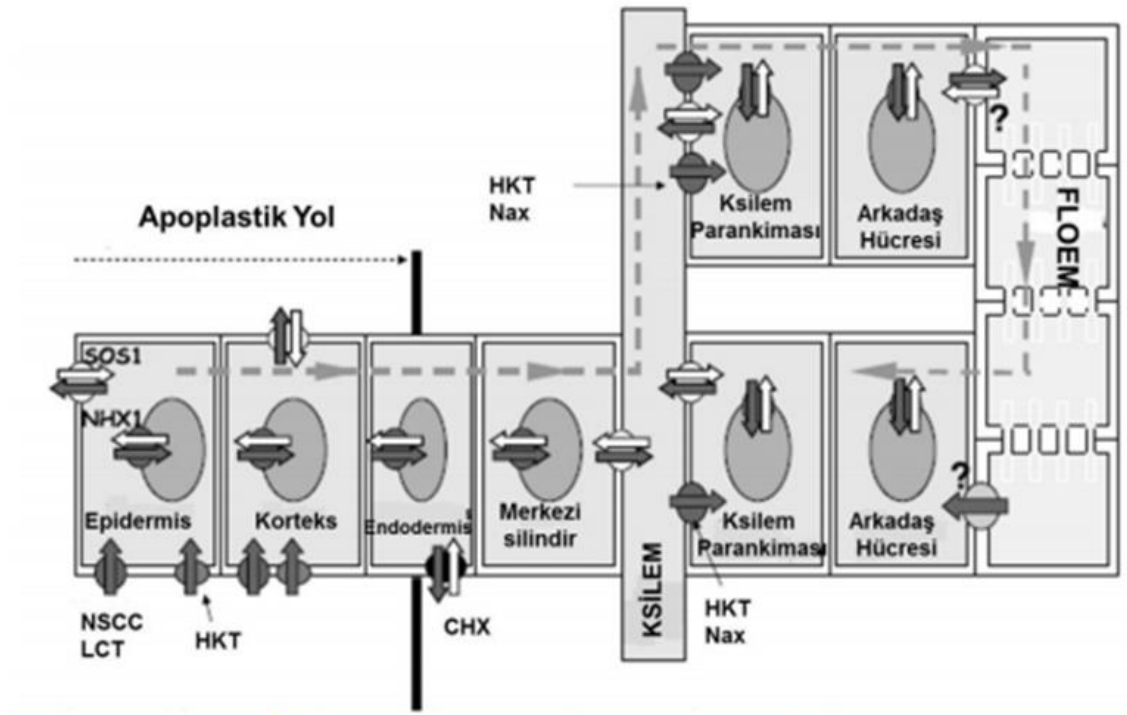
c) Dokularda sukkulentlik veya retranslocation (yeniden dağılım) ile tuz konsantrasyonu seyreltilmesi. Sukkulentlik, yaprakta fazla tuzun seyreltilmesini sağlayan mekanizmadır (Glenn vd. 1999) ve hücre duvarı elastikiyetiyle ilişkilidir. Sukkulent yapıdaki tuzcul (halofitik) bitkilerde morfolojik ve anatomik farklılıklar; sünger ve depo parankimasını oluşturan hücrelerin hacim ve su içeriklerindeki artış ile ortaya çıkan yaprak kalınlığında artma buna karşılık stomaların sayısı olarak azalmasıdır (Dajic 2006). Retranslokasyon ise aktif dokularda yüksek transpirasyonun tuzun birikimine neden olmaması için, Na^+ 'un ve Cl^- 'un tekrar floeme aktarılmasıyla bitki bünyesinde tuzun yeniden ve buyapraklarda tuz miktarının seyreltilmesi ile gerçekleşir (Larcher 1995). Floeme geçen iyonlar aşağı hareketle köke, buradan tuzu uzaklaştıracak özelleşmiş yapılara ve/veya ksileme geçerek yeniden üst dokulardaki tuz depolayan yaşlı yapraklara dağıtılır (Botella vd. 2005).

Biyokimyasal Destekleme Mekanizmaları

Tuz stresi turgor basıncını artırmakta ve bitkinin turgoru korumaya yönlendirmektedir. Birçok araştırmada bu konudaki K⁺ 'nın aktif rolü teyit edilmiştir (Hsiao ve Läuchli 1986; Guardia ve Benlloch 1980; Mengel ve Arneke 1982). Bu durum hücre içinde uygun K⁺ / Na⁺ oranı korunarak hücre içi Na⁺ miktarının toksik düzeye çıkması engellenmekte bu arada da turgor basıncı için su girişinin sağlanmasıyla gerçekleşmektedir (Reinhold ve Guy 2002). Kökler toprak çözeltisindeki NaCl'e temas ettiğinde Na⁺ köke iyon kanalları veya kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla pasif olarak girer. Pasif difüzyon sürecinde HKT - High affinity Potassium Transporter (yüksek afiniteli K⁺ transporter), LCT - Low affinity Cation Transporter (düşük afiniteli katyon transporterler) ve NSCC None-Selective Cation Channels (seçici olmayan katyon

kanalları) iyon kanalları kullanılır (Şekil 2.3). Bitki türüne göre kanallar değişiklik gösterebilir (Apse ve Blumwald 2007). Bitki bünyesine girerken yolun ilk bölümünü kök epidermisi ve korteksi oluşturur. Taşıyıcı kanallar yardımıyla giren Na^+ , yine hücre zarındaki taşıyıcılar veya plazmadezmatalarla silindire ve nihayet ksileme'ye taşınırlar. Bu simplastik yol dışında, Na^+ , apoplastik olarak hücreler arası boşlukta geçirgen olmayan endodermisteki kaspari şeridine kadar taşınırlar. Buradan yine proteinler yardımıyla bir membran geçerek simplastik yola geçer kaspari şeridini geçerek ksileme ulaşırlar (Botella vd. 2005). Ancak, CHX benzeri katyon/proton antiportları ile Na^+ endodermal hücrelerden ksileme taşınabilir ve bu şekilde ksileme taşınım apoplastik yolla da olabilir (Şekil 2.3).

Bu şekilde köke giren Na^+ 'un bir kısmı geçilen hücrelerin vakuollerinde Na^+ / H^+ antiportları (NHX) vasıtasıyla depolanarak sürgüne taşınacak olan miktarın azalmasına yardımcı olur (Şekil 2.3). Sodyum'un ksileme yüklenmesi Na^+ / H^+ taşıyıcıları (SOS1) kanalıyla olur. Kökte ksilemden yeniden köke geri yüklenmesi Na^+ 'a karşı nonselektif olan uniportlar (HKT ve Nax) ve NSCC kanalları aracılığıyla olur (Apse ve Blumwald 2007). Yaprakta aşırı biriken Na^+ , ksilem veya floeme geri yüklenerek köke geri gönderilir veya NHX aracılığıyla vakuolde biriktirilebilir (Botella vd. 2005). Sodyumun floem vasıtasıyla köke yeniden taşınmasının mekanizması net olarak açıklanamamış olsada Arabidopsis ile yapılan bir çalışmada, Na^+ 'un sürgünde floeme aktararak köke geri gönderilmesine AtHKT1 geninin ürünü olan Na^+ taşıyıcılarının aracılık ettiği belirtilmiştir (Berthomieu vd. 2003).



Şekil 2.3. Sodyum'un toprak- kök ve iletim demetlerindeki hareketinin şematik gösterimi (Apse ve Blumwald 2007'den modifiye edilerek alınmıştır)

Tuz stresine karşı bitkiler, birbiri yerine kullanılabilen (compatible) koruyucu osmotik bileşikler üretirler (Hussein vd. 2008). Osmolit olarak isimlendirilen bu bileşenlerden iyon olarak en yaygını K^+ olsa da, genel olarak büyük bölümü organik maddelerdir (Parvaiz ve Satyawati 2008). Bunlar, metabolizmada toksik olmayan, molekül ağırlığı düşük ve yüksek molar konsantrasyonlarda biriken nötral maddelerdir (Djilianov vd. 2005). Potasyum gibi inorganik iyonlar vakuolde birikirken, organik osmolitler sitoplazmada genellikle de organellerde birikirler (Moghaieb vd. 2004). Osmolit birikimi türe/çeşide göre su girişini artırmak veya çıkışını azaltmak amacıyla matrikste (hücrelerarası boşluk) artan osmotik basınca orantılı olarak değişir (Parida ve Das 2005). Osmoregülasyon yanında osmolitler, stres koşullarında şaperonlar gibi davranma, PSII kompleksindeki enzim ve protein yapılarının stabilizasyonunu sağlama hücre zarı bütünlüğünü ve pH'sını koruma, N depolaması ve oksijen radikallerinin detoksifikasyonu aktivitelerinde rol alırlar (Chen vd. 2007; Vijayan 2009).

Osmolitler, karbonhidratlar (trehaloz, sukroz), aminoasitler (prolin), amonyum bileşikleri (glisin betain), ve polioller (mannitol) gibi gruplara ayrılırlar (Djilianov vd. 2005). Bunlardan bir aminoasit olan Prolinin sentez ve birikimi tuz stresi koşullarında diğerlerine göre daha fazladır (Ábrahám vd. 2003). Çünkü prolin sentezi, düşük su potansiyeli koşullarında (osmotik stress) strese verdiği yaygın bir cevaptır (Ashraf ve Harris 2004). Glisin Betain (GB) gibi betainler N atomlarınca metillenmiş amonyum bileşikleridir. Nötral bir amfoterik bileşik olan GB bitkinin stres toleransına orantılı olarak sentezlenerek akümüle edilir (Sakamoto ve Murata 2002). En önemli görevi, stres koşullarında enzim ve proteinlerin çalışmalarının durmasını önlemek için onların yapısal stabilizasyonu ile aktivasyonunu sağlayarak membran bütünlüğünü korurlar (PSII kompleksinde olduğu gibi; Sakamoto ve Murata 2002). GB sentezi kolinin oksidasyonu ile ışıktaki ve kloroplastta meydana sentezlemede kolin monooksijenaz ile betain aldehit dehidrogeaz enzimleri görev yaparlar. Ancak prolinin aksine stres koşulları kalkınca hızlı bir şekilde degrades olmazlar (Hare vd. 1998).

Tuz stresine dayanımla ilgili olarak akümüle edilen polihidrik alkoller (polioller) bitkilerde lineer (acyclic; mannitol, gliserol, sorbitol) ve dairesel (cyclik; ononitol ve pinitol) formlarıyla geniş olarak bulunurlar (Sun vd. 1999). Diğer osmolitler gibi polioller de osmoregülasyonda görev alırlar. Sodyumun vakuol veya apoplasta gönderilmesine yardımcı olarak suyun sitoplazma içerisinde tutulmasını kolaylaştırırlar (Bohnert vd. 1995). Ayrıca enzim-protein komplekslerini aktif oksijen radikallerinin etkilerine karşı korurlar (Djilianov vd. 2005).

Osmolit olarak sentezlenen karbonhidratlardan glukoz, fruktoz ve sukroz osmoregülasyonda görev alırlar; fruktoz ayrıca osmotik korumayada katkı yapar (Parida ve Das 2005). Trihalozlar disakarittir ve bitkilerde eser miktarda sentezlenerek biriktirilir. Osmotik stress altındaki bitkilerde hücre stabilizasyonunu sağlayarak osmotik koruyucu görevi yapar (Djilianov vd. 2005).

2.3. Kuraklık Stresi

Evren üzerinde devam eden yaşam döngüsü boyunca meydana gelen kuraklık, tuzluluk, aşırı miktardaki yağışlar, ani sıcaklık değişimleri gibi çevresel faktörlere bağlı stres koşulları abiyotik stresleri oluşturmakta, bitkide büyüme ve gelişmeyi doğrudan etki altına almaktadır (Taiz ve Zeiger 2010). Dünya üzerinde birçok alan kuraklık,

tuzluluk, yanlış sulama rejimi, sıcaklık değişimleri, pH ve ağır metal gibi faktörlerin neden olduğu stres etmenlerinden etkilenmekte, gün geçtikçe bu durum oldukça ileri düzeye taşınmaktadır. Bu stres faktörlerinin etkisi yada etki edilebilirliğinin artması özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için ekonomik ve sosyal problemlerin temelini oluşturmaktadır. Dünya üzerinde kullanılabilir tarım alanlarının sadece % 10 'luk bir kısmı herhangi bir abiyotik stres etmeni ile karşılaşmamıştır. Bu oranının dışında kalan % 90'lık kısımda, % 26 oranında en fazla karşılaşılan kuraklık stresi tehdidi altında olan alanlar gelmektedir (Blum 1985; Ashraf 1994). Kuraklık, akdeniz ekosistemlerinde bitki yaşamını sınırlayan önemli bir faktördür (Villar-salvador vd. 2004). Kuraklık oluşumu; sıcaklık, nem, yağışlar, evaporasyon, transpirasyon gibi belli başlı unsurlara bağlı olarak değişen ve gelişen bir olaydır. Kuraklık stresi genel bir ifade ile, “yeryüzünde bulunan çeşitli sistemlerce kullanılan doğal su varlığının belli bir zaman içerisinde ve bölgesel ölçekte ortalamanın altına inmesi sonucu ortaya çıkan su açığıdır” şeklinde tanımlanabilir (Semerci vd. 2008).

Dünya nüfusunun hızla artması ile ortaya çıkan besin ihtiyacına çözüm üretebilmek için yapılan çalışmalar, daha çok olumsuz çevre koşullarında dahi sürdürülebilecek tarımsal faaliyetler için yetiştirilebilecek bitki türlerini belirlemeyi hedeflemektedir. Dünyada meydana gelen bu olası durum, ülkemizde de tarım alanlarının giderek sınırlandırılması, üretimin artırılması açısından birim alandan daha fazla ürün elde etmeyi zor hale getirmektedir. Hücresel seviyede oksidatif bir hasar olarak ortaya çıkan kuraklık stresi, kurak ve yarı kurak bölgeler için verimi önemli ölçüde etkileyen bir faktördür. Kuraklık sorununu çözebilmek için tolerant genotiplerin seçilmesi en etkili yaklaşım olarak görülmektedir (Shalaby vd. 1993).

Su, ağaçların (odunsu bitkilerin) yaş ağırlığının yarısını (%50), diğer bitkilerin ise tamamına yakını (%90) oluşturmaktadır (Anjum vd. 2011). Bitkilerde su durumu iki şekilde incelenir. Bitki su ilişkisi genellikle bitki su potansiyeli (BSP) veya bitki su gerilimi (BSG) olarak belirlenir (Landis 1989). Su potansiyeli deyince, bir sistemdeki (toprak, bitki dokusu) suyun serbest enerjisiyle aynı sıcaklık ve basınç altındaki suyun serbest enerjisi arasındaki fark akla gelmektedir. (Cleary ve Greaves 1979; Yahyaoğlu 1987). Bitki su gerilimi ise, toprak nem içeriğine ve fidanın bunu absorblama yeteneğine, atmosferik buharlaşmaya (sıcaklık, nem vb.) ve stomaların kapanarak nem kaybını kontrol edebilme yeteneğine bağlıdır (McDonald 1984).

Kuraklık stresi bitki bünyesinde genel olarak su eksikliği ve kuruma olarak iki grup altında incelenebilir (Smirnoff 1993).

1. Su eksikliği, bitki bünyesinde kuraklık stresi algılandığında bitki su kaybını önlemek amacıyla stomalarını kapatarak ve gaz alışverişini en aza indirerek bünyesi üzerinde kısıtlamaya neden olan orta derecedeki su kaybına denilmektedir. Stomaların kapanmasına bağlı olarak CO₂ fiksasyonunun kısıtlanması ile birlikte bitkilerde oransal su içeriğinin yaklaşık %70'te kalması ile “hafif su” eksiliğinin görülmesidir.

2. Bitkilerde Kuruma, hücre yapısının ve metabolik aktivitenin tamamen bozulmasından kaynaklanan ve sonunda bitki bünyesinde enzimsel katalizör reaksiyonların durmasına neden olan aşırı miktardaki potansiyel su kaybı olarak tanımlanmaktadır. Kuraklık stresinde bu grupta yer alan bitkilerde kural olarak, kurumaya duyarlı olanların çoğunda vejetatif dokular, oransal su içeriğinin %30'un

altında kalmasıyla bu kapsamda iyileşme sürecine girememektedir (Smirnoff 1993).

Bitkinin gelişim evresi kuraklık stresinin oluşma döneminde su sıkıntısı üzerine etkili olup bitki büyüme ve gelişimi ile arasındaki etkileşime bağlıdır. Bitkide kuraklık stresinden ve oluşan bu koşullardan kaynaklanan verim miktarını belirleyen çok sayıda fizyolojik parametre de stres faktörlerinden etkilenmektedir. Bitkilerin kuraklık stresinin neden olduğu su eksikliğine karşı hassasiyeti en çok generatif döneminde olmaktadır. Araştırmalar sonucu, tohum oluşumunun başladığı ilk gelişim evresi içerisinde meydana gelen şiddetli kuraklık koşulları %95'lere kadar artan bir verim kaybına neden olabileceğini ortaya koymaktadır. Bitki çiçeklenme evresinde gerçekleşen kuraklık stresinin neden olduğu su sıkıntısı bitkide kısırlığa neden olduğu bilinmektedir (Farooq vd. 2009).

Bitkide stomaların açılıp - kapanmasında oluşan dengesizlikler, yaprak alanının genişlemesi gibi önemli morfolojik ve fizyolojik olayların, yaprak turgor potansiyelinin azalması ile ilişkili olduğunu ve stres boyutunun artmasıyla birlikte yaprak dokusunda oransal su içeriğinin azaldığı belirtilmiştir (Jones ve Turner 1978). Kuraklık stresinde ilk olarak toprağın, daha sonra bitkide bitki - su potansiyeli azalmakta olup stresin daha ileri seviyelere çıkmasıyla ise turgor basıncında azalma, stomaların kapanması, yaprak alanının büyümesinde azalma ve fotosentez oranında düşüş meydana gelmektedir (Öztürk 1998). Kuraklık stresi altında bitki yapraklarındaki su oranının azalması ile stomaların kapanmasının başka bir etkisi ise; yaprak sıcaklığının artması ve buna bağlı olarak membran stabilitesinin hasar görmesinden kaynaklanan hücre ölümleri olmaktadır (Farooq vd. 2009; Dolferus 2014).

McKimmie ve Dobrenz (1991) ile Ashraf vd. (1996), yapmış oldukları çalışmalarda, kurak ekosistemler de yetişen tolerant çeşitlerin gövdelerinde hassas çeşitlere göre daha az miktarda iyon biriktirdiğini bildirmektedirler. Bitkilerde yaprak dokularında strese karşı toleransları belirleyebilmek amacıyla oransal su içeriği ölçülebilmekte, kuraklık stresinin tayininde belirleyici rol oynamaktadır.

Bitkinin transpirasyon ile yitirdiği su miktarı aldığı su miktarından fazla olması durumunda, bitki organları arasında suyu kendi bünyelerine alabilmek için rekabet başlar; bitkinin farklı organları arasındaki su potansiyeli gradienti bozulur ve bitki su eksikliği stresine girer (Daşgan 2009). Diğer stres etmenlerinde olduğu gibi kuraklık; stresin süresine, şiddetine, diğer stres türlerinin varlığına, stresin boyutuna, strese maruz kalan bitkinin genetik özelliklerine, strese maruz kalan bitkinin yetiştiği ortama, bitkinin gelişimine bağlı olarak, kısıtlı çevre şartlarına adapte olmayı sağlayacak, birçok fizyolojik, morfolojik, ve biyokimyasal etkileri tetiklemektedir. Bu faktörlere bağlı olarak, bitkiler, kısıtlı çevre şartlarına adapte olmaya olanak yaratan tolerans mekanizmaları geliştirebilmektedirler (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005). Ziska ve ark. (1990), yaptıkları çalışmada, stress seviyesinin artmasına bağlı olarak Rubisco (ribulobisfosfat karboksilaz) etkinliğinde ve klorofil içeriğinde düşüş olduğunu gözlemlemiş olup, Ganieva ve ark. (1997) da kuraklık stresinin fotosentezi olumsuz etkilediğini göstermişlerdir. Stres koşullarının biyokimyasal aktivite üzerine dayanıklılığı, stres proteinlerinin sentezlenmesi ve düzenleyici osmotik potansiyel oluşumu için ihtiyaç duyulan poliaminler ve çözünür karbonhidratlar gibi metabolitlerin birikimi ile sağlanabilir (Guy vd. 1985; Kramer ve Wang 1990). Osmoregülatör olarak görev yapan değişik organik maddelerin ve çeşitli inorganik iyonların birikimi (Wyn

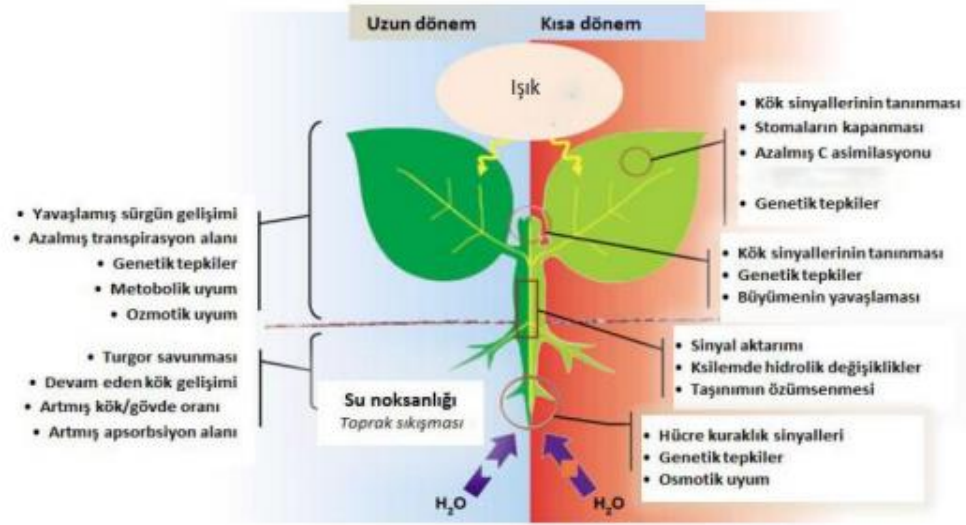
Jones 1981; Ashraf 1989), yapraklarda fotosentez etkinliği ve parametrelerinin belirlenmesi (Sharma ve Hall 1992; Belkhodja vd. 1994), hücre zarının seçici-geçirgenliğinde meydana gelen zararlanma (Blum 1985), kuru madde miktarının stres indeksi ile olan ilişkisi (Bousslama ve Schapanagh 1984) strese dayanıklı bitkilerin seçilmesinde kullanılabilecek etkin faktörler arasındadır.

Bitkide büyüme ve gelişme açısından stresin ana etkisi osmotik basınç ile açıklanabilmektedir. Bitkilerin kök bölgesindeki osmotik potansiyellerinde meydana gelen değişimlerine karşı osmotik durumlarını ayarlamalarına ‘osmotik uyum’ denmekte olup bunun için özel mekanizmalar geliştirmişlerdir (Hamada vd. 1992). Bitkilerin stres faktörü ile karşılaştıkları anda, iyonları, çözünebilir maddeleri ve serbest amino asitlerin birikimini sağlaması nedeniyle osmotik potansiyelleri düşer (Weimberg 1986). Bitkiler osmotik uyumu sağlayabilmek için, bazı organik bileşikler sentezleyerek ya da toprak çözeltisinden çeşitli iyonları bünyesine almaktadır (Ashraf 1994; Salama vd. 1994). Çok sayıda araştırmacı bitki - stres toleransı ile osmotik uyum arasında kuvvetle muhtemel bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir (Greenway ve Munns 1980; Yeo 1983; Weimberg 1987).

Su ile kaplı topraklarda oksijen çok çabuk tükenir ve anaerobik mikroorganizma işlevi sonucu oluşan metabolik ürünler toksik etkiye neden olur.(Güçlü 2006). Strese karşı gösterilen tepki açısından her bir bitki türü ve çeşidi, hatta organları arasında metabolik, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler bakımından önemli farklar bulunmaktadır (Belkhodja vd. 1994). Genetik özelliklere paralel olarak farklı şiddetlerde meydana gelen kuraklık stresinden etkilenme derecesi o genetik özelliklere sahip bitkinin stres faktörüne karşı geliştirdiği metabolik aktiviteye bağlıdır.

Bilindiği üzere bitkiler kuraklık stresine tepki olarak önemli fizyolojik, metabolik ve morfolojik değişimler gösterirler. Bu değişimler arasında bitkinin gelişme düzeyinin normal düzeyin altında kalması, kök boyunda azalma veya artmanın görülmesi, kök/gövde oranında artma, bitki de bulunan toplam yaprak sayısının ve yaprak alanının azalması, yaprak kütesinin toplamında azalma (Fischer ve Wood 1979; Karamanos ve Papatheohari 1999; Cattivelli vd. 2008; Jaleel vd. 2009) ve bitkinin yapraklarının kıvrılması (Terzi ve Kadioglu, 2006) gibi değişimler görülmektedir.

Bitkilerde meydana gelen fizyolojik cevaplar, kökten gelen sinyallerin tanımlanması, ozmotik düzenleme ve turgor kaybının oluşmasına, bitkide yaprak/su potansiyeli ilişkisinde, stomal iletkenlikte, içsel karbondioksit konsantrasyonunda, net fotosentez miktarında ve bitki büyüme ve gelişimi oranlarında önemli ölçüde azalmayı kapsamaktadır. Kuraklık stresine karşı verilen erken cevaplar, bitkinin hayatta kalmasını sağlamanın yanında glisin betain ve prolin gibi osmoregulatorlerin birikimi ile dehidrasyona karşı direnç oluşturarak bitkinin yapısal bütünlüğün sağlanması ve korunmasında, işlevselliğinin sürdürülmesinde etkili olmaktadır (Pinhero ve Paliyath 2001). Mevsimsel evotranspirasyonun ve bu durumdan kaynaklanan verimde azalmaya neden olan daha uzun vadede stomaların kapanması, karbondioksit derişiminde kısıtlama ve rubisco etkinliğinin azalması gibi faktörlerden dolayı fotosentez oranı azalmaktadır (Lawlor 1995; Pinhero vd. 2004). (Şekil 2.4)



Şekil 2.4. Uzun (sol) veya kısa (sağ) dönem kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde gözlenen değişimler (Chaves vd. 2003)

Bitkilerde kuraklık stresine karşı etkiler üç grup altında incelenmektedir. Bunlar; mekanik, metabolik ve oksidatif etkiler olmak üzere aşağıda detaylandırılmıştır.

1. Mekanik Etki: Turgor kaybı ile meydana gelen, yani bitki hücrelerinde belirgin su kaybının gerçekleşmesi ile kendini gösteren birincil stres faktörüdür. (Levitt 1980). Hücredeki sulu ortamın bir sonucu yapısal plazma membranları oluşturmaktadır. Oluşan bu yapı membranda suyu sevmeyen (hidrofobik) fosfolipid uçların su tarafından itilmesi durumudur (sıvı-katı faz). Hücrede su kaybedilmesi ile birlikte, plazma membran yapısı değişikliğe uğrayarak; fosfolipidlerin suyu seven (hidrofilik) kısımları birbirine yaklaşarak membranlar bütün (Jel fazında) bir görünüm alırlar. Oluşan yeni yapılanmada plazma membran lipidleri lateral ve rotasyonel harekete sahiptir. Bu hareketi sıvı-katı fazda daha az kinetik enerji harcayarak gerçekleştirirler. Hücrede su eksikliğine bağlı olarak hacim azalır. Plazma membranı hücre duvarından ayrılır ve sadece plazmodezmler aracılığıyla ilişkisini sürdürebilmektedir (plazmoliz). Bu nedenle oluşan gerilim nedeniyle plazma membranında ve tonoplastta meydana gelen çökme, yırtılmalara yol açmaktadır (Mc Kersie ve Leshem 1994) bu durum ise, hidrolitik enzimlerin açığa çıkması ve bundan dolayı sitoplazmanın otolize uğraması ile sonuçlanabilir (Salisbury ve Ross 1992). Bu hasar, normal düzeyde seyreden bir hücresel metabolizmayı çoğunlukla kalıcı olarak bozmaktadır.

2. Metabolik Etki: Bitkilerde su hücre içeriğinde büyük bir kısmı oluşturduğu için, hücre içinde taşınabilir rol alması, hücresel düzeydeki reaksiyonlar için ayrıştırıcı olması gibi çok yönlü ve nitelikli özellikler barındırmasından dolayı, hücrenin su kaybetmesi durumunda, normal regülasyon devam edememektedir. Buda metabolizmanın dengesini kaybetmesi, bozulmasını beraberinde getirmektedir. Kuraklık stresinde su yitimiyle gerçekleşen iyon toksisitesi, membrandaki bütünlüğün ve protein

yapısında bozulmalara yol açar ve hücreye hasar verir. Bu yitimin sonucunda; protein yapısında bulunan hidrofilik ve hidrofobik aminoasitlerin su ile ilişkilerinde bozulma oluşur (Campbell 1991) ve bu durum protein denatürasyonlarına, enzim inhibisyonuna neden olmaktadır (Bray 1997).

3. Oksidatif Etki: Serbest radikallerin, singlet oksijen (^1O), süperoksit molekülü (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikallerini (OH^-) özellikle de bahsedilen reaktif oksijen türlerini içermektedir. Kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler de atomların dış orbitallerindeki paylaşılmamış elektron bulunması, serbest radikallerin oluşumunu arttırdığı için bu moleküller oldukça reaktif yapıdadır. Bu radikaller; mitokondri de, ER membran yapısında, plazmam membranında da oluşabilmektedir (Mc Kersie ve Leshem 1994). Bununla birlikte, suyun sınırlı olduğu aralıklarda, bitkinin vejetatif dokularında oksidatif stres oluşumunda kloroplastta oluşan ışık ve klorofil ilişkisi en yaygın faktör olarak düşünülmektedir (Farrant 2000). Bitki bünyesinde su sınırlı haldeyken, bitki su kaybını engellemek için, çoğunlukla, stomalarını kapatır ve bu durum fotosentezi engelleyerek ya da en aza indirerek karbondioksit fiksasyonunun kısıtlanmasına neden olur. Oluşan bu durumda kuantum verimi azalır. Böylece fotosentetik reaksiyon merkezlerinde eksitasyon enerjisinde artmaya neden olur (Stuhlfauth 1990).

Süperoksit radikalleri tek başına oldukça reaktif değildir. Reaktif hale gelmeleri daha çok H_2O_2 ve sonrasında OH^- oluşumu ile etkin hale gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1989). Calvin döngüsünde H_2O_2 birçok enziminin aktivasyonunun engellenmesine neden olmaktadır (Charles ve Halliwell 1980; Kaiser 1979). Süperoksit radikalleri ve H_2O_2 , $^-$. Hidroksit diatomik anyonunu oluşturmak suretiyle tepkime sırasında (Haber-Weiss reaksiyonu), Fe ya da Cu gibi diğer geçiş metallerinin artmasıyla, bu reaksiyonlara ivme kazandırarak oksidatif zararlanmayı daha çok arttırabilmektedir ‘‘Fenton reaksiyonu’’ (Smirnoff 1993).

Bitkiler, oksidatif hasarlanmanın neden olduğu yıkım etkileri ile başa çıkabilmek ve bu etkileri ortadan kaldırabilmek için; membran yapısına bağlı antioksidanlar (lipid peroksidasyonu serbest radikallerini azaltan α - tokoferol, β karoten), suda çözünebilir antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar (SOD - süperoksit dismutaz, CAT - katalaz, POD - peroksidaz, APX - askorbat peroksidaz ve GR - glutatyon redüktaz)’dan oluşan kaotik bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Kuraklık stresi altındaki bitkiler antioksidan savunma sistemlerinin bir kaçını ya da tamamını aktive ederek oksidatif stresin yarattığı zararlanmayı ortadan kaldırabilmekte ya da bu durumla mücadele edebilmektedir (Jung 2004, Srivalli vd. 2003, Ramachandra Reddy vd. 2004; Pinheiro vd. 2004). Buna ilaveten, stres faktörlerinin şiddeti veya seviyesinin uzun soluklu ve kronik olabilmesi, bazen de kısa süreli ancak etkili stres durumunda bile, bitki - savunma mekanizmalarının kapasiteleri ileri düzeyde aşılabilir. Bu gibi durumlar da ise bitkide, gözle görülebilir hasarlara ve hatta bitki ölümüne kadar giden bir süreç neden olabilmektedir (Alexieva vd. 2003).

Chen vd. (1992), Üç yapraklı anacı üzerine aşılı 3 yaşındaki Satsuma mandarininde kuraklık stresi altında bitki su durumu ve fotosentezi üzerine çalışmışlardır. Toprak su içeriği tarla kapasitesinin % 50’si kadar altına düştüğünde, yaprak su içeriği ve su potansiyelinde; % 42.5’un altına düştüğünde ise fotosentez oranında önemli azalmalar gözlemlenmiştir.

Germana ve Sardo (1996), turunçgil ağaçlarında net fotosentez ile terleme arasındaki ilişkiyi aynı yapraklarda ölçüm yaparak incelemişler ve yaprak yüzeyi stoma yoğunluğu, net karbondioksit değişim oranı, terleme oranı, buhar basıncı eksikliği ve fotosentetik aktif radyasyon parametrelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar sonuç olarak, aynı çevresel koşullar altında bitkilerin (özellikle fotosentetik su kullanımı eksik bitkiler arasında) yaprak boyutu ve stoma özellikleriyle bağlantılı olarak yaprağın morfolojik ve fizyolojik farklılıklarının olduğunu bildirmişlerdir.

Goldschmidt ve Koch (1996), turunçgillerde asimilasyon hızının optimal arazi koşulları altında $4 - 8 \mu \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ olduğunu belirtmişlerdir. Turunçgillerin fotosentetik aktivitesi güneş ışığının yaklaşık % 30'u olan 600 - 700 PAR gibi düşük ışık yoğunluğunda doymaktadır. Turunçgiller sıcakta, kurak çevre koşullarında gelişebilmelerine rağmen, yaprak fotosentezi nisbeten düşük bir sıcaklık optimumuna gereksinim duyar. Yaprak fotosentezi için 25 - 30 °C sıcaklıklar optimum olup 35 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar fotosentetik aktiviteyi azaltır. Fotosentez ürünlerinin metabolik dağılımları, depo ve taşıyıcı yapraklar arasında önemli derecede değişmektedir. Yaşlı yapraklar asimilat ürünlerinin büyük bir kısmını dışarı gönderirler ve bu genç yapraklara göre daha hızlı olmaktadır. Nişasta, turunçgillerdeki temel depo karbonhidrattır. Turunçgillerde nişasta döngüsü diğer türlerden daha yavaş oluşur ve bazen fotosentez ürünlerine gereksinim duyulan dönemlerde olsa da bu döngü tamamlanamamaktadır. Ayrıca, nişasta karanlıkta 3 - 5 hafta sonra bile yaprakta kalabilmektedir. Nişastanın yıkımı için gerekli enzim aktivitesi turunçgil yapraklarında mevcuttur ve 15.6 - 18.3°C arasında aktivite göstermektedir.

Yakushiji vd. (1998), kurak koşullarda Satsuma mandarin meyvesinde şeker birikim mekanizmasını incelemişlerdir. İyi sulanan koşullara göre, kurak koşullarda fotosentez hızı ve stoma hareketi düşmektedir. Buna rağmen, orta derecedeki kurak koşullarda yetiştirilen ağaçların meyvelerinde şeker içeriği en yüksek bulunmuştur. Şiddetli kuraklıkta meyvelerde en yüksek sakkaroz, glukoz ve fruktoz saptanmıştır. Araştırmacılar; kuraklıkta meyvede artan şeker birikiminin fotosentez ürünlerinin meyve suyu keseciklerinde taşınmasından ileri geldiğini belirtmişlerdir. Sulanan koşullarda büyüme gösteren dokularda (yeni süren sürgün gibi) karbonhidratların kullanım oranı diğer organlara göre daha fazladır.

Nogues vd. (2000), zeytin, lavanta ve biberiyede yaptıkları kuraklık çalışmasında fotosentetik karakterlere bakmışlardır. Çalışma sonunda, fotosentetik üretkenliğin kuraklık stresi altında üç bitkide de azalış gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Diaz vd. (2004), 27 turunçgil anacının kuraklık stresine karşı tepkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar denemede 0 (kontrol), 15, 30 ve 45 gün hiç sulama yapmamak üzere toplam dört uygulama ile anaçların performanslarını değerlendirmişlerdir. Denemede kök kuru ve yaş ağırlıkları, yaprak alanı, yaprak rengi, su potansiyeli ve görsel olarak azot, demir ve magnezyum eksiklikleri incelenmiştir. Deneme sonunda anaçları üç farklı gruba ayırmışlardır. Grup 1 (hafif kuraklık belirtisi gösterenler) : Sacaton sitrumelo, Flying Dragon, Hiryu, Rubidoux üç yapraklı, Rich -16-6, Beneke üç yapraklı, Sunki mandarini ve Sun Chu Sha. Grup 2 (orta düzeyde kuraklık belirtisi gösterenler) : C-35 sitranjı, Depressa, Volkameriana, Carrizo sitranjı, Troyer sitranjı, "California" sitrumelo, Rangpur laymı, Amblycarpa, Gou Tou Cheng turuncu ve turunç. Grup 3 (şiddetli kuraklık belirtisi gösterenler) : Swingle sitrumelo, X -639,

Yuma, Taiwanica, Makrofilla, Portakal, Shaub kaba limon ve Florida kaba limon.

Reddy vd. (2004), tarafından yapılan çalışmada, beş farklı dut çeşidinde, kontrol bitkilerine tam sulama uygulaması yapılmış olup, stres faktörü oluşturulmak istenen bitkilerde ise sulama rejimini keserek -2.5 MPa şiddetinde bir kuraklık stresi yaratmışlardır. Stres sonunda bitkiler üzerine olan etkileri değerlendiren araştırmacılar, tolerant olduğu düşünülen çeşitlerde lipid peroksidasyonu değerlerinin az olduğunu belirlemişlerdir.

Li Ming vd. (2006), Satsuma mandarininde (Guoqing 4 klonunda) net fotosentez oranı üzerine üç yapraklı, Troyer sitranjı, Swingle citrumelo ve Red tangerin + üç yapraklı anaçlarının etkilerini sera koşullarında incelemişlerdir. Günlük fotosentez değişimi 10 ve 13 saatlerinde birinci ve ikinci pikleri oluşturmuş ve fotosentez değeri birincisinde ikincisinden yüksek bulunmuştur. Transpirasyon oranı, su kullanım etkinliği, ürün miktarı ve karboksilasyon etkinliği fotosentez analizlerine dayandırıldığında fotosentezin üç yapraklıda en yüksek, Red tangerin + üç yapraklı ve Swingle sitrumeloda orta düzeyde, Troyer sitranjında en düşük olduğu saptanmıştır. Üç yapraklıda çözünebilir protein değeri, spesifik yaprak ağırlığı ve fotosentetik pigmentler diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Fotosentez ile stoma iletkenliği, transpirasyon oranı ve oransal nem arasında pozitif, hücreler arası CO₂ konsantrasyonu ile negatif ilişki bulunmuştur. Fotosentez ve hava sıcaklığı arasında, fotosentetik aktif radyasyon ve yaprak yüzeyindeki buhar basıncı noksanlığı arasında kompleks ilişkiler gözlenmiştir.

Ti-da vd. (2006), yaptıkları çalışmada, mısır bitkisinin (kök ve yapraklarında) kuraklık stresinde lipid peroksidasyonu ve koruyucu enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırma, kuzey Çin’de iki yıl boyunca (2002 ve 2003) Haziran-Ekim ayları arasında 4 m² lik ve 1.5 m lik betonla izole edilmiş alanda yürütülmüştür. Araştırma sonucunda, MDA içeriğinin yapraklarda köklere göre daha fazla arttığı ve koruyucu enzimlerin fonksiyonlarını yitirdiği belirlenmiştir.

Treeby vd. (2007), 1999/2000 ve 2000/2001 sezonlarında 5 anaç üzerine aşılanmış Bellamy Navel portakalında su stresinin ve kısmi kök bölgesi kuraklığının meyve oluşumu ve kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla düşük seviyede yağmurlama sulama yöntemiyle sulama yapmışlardır. Kontrol uygulaması olarak dönemde hektara 5,9 ML ve bitkinin bir yanına su vermek yerine alternatif olarak bahçe zeminine hektara dönemde 5,5 ML su uygulamaları yapılmıştır. Tüm sulama uygulamalarında ilk yıldaki ortalama meyve yükü ikinci yıla göre azalmıştır (ağaç başına 43 meyve 7,5 kg ağırlığından, ağaç başına 34 meyve 4,4 kg ağırlığına). Sezon boyunca en çok etkilenen ağaçlar sitranj ve üç yapraklı üzerine aşılanlar olmuştur. Meyve boyutu ve ağırlığı sezon 1’den 2’ye geçerken önemli ölçüde sulama tekniğinden değil su miktarından dolayı azalmıştır. Olgunluk döneminde PRD (partial rootzone drying) uygulamasında meyveler kontrole kıyasla daha küçük ve hafif bulunmuştur. Toplam çözünebilir bileşikler ve meyve suyunda titre edilebilir asitlik, olgunlaşma döneminde taban sulama ve PRD uygulamalarında kontrol meyvelerine kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Meyve kabuk kalınlığı ise anaca bağlı olarak değişiklik göstermiştir.

Erismann vd. (2008), saksılarda yetiştirilen 3 farklı anaç üzerine (Rangpur

layımı, Swingle sitrumelo, Sunki mandarin) aşılı 1 yaşlı Valencia portakalına ait fidanlarda, orta şiddetli su noksanlığının fotosenteze olan etkilerini araştırmışlardır. Net CO₂ asimilasyon oranı (An), stoma iletkenliği (Gs) ve hücreler arası CO₂ kısmi basıncındaki değişime cevaben fotosistem (PSII)'in uygulanabilir etkinliğini (Fq/Fm) kontrollü koşullarda incelemişlerdir. Kuraklığın net CO₂ asimilasyon oranını ve stoma iletkenliğini azalttığını, buna karşın PSII çalışma etkinliğinin değişmeden kaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca, orta şiddette kuraklık stresi altındaki portakal yapraklarında karbondioksitin sınırlanması nedeniyle fotosentez miktarının azaldığını belirtmişlerdir.

Tsokankunku vd. (2008), 5 yaşlı Navel ve Bahianinha portakallarında 2007 yılının yaz sezonunda iki aylık sürede CO₂ ve su buharı değişimini ve bunların yaprak sıcaklığına olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 25-30 °C yaprak sıcaklığında transpirasyon artmış ve fotosentez en yüksek bulunmuştur. Navel portakallarının iki çeşidi arasında bu dönemde CO₂ ve H₂O net değişimindeki farklılık %10'dan düşük bulunmuştur. Gölgelemenin yaprak sıcaklığını etkili bir şekilde düşürdüğüne; ancak, fotosentetik aktif ışık yoğunluğunun önemli düzeyde azalmasına ve fotosentetik doygunluk seviyesinin (600-700 mmol m⁻² s⁻¹) düşmesine neden olduğu saptanmıştır.

Jie vd. (2008), 1.5 aylık kayısı çöğürlerinde kuraklık stresinin fotosentez parametreleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kontrol bitkileri tarla kapasitesinin % 70'i, hafif kuraklık uygulaması, % 60'ı; orta derecede kuraklık uygulaması, % 50'si; şiddetli kuraklık uygulaması ise % 40'ı oranında sulanmıştır. Toprak neminin azalmasıyla fotosentez oranı, solunum oranı ve stoma iletkenliğinin azaldığı gözlenmiştir.

Gamir vd. (2010), yaptıkları çalışmada Forner-Alcaide no.5 (FA-5) turuncgil anacının kuraklık stresine dayanıklılığını test etmiş ve akrabaları olan anaçlarla (Kleopatra mandarin ve Poncirus trifoliata) kıyaslamışlardır. Çalışmada 9 aylık Kleopatra mandarin, *Poncirus trifoliata* ve FA5 çöğürleri ve 15 aylık bu üç anaca aşılı Valencia portakallarını seralara dikmiş ve besin çözeltisiyle sulamışlardır. Yaprakları tam solana kadar bitkileri kuraklık stresine maruz bırakmışlardır. Kuraklık stresi süresince çöğürlerin ve aşılı ağaçların hayatta kalma süresinin toprağın suyu bırakma süresi, yaprak biyokütlesi ve terleme oranıyla ilişkili olduğunu gözlemlemiştir. Çalışma sonunda FA5'in çöğür ve aşılı ağaçlarda akrabalarına göre kuraklık stresine daha dayanıklı olduğunu gözlemlemiştir.

Pandey vd. (2010), yaptıkları çalışmada yedi farklı Avena türünde iki farklı gelişme evresinde (çiçeklenme ve vejetatif) kuraklık stresinin lipid peroksidasyonu ve diğer antioksidant enzimlere etkisini araştırmışlardır. Araştırma süresince lipid peroksidasyonu seviyesi malondialdehid (MDA) içeriğine bağlı olarak kuraklık stresinde artış göstermiştir. Araştırmanın sonunda MDA seviyesi yüksek olan Avena türlerinde lipid peroksidasyonu ve hücre geçirgenliğinin daha fazla olduğu ve kuraklık stresine toleranslarının az olduğu belirlenmiştir.

Vu ve Yelenosky'e göre (1988) Valencia portakalında (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) su stresi altında fotosentetik CO₂ asimilasyonu, terleme, Ribuloz-1, 5-bisphosphate karboksilaz (RuBPCase) ve çözünür proteinleri araştırmışlardır. Her iki kontrol ve uygulama bitkilerinde gün ortasında gözlenen maksimum fotosentetik CO₂ asimilasyon ve terleme, stres uygulanan bitkilerde (-2.0 MPa yaprak su potansiyeli)

kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında (-0.6 MPa yaprak su potansiyeli) %50 ve %40 bulunmuştur. Su noksanlığının ağırlaştığı öğleden sonra saatlerinde stres uygulanan bitkilerde yaprak su potansiyeli -3.1 MPa, buna karşın kontrol bitkilerde -1.1 MPa, strese maruz kalmış yapraklarda terleme olmamış ve fotosentetik CO₂ asimilasyon hızla sıfıra düşmüştür. Su stresi RuBPCase'in hem etkinleşmesini hem de toplam etkinliğini azaltmıştır. Bu enzimin aktivitesi stres uygulanan bitkilerde yaklaşık %62, kontrol bitkilerinde ise %80 olarak bulunmuştur. Su eksikliği RuBPCase'in ilk etkinliğini %40 ve HCO₃⁻/Mg²⁺ ile doymuş olan etkinliğini %22 azaltmıştır. Stres uygulanmış bitkilerin yapraklarında RuBPCase ve çözülebilir proteinlerin konsantrasyonları kontrol bitkilerine oranla sırasıyla ortalama %80 ve %85 olarak saptanmıştır. Böylece su kıtlığında Valencia portakalında RuBPCase'in etkinleşmesi ve konsantrasyonu enzim faaliyetlerindeki azalmalara katkıda bulunmuştur. Ancak, su stresine bağlı olarak yaprak fotosentezi, çözünebilir protein ve RuBPCase faaliyet ve konsantrasyonundaki gerilemeler 5 gün süre ile tekrar sulama sonucu düzeltilebilir bulunmuştur.

Hu vd. (2006), turunçgillerin fotosentez mekanizması üzerine çevresel etkilerini araştırdığı çalışmada; ışık, sıcaklık, su, tuz ve bazı elementlerin fotosentezi etkilediğini bildirmiştir. Güçlü ışık veya ultraviyole ışınlarının PSII ve ksantofil döngüsünü engellemesiyle fotosentezin engellendiği bildirilmiştir. Yükselen CO₂ konsantrasyonu ile artan fotosentez sonucunda turunçgil gelişiminin, veriminin ve kalitesinin artabileceği açıklanmıştır. Araştırmacı, fotosentez mekanizmasında N, P, Fe gibi elementlerin etkili olduğunu belirtmiştir.

Sanchez vd. (2007), 6 aylık Carrizo sitranjı ve Kleopatra mandarinine 9 günlük kuraklık stresi uygulayarak yaprak su ilişkisi, yapraklarda gaz değişimi, klorofil konsantrasyonu, yaprak ve köklerdeki iyon konsantrasyonuna bakmışlardır. Çalışma sonucunda K, Ca, Cl iyonlarının stres uygulamasıyla her iki bitki yaprağında artış gösterdiğini, Mg ve Na iyonlarının ise Kleopatra mandarininde artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Richardson vd. (2009), Silverhill çeşidine Troyer sitranjının ve üç yapraklı anacın anaç olarak kullanılmasını karşılaştırmışlardır. Üç yapraklı üzerinde çeşidin yapraklarındaki Mg ve Ca seviyeleri yüksek, fakat Troyer sitranjı anacına göre P ve K daha düşük bulunmuştur. Kalsiyum ve K arasında ters bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, bodur veya düşük gelişme gücüne sahip anaçların üzerine aşıllı ağaçların yapraklarında fotosentez oranı, kuvvetli gelişme gücüne sahip anaçların üzerine aşıllı ağaçlardan daha düşük bulunmuştur. Bitki organlarında depolanan nişasta ve karbonhidrat miktarının ölçüldüğü çalışmada; üç yapraklılarda gövde ve dallarda nişasta daha yüksek bulunmuştur. Troyer sitranjında köklerde daha düşük bulunmuştur.

Skewes vd. (2009), Avustralya koşullarında beş farklı turunçgil anacı (Kleopatra mandarini, Parramatta portakalı, kaba limon, Troyer sitranjı ve Swingle sitrumelo) üzerine aşıllı Washington Navel portakalında %100, %33 ve %10 sulama uygulamaları ile kuraklık stresine karşı anaçların performanslarını karşılaştırmışlardır. Denemede, yaprak solgunluğu, yaprak dökümü, yaprak rengi, yaprak karbonhidrat miktarı, meyve iriliği, meyve sayısı ve verim parametrelerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, Kleopatra mandarininin kuraklığa karşı en tolerant; Parramatta portakalını ise en hassas olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Nunez vd. (2011), yaptıkları çalışmada 12 farklı anaca aşıl原因 Tahiti laymının sulu ve susuz koşullardaki performansına bakmışlardır. Çalışma sonunda daha kuvvetli gelişen anaçlarda susuz koşullarda sulu koşullara göre daha fazla ürün alındığı gözlemlenmiştir (özellikle 1646 citradia ve Morton sitranjı daha iyi performans göstermiştir). Diğer taraftan, daha zayıf büyüyen anaçlarda sulu koşullarda susuz koşullara göre daha fazla ürün alındığı gözlemlenmiştir (özellikle tetraploidlere aşıli olanlarda Carrizo ve Troyer sitranjı, Swingle sitrumelo, Davis A trifoliata ve Flying Dragon trifoliata) ve Flying Dragon trifoliatanın Tahiti laymı için daha uygun bir anaç olduğunu gözlemlemişlerdir.

2.3.1. Bitkilerde kuraklık stresine karşı geliştirilen mekanizmalar

Aynı grupta sınıflanan bitkilerin iklime göre değişen bölgelerdeki dağılımları, birçok farklı çevre koşullarına uyum sağlayabildiklerini göstermektedir (Dolfeus 2014). Bitkiler, çevre koşullarında meydana gelen değişikliklere adapte olarak görecekları zararları en aza indirecek şekilde büyüme ve gelişmelerini manipüle ederek ekolojiye uyum sağlayabilirler. Dolayısıyla kuraklık stresıyla karşılaşan bitkide ekolojiye uyum sağlayabilmek için metabolizmasında değişim yolları arayacağı kaçınılmazdır.

Kuraklık stresi marjinal koşullara adaptasyonu sağlayan birçok düzeyde (moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik) metabolik aktiviteleri harekete geçirir (Arora vd. 2002). Dayanıklılık mekanizması olarak “stresten kaçınan” bitkiler orta düzey kuraklık stresinde yaşamlarına devam edebilirken “strese toleran” bitkiler sahip oldukları mekanizmalarla daha şiddetli kurak koşullarda hayatta kalabilirler. Tolerantı bitki grupları içerisinde yer alan “Yeniden Diriliş (resurrection) bitkileri”, susuz koşullarda vejetatif dokularındaki bağıl suyu %5’e kadar indirir ve suyun varlığında rehidrasyonu gerçekleştirerek yaşamını sürdürür (Mundree vd. 2002). Vejetatif dokuları aşırı kuraklıkla ışık varlığında oluşan anormal abiyotik streslere karşı koyabilmektedir (Sherwin ve Farrant 1998).

“Resurrection Bitkileri” Foto-oksidatif strese karşı geliştirdikleri stratejiye göre 2 gruba ayrılırlar:

1. Klorofil Alıkoyucu Yeniden Diriliş Bitkileri (Homiochlorophyllous Resurrection Bitkileri): Kuruma sırasında klorofilleri alıkonur. Klorofil-ışık etkileşimlerinin tehlikeleri alıkonan klorofil ile önlenir. Yaprakları kıvrırma ve katlama hareketleri ışık stresinden kaçınmada önemlidir (Sherwin ve Farrant 1998).

2. Klorofil Kaybeden Yeniden Diriliş Bitkileri (Poikilochlorophyllous Resurrection Bitkileri): kloroplastlardaki tilakoit ve üzerindeki klorofilleri parçalayarak serbest radikal oluşumuna neden olan reaksiyonları engellerler (Sherwin ve Farrant 1998). Kuraklığın sona ermesiyle onarım proteinleri sentezlenir ve fotosentez aparatları yeniden oluşturularak bitki yeniden fotosentez yapar. Normal bitkiler kuraklık karşısında ortaya çıkan turgor kaybıyla hücre zar ve çeperindeki mekanik basınç ortadan kalkar ve buralarda onarılamayacak zararlanmalar başlar (Vander vd. 2002). Yeniden diriliş bitkilerinde ise, oluşacak olan mekanik stres bazı mekanizmalarla önlenir.

Örneğin bazı türlerde (*Myrothamnus flabellifolius*, *Craterostigma wilmsii* (Farrant 2000; Vicré vd. 1999) ve *Eragrostis nindensis* (Vander vd. 2001) mezofil

hücreleri hacim olarak azalırken, diğer bir grup bitkide (*Xerophyta humilis*, *Xerophyta viscosa* (Farrant 2000; Mundree ve Farrant 2000) ve *Eragrostis nindensis* (Mundree 2002) ise demet kını (Bundle sheet) hücreleri çok sayıda vakuol oluşturarak hücre hacmini korur bu hücreler prolin benzeri osmolitler yardımıyla yeniden su kazanırlar (Vander vd. 2002).

Bitkilerde “oksidatif etki” serbest radikallerin oluşumundan ortaya çıkar. Kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler atomların en dış orbitalindeki elektronlarca gerçekleştirilir. En dış orbitalde atıl bir elektronun aktivitesi oldukça yüksek olup serbest radikalleri oluşturur. Bu radikaller plazma membranı, mitokondri ve ER membranlarında oluşabilir (McKersie ve Lehsem 1994). Su stresi altındaki bitki stomalarını kapatır bu da gaz alışverişini yani fotosentezin hammaddesi olan CO₂'nin alınımını kısıtlanmasına neden olur buda kuantum verimi azaltarak süperoksit (O₂⁻) üretimini artırır. Kuraklık stresinde artan süperoksit (O₂⁻) üretim hızı da membranlardaki lipidlerin peroksidasyonuna, yağ asitlerinin doymasına sonuçta da membranın tümüyle zararlanmasına yol açar (Sgherri vd. 1996).

Süperoksit aslında tek başına aşırı reaktif değildir. H₂O₂ ve hidroksil (OH•) radikallerinin oluşmasını sağladığından dolayı etkilidir (Halliwell ve Gutteridge 1989). Serbest oksijenler, peroksit, singlet oksijen, hidroksil, peroksinitrit ve hidrojen peroksitten oluşur. Bunların yarılanma ömrü birkaç mili saniye ile saatler arasında değişir. Serbest radikaller redoks reaksiyonlarına yol açarak (indirgen, yükseltgen ve/veya her iki etkiyi birlikte göstererek) hücre hasarına neden olurlar. Protein, lipidler ve DNA üzerinde de zararlı etkileri vardır.

Kuraklık altındaki bitkiler antioksidant savunma sistemleriyle oksidatif stresin zararından kurtulurlar (Jung 2004; Srivalli vd. 2003; Ramachandra-Reddy vd. 2004; Pinheiro vd. 2004). Ancak yine de savunma mekanizmaların kapasiteleri stresin etkisiyle aşıldığında zararlanmalar ve hatta bitki ölümlerine neden olabilir (Alexieva vd. 2003).

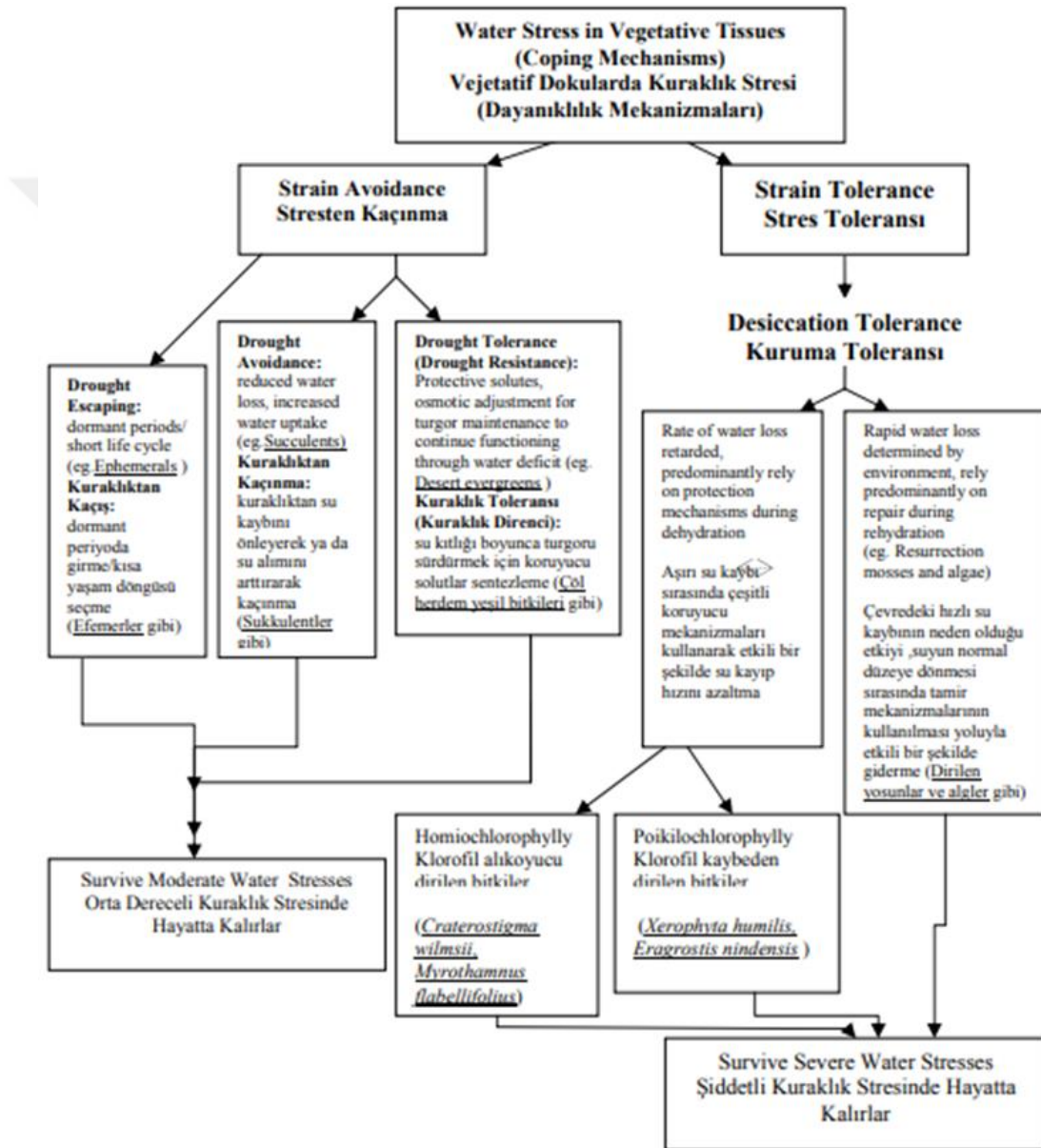
Su stresi altındaki bitkilerdeki ilk adaptasyon mekanizması su kaybını engellemek için stomaları daraltmak veya kapatmaktır (Osakabe vd. 2014). Karbondioksit alınımı azaldığından fotosentez oranında bir düşüş olur (Chavez vd. 2003). Net fotosentez içeri alınan karbondioksit miktarı ile ilişkilidir.

Kurak koşullarda bitkiler yaşayabilmek için topraktan iyonları alarak ya da organik bileşikleri sentezleyerek ozmotik su kaybını en düşük seviyeye indirirler (Ashraf 1994; Salama vd. 1994). Su noksanlığına karşı oluşturulan cevaplar; türe, genotipe, su kaybı şiddetine ve uzunluğuna, bitkinin gelişme durumuna, yaşına, organ ile hücre tipine ve hücresel kompartmanlaşmaya bağlı olarak değişmektedir (Bray 1997). Bu cevaplar birkaç saniye ile (Bir proteinin fosforilasyon derecesinde meydana gelen bir değişiklik gibi) dakikalar veya saatler sürebilir (Gen ekspresyonunda meydana gelen bir değişiklik gibi) (Bray 1997).

Strese tepkide yer alan genler iki grupta toplanır:

1. Erken Tepki Genleri: Çok hızlı- ani (dakika düzeyinde) ve geçici olarak aktive olur. Tüm sinyal bileşenleri hali hazırda var olduğu için aktivasyonları yeni protein sentezine gereksinim göstermez.

2. Geç Tepki Genleri: Daha yavaş (saatler düzeyinde) aktive olurlar ve ekspresyonları genellikle devamlıdır. Strese cevapta aktifleşen genlerin çoğunluğunu oluştururlar. Erken tepki genleri genelde olarak geç tepki genlerini aktive edecek transkripsiyon faktörlerini kodlar (Zhu 2002).



Şekil 2.5. Kuraklık stresi ile mücadelede bitkiler tarafından kullanılan mekanizmaların sınıflandırılması (Mundree vd. 2002)

2.4. Düzenleyici Osmolitlerin Biyosentezi ve Prolin

Osmolitler streste oluşturulan ROT'un deaktivasyonunda görev yapan proteinlerdir. Osmoregülatör ve osmoprotektan olarak rol oynarlar. Sitoplazmanın su kaybını önlerler ve hücre dışı sayılan apoplast ve vakuollerde sodyumun tutulmasını yardımcı olarak hücre yapılarını korumaktadırlar (Smirnoff ve Cumbes 1989).

Osmolitlerin biyosentezi: Tuz stresi altında, bitkiler tuz alımını kısıtlar ve osmolitlerin biyosentezi ile osmotik basıncı ayarlar. Osmolitler düşük moleküler ağırlığı ve hücre içerisinde yüksek konsantrasyonda bile genellikle toksik olmayan yüksek çözünürlükleri olan moleküllerdir (Rai 2011). Bu osmolitler prolin, sükroz, hidroksil grubu içeren alkoller, trehaloz ve glisin- betain, kuanerter amonyum (Glisin betain, alenin betain, prolin betain, hidroksilprolin betain ve kohlin O- sülfat) dur (Ashraf ve Foolad 2007).

Prolin bitkileri osmotik streten koruyan en önemli osmolitlerden biridir. Tuz ve kuraklık stresi altında, doku içerisinde biriken prolinin osmotik basıncı ayarlama, strese direnç sonrası büyüme için karbon ve azot rezervi, amonyumların detoksifikasyonu, hücre zarının stabilizasyonu, fotosentetik aktivite ve mitokondriyal fonksiyonların korunması ve serbest radikallerin yok edilmesi gibi birçok fonksiyonu vardır. Ayrıca prolin miktarı (birikimi) türlere göre değişmektedir (Rai vd. 2011).

Bitki hücreleri içerisinde prolin birikimi; diğer amino, imino asitler ve protein yapısına katılmayan amino asitlerden olan sitrulin ve ornitin (ornithine) gibi amino asitlere göre daha fazladır. Prolin birikimi normal olarak sitozol içerisinde oluşur. Osmotik olarak çok aktif olan prolin özellikle NaCl'nin bitki hücresinin membranında oluşturacağı zararı azaltır ve hücre membranının stabilitesinin korunmasına yardımcı olur. Prolin sentezi yüksek bitkilerde iki alternatif yolla (L-ornitin (ornithine) veya L-glutamat) yapılır. Ayrıca bitkilerde olduğu gibi, memelilerde ve mikroorganizmalarda da L-glutamat (glutamate) ve L-ornitin (ornithine) prolin biyosentezindeki öncü moleküllerdir (Parvaiz ve Satyawati 2008). Prolin-5-karboksilat sentetaz (P5CS) ile prolin-5-karboksilat redüktaz (P5CR) enzimleri prolinin biyosentez yolunda temel rol oynamaktadır. Kuraklık stresine karşı geliştirilen osmoregülasyon osmolit sentezinde görev alan spesifik enzimlerle (betain aldehid dehidrogenaz, prolin-5- karboksilat sentetaz ve redüktaz, kolin monooksidaz gibi) ile sağlanmaktadır (Bray 1997; Moghaieb vd. 2004).

Prolin miktarı bitkilerin tuz ve kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerine karşı toleransının belirlenmesi noktasında önemli bir parametre olarak literatürde gösterilmektedir (Beyaz 2014).

Prolin hücre içindeki yoğunluğunun artması hem strese karşı indikatör olup, hemde bitkinin strese karşı savunma mekanizmasını harekete geçiren metabolik olayın ilk basamağını içermektedir. Bitkilerde biriken prolin osmotik basıncın dengelenmesinde, Na, K, Mg ve Ca gibi iyonların konsantrasyonlarına etkide bulunduğu, hücre duvarının güçlendirilmesinde, klorofil moleküllerinde ve enzim aktivetelerinde önemli bir yerinin olduğu belirtilmektedir (Iba 2002).

Bitkilerde klorofil moleküllerinin merkezindeki Mg ile biriken Na'un yer değiştirmesinin yapraklarda klorofillerin yapısını bozmakta ve kloroza neden olduğu bu süreçte de prolinin hücrelerde üretim ve birikiminin arttığı belirtilmektedir (Avcioğlu vd. 2003).

Bitkilerin stres koşullarında, putresin ve prolin gibi poliaminleri üreterek hücrenin osmotik basıncını yükselttiği, bu şekilde de oluşan yüksek osmotik basıncı dengeleyebildiği belirtilmektedir (Öztürk ve Demir 2002).

Aminoasit türevi olan poliaminlerin; Putresin (Put), Kadaverin (Cad), Spermidin (Spd) ve Spermin (Spm) olarak çeşitleri bulunmaktadır. Putresin ile Kadaverin bir diamin iken, Spermidin Triamin ve Spermin ise tetraamindir (Smith 1979; Bagni ve Pissotichoni 1992; Liu vd. 2000).

Poliaminler bitki bünyesinde serbest olarak, fenolik asitlere, negatif yüklü makromoleküllere (protein, nükleik asit ve fosfolipitler) veya diğer düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklere bağlı olarak bulunurlar (Evans ve Malmberg 1989; Bagni ve Tassoni 2001). Bu bağlanma şekli nedeniyle de membran yapısının fiziksel ve kimyasal özelliklerini, nükleik asitlerin fonksiyonlarını ve enzim aktivitelerinin farklılıklarını etkilemektedirler (Galston ve Sawhney 1990). Bu nedenlerle de, Prolin hücre farklılaşma, gelişme ve bölünmesine düşük konsantrasyonlarda bile etki eder (Gallardo ve Matilla 1996). Poliamin içerisinde yer alan Prolin ve diğer bağlı aminler dokuya ve gelişim evrelerine göre farklılık göstermektedir (Bonneau vd. 1994).

Putresinin hücre duvarı kesitleri, vakuoller, mitokondri ve kloroplastlarda bulunduğu ortaya konmuştur (Torrighiani 1986; Slocum 1991b; Tiburcio 1997). Poliaminler görevleri arasında somatik embriyogenez sap veya gövde kalınlaşması, çiçeklenme, kök büyümesi ve gelişmesi, yumru gelişimi, meyve olgunlaşması bulunmaktadır (Hanzawa vd. 2000; Couée vd. 2004).

Poliaminlerden Prolin genellikle en yüksek oranda bulunandır. (Kalac ve Karusava 2004). Poliaminlerin artışı potasyum eksikliği su, tuz, ağır metal, asit, çevresel stresler ve oksijensizliğe karşı yanıt olarak ortaya çıkar (Flores vd. 1989).

Abiyotik stresler, bitkilerin karbonhidrat içeriği üzerinde farklı etkilere sahiptir. Bazı araştırmacılar, tuz stresi altında bitkilerde karbonhidrat birikimi olduğunu rapor etmişlerdir (Abd ElSamad ve Azooz 2002; Parida vd. 2003; Azooz vd. 2004). Diğer taraftan Mostafa (2004), düşük seviyede düzenli uygulanan tuzun şeker ve toplam karbonhidrat miktarını azalttığını bildirmiştir.

Tuz stresine tepki olarak bitkilerde çözünebilir proteinler azalır (Parida vd. 2002; Abed-Latef 2005). Yüksek tuz konsantrasyonunu glikofik bitkilerde, azot bileşiklerinin ve yüksek protein içeriğinin yükselmesine neden olur (Abed El-Baki 1996; Jones ve Mac Milan 1987). Bitkilerde, çok sayıda azot içeren bileşiklerin birikmesi çevresel stres faktörlerine bağlıdır (Robe vd. 1990; Kuznetsov vd. 2007). Tuz stresi altında bitkiler osmotik stresin dengelenmesinde, amid içeren aminoasitleri (glutamin ve aspareginler), amino asitleri (arginin, prolin, sitrulin ve ornitin) ve amin putresini sıklıkla birikir. Bitkinin tuz ve kuraklık stresi altında osmotik dengeyi sağlamasında prolin, asparagin ve amino bütirik gibi amino asitler önemli rol oynar (Gilbert vd. 1998).

Tuz stresi altında, bitkiler osmotik strese karşı hücrelerinde prolin biriktirirler ve tuz yanıt genlerinin ekspresyonunu yükseltirler, bu promotör bölgeleri prolin cevap elementleri olarak bilinir (Satoh vd. 2002; Oono vd. 2003). Bitkinin tuz stresine karşı koymasında rol oynayan osmotik basınç düzenleyici aminoasitler içerisinde prolin birikimi, belirleyici olarak kullanılabilmektedir (Haroun 2002; Ueda vd. 2007). Tuz stesi altındaki bir bitkide, prolin sentezinde rol oynayan bir veya birden fazla genin uyarılmasıyla prolin üretimi artmaktadır (Stewart vd. 1986). Tuz stresi altında verilen cevaplar içerisinde P5CS geni tarafından ifade edilen $\Delta 1$ -Piyrolin-5 karboksilik asit sentaz, prolin sentez yolağında önemli bir rol oynamaktadır (Xiong vd. 2001; Chen vd. 2001). Prolin ise tuz stresine maruz kalan bitkilerde en fazla biriktirilen biriktirilen ozmolitlerden bir tanesidir (Delauney ve Verma 1993; Jimenez-Bremont vd. 2006; Tripathi vd. 2007). Prolin bir ozmoprotant gibi görev yaparak proteinleri sabitler ve hücre yapısının tuzdan zarar görmesini engeller (Kavi Kishor vd. 2005). P5CS geninin ifade seviyesi, çeşitli abiyotik stres faktörlerinin (kuraklık, sıcaklık, tuz ve ABA gibi) etkisiyle olabilmektedir. (Igarashi vd. 1997; Chen vd. 2013). Tütün bitkisinde yapılan bir çalışmada, tuz stresi altında P5CS geninin fazla ifade edildiği ve prolin miktarının artarak tuz stresine toleransı artırdığı bildirilmiştir (Kishor vd. 1995). Kaktüs bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada TaP5CS geninin tuz stresi altında Prolin birikimini düzenlediği, fakat gen ifade seviyesi ile hücrede ölçülen Prolin enzim aktivitesinde bir paralellik olmadığı, TaP5CS geninin ve Prolinin hücrenin turgor basıncını dengelemede ve tuz stresine toleransta önemli roller oynadığı bildirilmiştir (Silva-Ortega vd. 2008). Çeltik ve Arabidopsis bitkileri üzerinde yapılan çalışmalarda, tuz stresi altında P5CS geninin yüksek oranda ifade olmasıyla hücrede prolin miktarının arttığı ve osmotik strese karşı toleranslılık sağladığı bildirilmiştir (Sawahel ve Hassan 2002).

Poliaminler aminoasit dekarboksilaz reaksiyonu ile H^+ tüketerek hücreler arası pH'yı ayarlar (Flores vd. 1995). Genellikle aktif olarak büyüyen dokularda yüksek senesensli dokularda düşük oranda bulunur (Neves vd. 2002). Bazı pestisitlerin turuncgillerin fizyolojik ve anatomik özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, Washington Navel yapraklarında (0, 25 mg/g) pestisit uygulamasında prolin konsantrasyonunun uygulamanın 15. gününde (1,26 mg/g), 30. gününde ise (0,22 mg/g), arttığı, Valencia portakal çeşidi yapraklarında ise pestisit uygulamasından önceki döneme göre prolin konsantrasyonunun değişmediği tespit edilmiştir (Botella 1997).

Bakterilerden yüksek bitkilere kadar hücre prolin düzeyi ile kuraklık ve tuz stresi arasında güçlü ilişkiler bulunmaktadır (Sairam ve Tyagi 2004). Prolinin temel görevi, lipid oksidasyonunu engelleyerek membran sistemlerindeki protein yapılarını korumaktır. Ancak son çalışmalar prolinin farklı görevleri de yerine getirdiğini göstermiştir. Bunlar; sinyal iletimi, hücre çoğalması veya ölümü, mitokondri fonksiyonlarının düzenlenmesi ve gen ekspresyon seviyelerinin düzenlenmesinde rol serbest amino asit olabileceğini doğrultusundadır (Anjum vd. 2011; Liang vd. 2013; Kishor ve Sreenivasulu 2014).

Stewart ve Lee (1974), deli otunda yaptıkları çalışmada, tuzsuz koşullar altında yetişen bitkinin prolin seviyesinin düşük olduğunu ve tuz stresinin artması ile birlikte prolin düzeyinin arttığını belirtmektedirler. Ispanakta tuza tepki olarak glisin betain konsantrasyonunda yükselme görülmektedir (Lloyd vd. 1990). Citruslar amonyum bileşikleri ve prolin betaine biriktirmektedir (Storey 1999).

Myers vd. (1995), glikofitlerde potasyum ve organik bileşiklerin, genel osmotik düzenleyici maddeler olduğunu bildirmektedir.

Bu organik bileşikler:

1- Organik asitler: Glikofitlerde hücre vakuollerinde yüksek oranda organik asitler bulunmaktadır (Hellebust 1976).

2- Çözünabilir karbonhidratlar: Tuz stresine karşı çözünabilir şeker birikimi gösterilmektedir (Chauhan 1980). Bazı çam türlerinde, osmotik potansiyelin %30-50'sini şekerler oluşturmaktadır. Bu kapsamda zeytin manitol sentezleyen bir türdür (Tattini 1995).

3- Azot bileşikleri: Bitkilerde amino asitler sadece tuz stresinin sonucunda değil, su stresi koşullarında da biriktirilmektedir (Flower vd. 1977).

İnal vd. (1997), besin çözeltilisinde yetiştirilen domates bitkisine artan düzeyde uygulanan NaCl'in bitkinin Na ve Cl içeriğini önemli miktarda arttırdığını ve tuzluluğun bu etkisine bağlı olarak bitki kuru maddesini önemli miktarda azalttığını, stresin bir ölçüsü olarak bitkinin prolin kapsamının arttığını belirlemiştir.

Gadallah (1999), bezelye bitkilerinin tuza dayanımını etkileyen prolin ve glisin betain içeriğini incelediği çalışmada, NaCl ve CaCl₂ uygulayarak toprak ozmotik potansiyelini 0 ile -1.2 MPa aralığında tutmaya çalışmıştır. Bu bitkilere 8.7 mμM prolin ve 8.5 mμM glisin betain püskürtmüştür. Tuzluluğun artmasına karşılık bitkiler yapraklardaki su içeriklerini düşürerek ozmotik düzenleme yapmıştır. Tuzluluk bitkilerin kuru ağırlık, klorofil içeriği, suda erir şekerler ve suda erir proteinlerinin miktarını azaltırken, toplam serbest aminoasitlerin, Na⁺, Ca⁺⁺ ve Cl⁻ iyonlarının miktarını arttırmıştır. K/Na oranı tuzlulukla birlikte azalmıştır. Tuz stresi uygulanan bitkilerin yapraklarından alınan disk şeklindeki örnekler sıcaklık stresi uygulandığında membranlarının, stres uygulanmayan bitkilere göre daha az dayanıklı oldukları görülmüştür. Bitkiye prolin ve glisin betain uygulaması stresi azaltmış, K alımını bitki gelişmesini ve klorofil miktarını da arttırmıştır.

Agarwal ve Pandey (2004), baklagil familyasından olan sinameki (*Cassia angustifolia* Vahl.) bitkisinde yaptıkları çalışmada tuz stresinin antioksidan enzimlerin üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarında bitkilere 0, 20, 50 ve 100 mM NaCl tuzunu gün boyunca uygulamışlardır. Çalışmada büyüme parametrelerini, içsel Na⁺ ve Cl⁻ konsantrasyonunu, antioksidan sistemi, lipid peroksidasyonu, H₂O₂ içeriğini ve prolin miktarını analiz etmişlerdir. Analizler sonucunda tuzluluğun büyüme parametrelerini önemli derecede azalttığını, yine artan enzim aktivitesine bağlı olarak H₂O₂ içeriği ile askorbatın azaldığını saptamışlardır. Artan tuz dozuna bağlı olarak prolin ve lipid peroksidasyonun arttığını tespit etmişlerdir.

Sumithra vd. (2006), iki börülce (*Vigna radiata*) çeşidinde ('Pusa Bold' ve 'CO4') tuz stresinin bitki büyümesine, prolin metabolizmasına ve antioksidatif enzimlerin (APX, CAT, GR, SOD ve MDA) aktivitesi üzerine etkisini ve hangi çeşidin tuz stresine karşı daha toleranslı olduğunu araştırdıkları çalışmalarında, bitkilere dört farklı NaCl dozunu (0, 100, 200 ve 300 mM) 30 gün boyunca uygulamışlardır. Ölçümleri yaprak ve

kök dokularında yapmışlardır. Araştırmada ayrıca dokulardaki K^+ / Na^+ oranını ve lipid peroksidasyonu ölçmüşlerdir. Tuz stresi altında 'Bold' çeşidinin kök dokusunda K^+ / Na^+ oranını daha yüksek olduğunu, her iki çeşitte de düşük seviyede lipid peroksidasyon ve H_2O_2 içeriği olduğunu, prolin ve glisin-betain miktarının çok yüksek olduğunu, antioksidatif enzimlerin aktivitesinde artış olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda tuz stresi altında oluşan oksidatif strese karşı en etkin antioksidatif parametrelere 'Pusa Bold' çeşidinin sahip olduğunu, buna bağlı olarak tuz stresine karşı daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir.

Koç vd. (2009), dört turuncu (*Citrus aurantium L.*) hattından tuza tolerant yeni somaklonal varyantlar elde etmek üzere kallus kültürleri oluşturmuşlardır. Tuzluluk için MT (Murashige ve Tucker) besin ortamına 100, 200 ve 300 mM NaCl ilave edilmiştir. Kallus materyalinin morfolojik görünümünün değerlendirilmesi ile çok sayıda tuza tolerant hücre hattı seçilmiş, 100 mM NaCl kapsayan ortamdan bu seçilmiş kallus kümelerinin embriyoidlerinden toplam olarak 67 bitkicik elde edilmiştir.

Montoliu vd. (2009), üç turuncu anacında (*Carrizo (Poncirus trifoliata L. Raf. x Citrus sinensis L. Osb.)*, citrumele CPB4475 (*C. paradisi L. Macf. x P. trifoliata L. Raf.*) ve Cleopatra mandarin (*C. resnyi Hort. Ex Tan.*) in vitro koşullarda tuzluluk testleri için belirledikleri 60 mM NaCl konsantrasyonunda köksüz kültürlerde sürgünlerde klorür birikimi ve yaprak zararlanmasının benzer olduğunu bildirmişlerdir. Oksidatif stresin bir ölçümü olan malondialdehit seviyesi çalışmadaki hiçbir genotipte artmamıştır.

Ghaleb vd. (2010), tuz stresine karşı turuncu (*C. aurantium L.*) ve Volkamer limon (*C. volkameriana Ten. & Pasq.*) genotiplerinin mikro sürgünlerinin tepkisini araştırdıkları çalışmalarında iki tuz tipini (NaCl ve $CaCl_2$) 0, 50, 100, 150, 200 ve 300 mM dozlarında kullanmışlardır. Gelişme ortamında NaCl'ün konsantrasyonu arttıkça dokularda Na^+ ve Cl^- birikiminin arttığı, Ca^{++} miktarının azaldığı belirlenmiştir. $CaCl_2$ dozunun artışı ile birlikte bu kez dokularda Ca^{++} birikiminin arttığı, Na^+ miktarının azaldığı her iki tuz uygulamasında da potasyum miktarının azaldığı saptanmıştır. NaCl, $CaCl_2$ ya da bunların kombinasyonlarının bulunduğu kültür ortamlarında 2 ay sonra bitki gelişiminin (yaprak sayısı, bitki uzunluğu, taze ve kuru ağırlık) azaldığı, bitkilerde yaprak zararının arttığı saptanmıştır.

Topaloğlu (2010), Kontrollü koşullar altında *Capsicum annuum L.* varyetelerinin farklı NaCl konsantrasyonlarında (50, 100, 150 ve 200 mM) chili biberlerinin kapsaisinoid ile peroksidaz arasındaki ilişki incelendiğinde; tuzluluk oransal su, klorofil ve karotenoidler ile bitki ağırlığı ve meyve miktarını azaltırken, prolin, glisin betain (GB) çözünür karbonhidrat, total aminoasit ve antioksidant enzim peroksidaz (POD) aktivitelerini arttırmıştır.

Zhou vd. (2012)'nin patlıcanda yaptıkları çalışmada; aşısız ve *Solanum torvum* üzerine aşılı bitkileri, hafif (% 50-55) ve şiddetli (% 35-40) kuraklık stresi koşullarında bitki gelişimi ve enzim aktiviteleri bakımından incelemişlerdir. Kuraklık stresi altında aşılı bitkilerde aşısız olanlara göre bitki uzunluğu, bitki yaş - kuru ağırlıkları, yaprak nispi nem ve klorofil içeriğinin arttığı, MDA miktarının düştüğü, aşılama ile çözülebilir şeker, prolin içeriği ile SOD ve POD aktivitelerinin dikkat çekici bir şekilde arttığı belirlenmiştir.

Kavas vd. (2013), yaptıkları çalışmada, Kırkağaç ve Galia kavun çeşitlerinin PEG ile oluşturulan ozmotik stres altında oluşan oksidatif hasarı ve antioksidant savunma cevapları karşılaştırılmıştır. Kavun fideleri iki farklı ozmotik potansiyele (0,2 MPa ve 0,4 MPa) ayarlanan PEG-6000 çözeltileri ile muamele edilmiştir. Fizyolojik parametrelerden MDA, prolin içeriği ile CAT, APX ve GR antioksidant enzimlerinin miktarı ölçülmüştür. Ayrıca kök ve sürgün dokularının taze ve kuru ağırlıkları kaydedilmiştir. Her iki çeşitte de artan ozmotik potansiyel ile önemli miktarda prolin belirlenmiştir. Kırkağaç'ta 0,4 MPa ozmotik potansiyeli MDA içeriğinde önemli bir artışa sebep olmuştur. Galia çeşitinde de PEG konsantrasyonunun artmasıyla H₂O₂ miktarında artış kaydedilmiştir. CAT aktivitesi sadece 0,4 MPa ozmotik potansiyeli her iki çeşitte de belirgin artış göstermiştir. PEG ile indüklenen ozmotik stres her iki çeşitte de GR aktivitesini değiştirmiştir. Bu sonuçlara göre Galia çeşidinin Kırkağaç'a göre kuraklığa daha toleranslı olduğu, kuraklık stresinin her iki çeşitte de antioksidant enzim aktivitesinde artış kapasitesine ve prolinin ozmotik stresten koruyucu fonksiyonu ile yakından ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bu cevapların karşılaştırılması, kavun çeşitlerinde kuraklığa tolerans mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamıştır (Kavas vd. 2013).

Doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik etmenler bitkiler de strese neden olmaktadır. Bitkilerde strese neden olan etmenlerin meydana getirdikleri zarar, bitkinin sahip olduğu tolerans mekanizmasına göre farklılık gösterebilmektedir. Bitkilerin sahip olduğu bu mekanizma onların değişik bölge ve şartlarda en iyi şekilde gelişmelerini sağlamaktadır. Bitkiler geliştirdikleri bazı mekanizmalarla stresin etkilerini önleyebilmekte veya tolerans mekanizmaları ile strese karşı koyarak yaşamlarını sürdürebilmektedirler.

2.5. Bitkisel Üretimde Mikoriza (Mantar)

Mikoriza, 1885'te ilk olarak orman patoloğu Albert Bernhard Frank tarafından ağaç kökleri ve mantarlar arasında sağlanan bir birlik olarak tanımlanmıştır. Yunanca kökenli myco, fungus, mantar; rhiza ise kök anlamına gelmektedir. Bu kelimelerin birleştirilmesiyle kök mantarı anlamına gelen mikoriza terimi ortaya çıkmıştır. Bitki türlerinin yaklaşık % 95'inin mikoriza ile birlik oluşturduğu bilinmekte olup, mikorizanın birçok bitki için önemli olduğu anlaşılmaktadır (Mehrotra 2005). Mikoriza ilk olarak mantar-ağaç ortaklığı olarak açıklanmış ancak daha sonra mantarların otsu ve çalı formundaki bitkilerle de birliktelik içerisinde olduğu belirlenmiştir. *Ericaceae* ve *Orchidaceae* familyalarının üyelerinde de 1887 yılında mikorizal birliğin olduğu belirlenmiştir. Arbusküler vesiküler mikoriza (AMF) 1897 yılında tanımlanmış olana günümüzde en yaygın mikoriza olarak bilinen türdür (Strack vd. 2003; Koide ve Mosse 2004). Mantar ve bitkinin kökleri ile olan ilişki, mikorizal birlik doğada yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Bu birliği oluşturan çok sayıda mantar türü belirlenmiştir (Gosling vd. 2006). Dört yüz milyon yıl öncesine ait fosillerde dahi mikorizal yaşam olduğu arkeologlar tarafından tespit edilmiş olup, günümüzde de simbiyotik yaşam tarzı popüler olarak dikkatleri üzerine çekmektedir (Dura 2010).

Simbiyotik yaşam döngüsünü oluşturan birliktelikte bitki mikorizaya enerji kaynağı olarak karbonhidrat vermekte, buna karşılık mikoriza bitkinin ihtiyacı olan besin elementleri ve su alımını sağlamaktadır (Smith ve Read 1997; Atul Nayyar vd. 2009). Bitki ile mikoriza arasındaki bu simbiyotik ilişki ekosistemdeki besin döngüsüne

önemli ölçüde katkı sağlamakta ve bazı bitki popülasyonları için canlılığının devamını sağlamakta oldukça önemli olmaktadır. (Ortaş 1997; Jeffries 1991; Bagyaraj ve Manjunath 1981; Harley ve Smith 1983). Bitkiler arasında; Dikotiledonların %83'ü monokotiledonların %79'u ve Gymnospermilerin tümü bu simbiyotik yaşam şekline sahiptir. Bununla birlikte, *Cruciferae* ve *Chenopodiaceae* familyasına ait bitkilerde ise, her türlü çevresel koşul altında dahi mikorizal yaşam görülmemektedir (Marschner 1995).

Mikorizal mantarın konukçu bitki ile arasındaki simbiyotik ilişkiye en önemli faydası, bitkinin besin elementi ihtiyacını sağlamasıdır (Strack vd. 2003). Mikoriza bu durumu hiflerinin çok ince yapısı ile köklerin giremediği ince porlara girerek su ve besin elementlerinin bitki bünyesine alımını sağlayarak gerçekleştirmektedir. (Bagyaraj ve Manjunath 1981; Harley ve Smith 1983; Jeffries ve Dodd 1991; Hooker ve Atkinson 1996; Marschner 1995; Mosse 1981). Mikorizal mantarın özellikle fosforun (P) bitki bünyesine iletiminde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. P, bütün organizmalar için önemli bir makrobesindir ve nükleik asit, fosfolipid, çok sayıda enzim ve koenzim için gerekli yapısal bir elementtir. Bu nedenle yeterli miktarlarda P'nin bitkiye alınması, hücrel P dengesini sağlayabilmek için oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Karandashov ve Bucher 2005; John 1992). Mikorizal birlikteliğin olmadığı bir bitkide P'nin toprakta hareketliliği yavaş olduğu için bitki kök hücrelerine girişi sınırlı olmaktadır. Bunun nedeni ise, köklerin fosfatı absorbe etme oranı, toprakta bulunan fosfatın difüzyon oranından daha fazladır. Bitkinin fosfat alımı zor olduğu için bitkiler fosfat ihtiyacını kolaylaştırıcı mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalardan birini de mikorizal birliktelik oluşturmaktadır (Karandashov ve Bucher 2005). Büyümekte olan bitki kökü, kök bölgelerinde (rizosferde) mikorizal birlik ile fosfat tüketim zonu oluşturur. Böylece bitki, mikorizal birlikte mantar hifleri yardımıyla bulunduğu bölgeden daha uzak bölgelere uzanabilir ve çözünmüş yeni fosfat merkezlerine ulaşarak kök sisteminin uzantısı olarak görev yapabilir (Karandashov ve Bucher 2005; Kuiper vd. 1988). Ayrıca; mikorizal birlikteliğin çinko, bakır, mangan, demir, kalsiyum, potasyum ve azotun bitki bünyesine alımında da etkili olduğu bildirilmiştir (Hayman 1982).

Mikoriza, kök içindeki - dışındaki durumu ve taksonomik özellikleri bakımından sınıflandırılmaktadır (Smith ve Read 2008).

- Ektomikoriza
- Endomikoriza (Arbusküler mikoriza)
- Ektendomikoriza
- Erikoid mikoriza
- Orkide mikorizası

Mikorizal funguslar taksonomik yönden sporlarının yapısı, bitkilerdeki enfeksiyon şekilleri ve kök içindeki morfolojik ve fizyolojik yapıları itibarıyla büyük farklılıklar göstermektedir. Mikorizal funguslar, fungal miselyumun kök yapısı ile olan

ilişkinine göre Endomikoriza ve Ektomikoriza olmak üzere iki büyük grubu oluşturmaktadır (Marschner 1995).

Ektomikorizalar daha çok odunsu bitkilerin köklerinde ortaya çıkmakta ve iki önemli yapıları ile karakterize edilmektedir. İlk olarak kök yüzeyinin etrafında bulunan Hartig ağı olarak tanımlanan fungal miselyum ağı, diğeri ise bu fungal miselyum ağından kök korteksinin yüzeyine penetrasyon yapan hif yapısıdır.

Endomikorizal funguslar ise kök korteks hücreleri içinde yaşar ve interselüler veya intraselüler olarak gelişirler. Endomikorizanın en tanınmış türleri; Erikoid mikoriza, Orkide mikoriza ve Vesiküler Arbüsküler Mikoriza (VAM)'dır (Marschner 1995).

Mikoriza oluşumunda, primer enfeksiyon (köke ilk giriş) ile sekonder enfeksiyon (fungal hiflerin kollara ayrılarak enfeksiyonun ilerlemesi) farklı şekillerde gerçekleşir. İlk enfeksiyon sporların çimlenmesine, hifin toprakta büyümesine ve bitki köküne girişine bağlıdır. İkincil enfeksiyon ise konukçu bitkinin fizyolojisi ile etkilenmektedir, çünkü hifin yayılması için gerekli olan enerjinin büyük bir kısmı, bitkiden arbüsküller ya da hifler aracılığıyla fungusa gönderilen fotosentez ürünlerinden temin edilir. Fungus, konukçunun karbonhidratlarına bağımlı bir yaşama ihtiyacı olacağından, fotosentetik ürünlerin ulaşılabilirliğinin değişmesi fungusu da etkileyecektir (Juniper ve Abbott 1993). Arbüsküler Mikorizal Funguslar (AMF)'ın yaşam döngüsü asimbiyotik bir şekilde gerçekleşmemekte, sadece AMF sporları bitkiden bağımsız olarak bulunmaktadır (Requena vd. 2007). Sporlar birden fazla tabaka içeren kalın hücre duvarlı, yuvarlak yapılı ve yaklaşık olarak 10-1000 µm arasındaki bir yapıyı oluşturmaktadır. Çok sayıda nukleusa sahip olup, spor oluşumu ortam şartlarına göre ve türden türe farklılık göstermekte, fakat genellikle mikorizal birliktelik oluştuktan 3-4 hafta içinde meydana gelmektedir (Mehrotra 2005). AMF sporlarının en belirgin özelliğini ise değişik fizyolojileri oluşturmaktadır. AMF sporları, uygun su ve sıcaklık şartlarında çimlenmekte ve 2-3 hafta içinde hifleri gelişmektedir. Çok sayıda nukleus spordan uzayan misele gider ve bazıları mitoz geçirir (Requena vd. 2007). Diğer toprak mantarlarından farklı olarak, bu sporlar çoğu zaman bitkiye bağlı sinyaller tarafından uyarılmadığı zaman çimlenme ve büyüme yeteneklerini durdururlar.

Mikoriza-bitki ilişkisi üzerine yapılan çalışmalarda mikorizal birlikteliğin bitki stresi üzerindeki rolü ortaya çıktıkça bu konu daha dikkat çeken bir hale gelmiştir. Nitekim araştırmalar mikorizaların stresin olumsuz etkilerini azaltmak, hafifletmek ve telafi etmek adına bitkide birtakım düzenlemelerin oluşumunu sağladıklarını ve böylece konukçusunun biyotik ve abiyotik koşullar altında da büyümesini sağlayacak toleransın kazanımına katkı sağladığı belirtilmiştir (Gholamhoseini vd. 2013).

Arbüsküler Mikorizal Funguslar (AMF), bitkiye besin alınımlarını artırmanın yanı sıra, bitkinin tuzlu ve kurak koşullara, ağır metal toksisitesine ve sıcaklık stresine karşı dayanıklılığını arttırmakta, bitkinin, büyümeyi teşvik edici maddeler (hormonlar) salgılamasını sağlamaktadırlar. Ayrıca, bazı mikorizal funguslar miselleri ile toprak agregatlarını bir yumak şeklinde sararak ve salgıladıkları enzimler ile toprak strüktürünün iyileşmesine katkıda bulunmakta ve toprak erozyonundan dolayı olan kayıpları da engellemektedirler (Tisdall 1994). Arbüsküler Mikorizal Funguslar (AMF) doğal ve tarımsal ekosistemlerde yaygın olarak bulunan ve toprak rizosferindeki en

fonksiyonel mikrobiyal simbiyotlardan biridir (Smith ve Read 2010). AMF aynı zamanda bitkilerin hem biyotik hem de abiyotik stres faktörleriyle mücadelelerinde etkin bir rol oynamaktadır (Sensory vd. 2005). AMF'lerin, kuraklık, tuzluluk, pH, toprak yapısı, ağır metal gibi stres faktörlerine karşı bitkinin direncini arttırdığı belirlenmiştir (Strack vd. 2003).

Tuzlu koşullarda artan bitki büyümesi, arbusküler mikorizal mantar ile enfekte olan bitkilerin daha fazla miktarda mineral almalarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Sharifi vd. 2007). Tuz stresinde AMF ile kolonizasyonun besin elementlerinin iletiminin artmasıyla bitkinin büyümesinin ve tuza toleransının arttığı bilinmektedir (Giri vd. 2007). Tuz stresinde AMF ile enfekte olan bitki köklerinde daha fazla miktarda çözünür şeker bulunabileceği, bunun nedeninin AMF'nin karbonhidrat ihtiyacı nedeniyle köklerde çözünür şekerlerin depolanması ve taşınımının artması olduğu belirtilmiştir. Mikorizal kök dokularındaki çözünür şekerlerin yüksek olması, mikorizal bitkileri tuz stresinde oluşan ozmotik strese karşı daha fazla dayanıklı kılacağı vurgulanmıştır (Feng vd. 2002).

Bolat (2006), tuzlu topraklardan alınan doğal mikorizaların da kültür bitkilerinde çalıştığını ve bitki gelişimine ve bitki besin elementleri alımına destek olduğunu vurgulamıştır.

Arbusküler mikoriza tuzlu topraklarda doğal olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte tuzluluk mikorizal birliğin oluşumunu ve işleyişini etkilemektedir (Giri vd. 2007). Ayrıca tuz oranının artmasıyla birlikte mikorizal mantarın köklerdeki kolonizasyonu ve topraktaki hiflerinin uzunluğu azalmaktadır (Cantrell ve Linderman 2001). Hif uzunluğunun azalmasıyla birlikte suyun ve P, K, Fe, Cu ve Zn gibi önemli minerallerin bitkiye alımı azalmaktadır. Ayrıca topraktaki sodyum miktarının artmasıyla diğer besinlerinde rizosferdeki dağılımı da baskılanmaktadır (Martin ve Stutz 2004). AMF zorunlu olarak konukçuya ihtiyaç duyduğu için konukçuyu etki altına alan tüm faktörler fungal simbiyozisi de etkilemektedir (Juniper ve Abbott 1993).

Tuzlu koşullar altındaki alanlardan alınan doğal mikorizaların kültür bitkilerinde uyum sağladığı ve bitki gelişimi ile bitki besin elementleri alımına destek olduğunu belirlenmiştir. Ancak, yapay ortam koşullarında (andezitik tuf: toprak: kompost - 6:3:1 v/v) yetiştirilen bitkilerde mikorizaların daha iyi çalıştığı ve mikoriza enfeksiyonunun belli bir doza kadar tuz ilavesi sonucu oluşan strese yanıt verdiği belirlenmiştir (Bıçıcı 2011).

Mikorizal mantarların stres koşullarında bitki performansını iyileştirdikleri ve bu şekilde verimde artışı sağlayabildikleri (Evelin vd. 2009) bu etkinin stres faktörü arttıkça daha da arttığı belirlenmiştir (Miransari 2008). Mikoriza mantarlarının gerek kök yüzey alanı genişletmesi gerekse köklerin su ve besin alımını yaklaşık 5-7 kat artırabilmesinin özellikle kuraklık problemine ciddi anlamda çözüm olabileceği düşünülmektedir. Mikoriza'nın yoğun olduğu kök bölgelerinde bitki köklerinin daha fazla geliştiği ve ortamdaki sudan daha fazla yararlanarak kurak döneme bu şekilde dayanım kazandıkları bilinmektedir. Ancak kompleks bir mekanizmanın olduğu için, tepkinin boyutu ve tipinin mikorizaya, bitki türlerine ve stresin şiddetine bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir (Miransari 2008; Zhongqun 2007). Mikorizaların kuraklık stresine karşı bitkide oluşan bu dayanıma çok yönlü etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

Çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin olduğunu belirten araştırmacılar mikorizaların ozmotik düzenlemede (Porcel ve Ruiz Lozano 2004), su kullanım etkinliği ve gaz alışverişinde (Allen ve Allen 1986; Nelsen 1987), fotosentetik aktivitede etkili rol oynadıklarını belirtmişlerdir (Hajiboland 2010). Bununla beraber, bitki bünyesinde yüksek antioksidan etkili enzimlerin üretiminin artmasını sağlayarak toleransın kazanılmasında büyük ölçüde etkili olduğu da düşünülmektedir (Goicoechea vd. 2005; Manchanda ve Garg 2011; Rappardini ve Peñuelas 2011).

Duan (2007) belirttiği gibi bitkilerin kuraklığa uyumunun bitkinin morfolojisi, büyüme oranı, ozmotik düzenleme ve antioksidan savunma sisteminde meydana gelen değişiklikleri içeren fiziksel ve biyokimyasal adaptasyonlar sonucu olduğunu bildirmiştir.

Mikorizalar aracılığı ile kuraklığa toleransın sağlanması doğrudan hifler sayesinde olabildiği gibi mikorizanın bitki fizyolojisi ve morfolojisi üzerinde yaptığı değişikliklerden kaynaklanan kök büyümesi veya kılcak kök oluşumuna teşvik etmesi ile de ilgili olabilmektedir (Davies vd. 1992). Mikoriza ile enfekte edilmiş bitkilerde kuraklığa karşı dayanım mekanizmasının ortaya çıkarılması bakımından farklı çalışmalar yürütülmektedir. Son yıllarda simbiyotik birlikteliğin kuraklığa karşı sürdürülebilir bir uygulaması olması ile birlikte (Aroca 2012) mikorizal birlikteliğin aynı zamanda ekolojik bir yaklaşım olması da oldukça önem taşımaktadır (Yang vd. 2008). Kuraklık stresi üzerine yapılan çalışmalarda, enfekteli bitkilerde bitki biyokütle, klorofil içeriği ve oranının daha fazla olduğu belirlenmiştir (Ruiz Lozano vd. 1995; Augé 2001; Beltrano vd. 2003; Asensio vd. 2012). Kuraklık stresinde mikorizal bitkilerin oksidatif strese karşı tepkilerinin su durumunun kontrolünde önemli olduğunu belirtmiştir (Augé 2001). Mikorizaların bitkiyi kuraklığın zararlı etkilerinden korumasında konukçu üzerindeki işleyiş mekanizmalarını belirlemek için moleküler düzeyde incelemelerin gerekliliğini vurgulanmıştır (Ruiz Lozano 2003).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Denemede bitkisel materyal Carrizo (*Citrus sinensis* Osb. × *Poncirus trifoliata* Raf.) anacı kullanılmış olup, bu anaçlar Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün (BATEM) Kayaburnu biriminde üretilmiştir. Mart-Nisan (2018) aylarında nüseller çöğürler BATEM biriminden deneme alanına transfer edilmiş, kum-perlit-kokopit (1:1:1) içeren saksılara şaşırtılmıştır. Bitki materyalleri çimlenmiş ve gerçek yaprağını oluşturmuş (yaklaşık 2-3 aylık ve/veya 15-20 cm uzunluğundaki) çöğürlerden seçilmiştir. Deneme, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Seralarında gerçekleştirilmiştir. Çöğürler 16 cm derinliğinde 9x9 cm en x boy ebatındaki, 0,85 lt hacmine sahip hava budamaya uygun kare saksılara alınmıştır. Saksılar özel olarak dizayn edilmiş bençlere yerleştirilmiş ve içlerine spaghetti sulama sistemi takılarak denemeye uygun hale getirilmiştir.

3.1.1.1. Carrizo sitranjı (*Citrus sinensis* Osb. X *Poncirus trifoliata* Raf.)

Portakal ve üç yapraklı hibriti olan sitranjlar ile altıntop üç yapraklı hibriti olan sitrumelolar sonraki anaç jenerasyonunu temsil eder. Bu anaçlar dünyanın çok büyük turunçgil endüstrilerinin çoğunda dominant anaç olarak turunçgil dünyasını değiştirmiştir. Carrizo sitranjı ve Troyer sitranjı en önemli ticari anaçlar olarak ortaya çıkmıştır. Bu anaçlar, 1909 yılında USDA tarafından Kaliforniya'da gerçekleştirilen tek bir melezlemeden elde edilmiştir (Hodgson 1967).

Troyer ve Carrizo sitranjlarının her ikisi de aynı tohumdaki embriyolardan oluşmuş olmasına rağmen Carrizo'nun büyüme verimi Troyer'den fazladır. Exocortis (Cüceleşme - CEV) virüs hastalığına karşı çok duyarlı, fakat Tristeza (Göçüren - CTV) ve Xyloporosis (Gözenekleşme) virüs hastalıklarına oldukça dayanıklıdır. Pytophthora citrophthora'ya orta derecede duyarlıdır. Tristeza ve Pytophthora citrophthora'ya toleranslı olmasından dolayı anaç olarak kullanımı, tercih edilebilirliği oldukça yaygındır (Davies ve Albrigo 1994; Saunt 2000).

Carrizo sitranjı 1970'li yıllarda Florida da esas olarak "kaba limon"un yerine geçerek bir ticari anaç olmuş, İspanya'da da yayılmış ve dominant bir anaç hâline gelmiştir. Ancak kireçli topraklara duyarlılığı potansiyel kullanımını sınırlamıştır. Troyer ve Carrizo sitranjları Florida ve Kaliforniya'dan ziyade diğer yerlerde yaygın biçimde değerlendirilmiş ve bazı ülkelerde yavaş yavaş turuncun yerine geçmiştir ve bu geçiş devam etmektedir. Kaliforniya da ve diğer turunçgil alanlarında Makrofilla (*Citrus macrophylla*) limon için uygun anaç olarak bulunmuştur.

Swingle sitrumelo, sitranjları izleyen ve hâlâ değerlendirilen ve kullanılan önemli bir anaçtır. Dr. Walter Swingle, USDA, Florida'da 1907 yılında yeni bir anaç geliştirmek amacıyla değil, üç yapraklının soğuğa dayanıklılığını kalem çeşitlerine aktarmak için bir melezleme çalışması yapmıştır. Bu çalışmadan elde edilen "Swingle sitrumelo"nun resmî olarak 1974 yılında piyasaya sürülmesiyle beraber Swingle sitrumelo anacı Florida'da büyük ölçüde Carrizo sitranjının yerini almıştır (Davies ve

Albrigo 1994).Swingle sitrumelo hâlen Florida’da popüler olarak kullanılmaktadır. Rangpur laymı, turunç CTV nedeniyle kullanılamaz olduğunda Brezilya’da tercih edilen bir seçenek olmuştur. Carrizo sitranjının Troyer sitranjına göre verimi olumlu etkilemesi ve kurağa toleranslı olması nedeniyle Brezilya’da Rangpur laymı hâlen en yaygın anaç durumundadır. Bazı kaynaklarda kuraklığa daha toleranslı olduğu belirtilmiştir (Gardner ve Horanic 1961a; Gardner ve Horanic 1961b; Ford 1966; Blondel 1967; Tuzcu 1978; Özcan ve Ulubelde 1984; Castle 1984 ve Tuzcu 1994).

Davies ve Albrigo (1994), Carrizo sitranjının meyvelerinin çekirdekli, yüksek oranda nüseller embriyonu gösterdiği ve anaç olarak kolaylıkla çoğaltılabilmekte olduğunu belirtmişlerdir. Üzerine aşılı ağaçlar kumlu, kumlu- tınlı topraklarda iyi gelişme göstermektedir. Kireçli topraklarda üç yapraklı’ dan görece daha iyi olsa da zayıf geliştiği bildirilmekle beraber (Davies ve Albrigo 1994), ülkemizde yapılan dikimlerde herhangi bir sorunla karşılaşılmamıştır.

Güney Afrika’da en sık kullanılan anaçlar arasında bulunduğu belirtilen Carrizo sitranjı, özellikle İspanya’ da %80 oranında portakal, mandarin ve mandarin melezlerinin üzerine aşılanmaktadır. (Saunt 2000).

3.2. Metot

Araştırma, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Seralarında gerçekleştirilmiştir. Araştırmada 10 (on) farklı uygulama kullanılmış ve bu uygulamalar aşağıda açıklanmıştır.

3.2.1. Uygulamalar

Çöğür yetiştiriciliği için standart olarak belirlenen 16 cm derinliğinde 9x9 cm enxboy ebatındaki, 0,85 lt hacimdeki kare şeklinde hava budamaya uygun tabansız saksılara şaşırtılmıştır. Saksıların tabanlarının çıkartılmış olması zemin üzerine köklerin atma ihtimalinin ortadan kalkması amaçlanmıştır (Şekil 3.1). Bu nedenle denemenin kurulacağı bençler üzerine özel olarak dizayn edilmiş ızgara sistemi yapılarak köklerin zemin ile temasının kesilmesi sağlanmıştır (Şekil 3.2). Bençlere yerleştirilen bitkilerin içlerine spaghetti sulama sistemi yerleştirilmiştir. Tüm bitkilerin zeminle ilişkisi kesilmiş olarak aynı saksılar içerisinde topraksız üretim formülasyonu kullanılarak fertigasyon yöntemiyle (sulama suyu ile birlikte gübreleme) beslenme yapılmıştır. Planlanan deneme de tüm bitkiler aynı koşullarda aynı ebatlardaki saksılara şaşırtıldıktan sonra uygulamalara başlanmıştır. Toplam on farklı uygulama topraksız tarım ortamında “kontrol, PEG 6000, PEG 6000 + prolin, PEG 6000 + Mikoriza, NaCl, NaCl + prolin, NaCl + mikoriza, NaCl + PEG 6000, NaCl + PEG 6000 + Mikoriza, Mikoriza” uygulamaları olmak üzere on farklı kombinasyonların tuzluluk ve kuraklık stresine karşı gösterdiği tepkiler bitkinin bütün aksamlarında çalışılmıştır. Uygulamalar 15 hafta boyunca bitkiler üzerinde devam etmiştir. Bu süre sonunda bitkiler ortamlarından çıkarılmış, temizlenmiş ve bir kısmı taze iken hemen analizlerde kullanılmış, bir kısmı ise daha sonraki biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere derin dondurucuya (-80 °C) konulmuşlardır.



Şekil 3.1. Hava budamaya uygun tabansız saksı görünümü



Şekil 3.2. Bençler üzerine dizayn edilmiş ızgara sisteminin görünümü

3.2.2. Uygulamalarda kullanılacak olan ürünler ve uygulama şekilleri

1. Kontrol: Bitkilere standart gübreleme dışında hiç bir uygulama yapılmayacaktır.

2. Tuz (NaCl): Çalışmada bitkilere Doğan vd. (2013) tarafından yapılan çalışma baz alınarak belirlenen 50 mM tuz uygulaması NaCl formunda sulama suyuna ilave edilerek uygulanacaktır.

3. Tuz (NaCl) + Prolin: Wu vd. (2011) tarafından belirtilen yöntem dikkate alınarak prolin bitkilere 100 mg L⁻¹ dozunda dışarıdan (yapraklara püskürtme şeklinde) hafta da bir olmak üzere uygulanmıştır. Tuz uygulaması ise besleme solüsyonuna ilave edilerek düzenli sulama şeklinde verilmiştir.

4. Tuz (NaCl) + Mikoriza: Tuz uygulaması ve mikoriza belirlenen parametreler dahilinde uygulanmıştır.

5. PEG 6000: Çalışmada PEG 6000 uygulaması Zekri ve Parsons (1989) tarafından belirtilen yöntem dikkate alınarak osmotik potansiyeli -0.35 MPa'ya ayarlanmış besleme solüsyonuyla birlikte uygulanacaktır.

6. PEG 6000 + Prolin: Planlanan dozlarda ve uygulama şekilleri ile bitkilere aktarılmıştır.

7. PEG 6000 + Mikoriza: Uygulamalar belirlenen parametreler dahilinde sağlanmıştır.

8. Tuz (NaCl) + PEG 6000: Belirlenen dozlarda besleme solüsyonuna NaCl atom ağırlıklarına göre hesaplanan ve PEG 6000 yoğunluğuna göre orantılı bir karışım oluşturulmuş, bitkilere çapraz stres faktörü olarak tek başına tuz ve kuraklık uygulamalarının kombine haline getirilmiş formu uygulanmıştır.

9. Tuz (NaCl) + PEG 6000 + Mikoriza: Belirlenen parametreler dahilinde bitkilere kombine uygulamalar yapılmıştır.

10. Mikoriza: Çalışmada ERS (Endo Roots Soluble) Mikoriza kullanılmıştır. Mikoriza Bioglobal firmasından temin edilmiştir. Bir paket (250 gr – 1 da) te toplam canlı organizma 1x10⁴ olarak bulunmaktadır. Denemede mikoriza karışımı olarak kokteyl (*Glomus spp*: *G. intraradices*, *G. aggregatum*, *G. mosseae*, *G. clarum*, *G. monosporus*, *G. etunicatum*, *G. margarita*, *G. deserticola*, *G. brasilianum*) kullanılmıştır. (Dalkılıç ve Özbek 2017).

Uygulamalar süresinde oluşturulan stres faktörlerinden Tuz stresi için Sigma NaCl (sodyum klorür, ACS reagent, ≥99.0%, safsızlık 000.005% Çözünmeyen madde, pH 5.0-9.0 (25 ° C, çözeltide% 5), erime noktası 801 ° C (lit.)) kullanılmış olup, kuraklık stresini bitki bünyesinde sağlamak amacıyla ise Polietilen glikol (PEG 6000) kullanılmıştır. Osmoregülatör olan kullanılan Prolin, Sigma L-Prolin (Pyrrolidine-2-carboxylic acid) ReagentPlus®, ≥99% (HPLC) kullanılmıştır. Mikoriza, ERS (Endo Roots Soluble) kullanılmıştır.

Topraksız Besleme Formülasyonu ve Uygulanması (Fertigasyon):

Çöğürlerin besleme formülasyonu Furlani vd. (2009) tarafından belirtilen yönteme iklim ve bitki durumuna göre modifiye edilerek kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan fertigasyon uygulamasında bitkinin ihtiyacı olan tüm makro ve mikro besin elementlerinin kontrollü koşullarda solüsyon şeklinde bitkiye verilmiştir. Bu durum gübrelerin alım etkinliğini arttırmış olup, gübre kullanım düzeyini de azalttığı bildirilmiştir (Savvas vd. 2013). Fertigasyon sisteminin kazandırdığı diğer bir faktör ise drenaj atıklarının da kontrol altına alınabilmesinden dolayı çevre kirlenme düzeyini en aza indirilmekte (Olympos 1999) böylece daha sürdürülebilir bir tarım anlayışını güvence altına almaktadır.

Kısıtlı bir ortam içerisindeki bitkilerin sulamalarının başlama/bitiş saati, günlük sulama sayısı/sıklığı/süresi/miktarı, bitki türü, gelişme aşaması, kullanılan substrat tipi ve miktarına ve en önemlisi de çevresel şartlara bağlı olarak değişmektedir (Adak 2009; Xiao vd. 2010; Nicola vd. 2015). Işık, bu anlamda en önemli çevresel faktör olarak ön plana çıkmaktadır. Bitkinin transpirasyonu saksı içerisindeki kısıtlı ortamda yetiştirilen çöğürlerin besleme formülasyonunun hesaplanmasında etkili ve en önemli faktör olarak göz önüne alınmaktadır (Adak 2009). Ayrıca bu sistemde yapılan drenaj kontrolleri (EC %, pH) ile de yapılan yetiştiriciliğin doğruluğu ölçülmektedir. Ek olarak topraksız yetiştiricilikte, besleme sisteminin otomasyona bağlı olarak gerçekleşmesi, üretimin tamamen kontrollü koşullarda yürütülebilmesini sağlamaktadır.

Bu tez çalışması Turunçgil çöğürlerinin (Carrizo) tuz ve kuraklık stresi altında geliştirmiş oldukları mekanizmaların araştırılması ve bu strese karşı toleransın geliştirilmesinde mikoriza ve osmoregülatör uygulamalarının rolünün incelenmesi ve bu süreçte meydana gelen bazı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik bir yüksek lisans tezi olarak yürütülen bu çalışmada incelenen özellikler aşağıda detaylandırılmıştır.

3.2.3. Çöğür üretim seraları

Denemede BATEM Kayaburnu birimindeki çöğür üretim serasındaki tohum ekim yastıklarında üretilen çöğürler kullanılmıştır. Çöğürler Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü serasında belirlenen saksılara alınmış olup deneme başlangıcına kadar geçen süre de düzenli bakım işlemleri yapılarak kontrol altına alınmıştır. Bitkilerin deneme için uygun hale gelmelerinin ardından uygulama sürecine başlanmıştır.

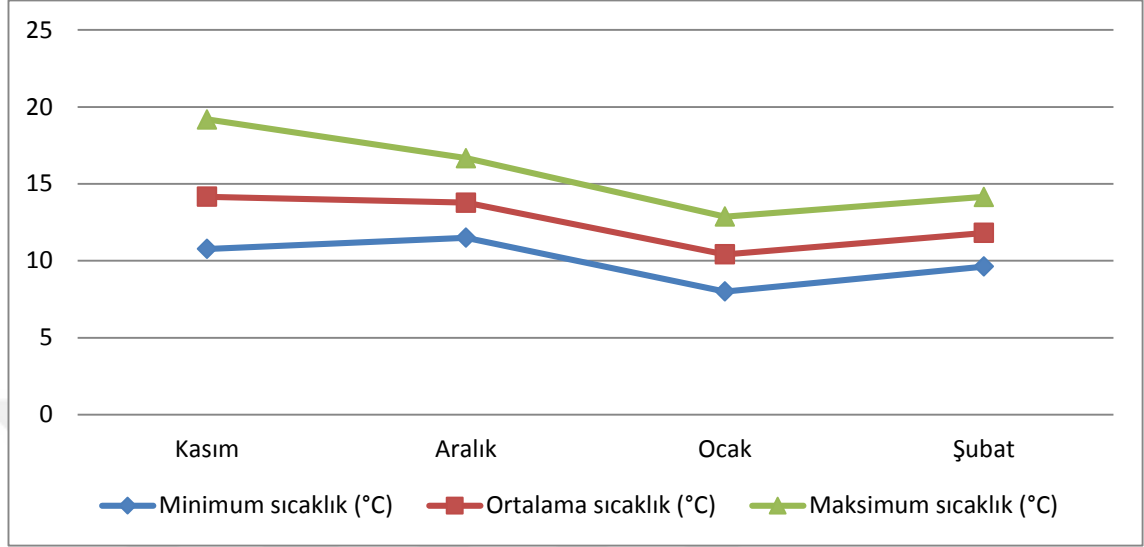
3.2.4. Kültürel işlemler

Deneme süresi boyunca, çöğürlerin sağlıklı büyümeleri için düzenli olarak sulama, gübreleme, kimyasal mücadele ve yabancı ot temizliği yapılmıştır.

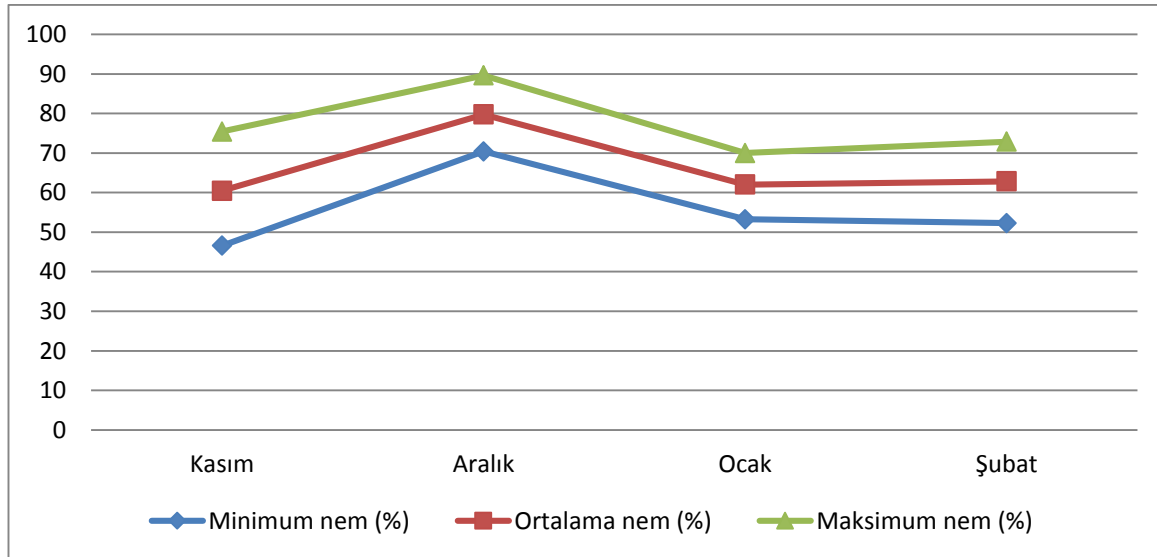
3.2.5. Sıcaklık ölçümleri

Araştırma süresince bitkilerin yetiştirildiği cam sera içerisinde yer alan seranın sıcaklık (°C) ve nem değerleri (%) HOBO U12-012 datalogger Temperature/ Relative Humidity (temp/RH) datalogger cihaz tarafından kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.3 ve

Şekil 3.4). Cihaz ölçümleri her saat başı bir rasat (günde 24 rasat) yapacak şekilde ayarlanmıştır. Sera sıcaklık ve nem değerleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 3.3. Deneme süresince serada aylara bağlı olarak saptanan minimum, ortalama ve maksimum sıcaklık değerleri



Şekil 3.4. Deneme süresince serada aylara bağlı olarak saptanan minimum, ortalama ve maksimum nem değerleri

3.2.6. Çöğürler de bitki büyümesi ve gelişmesi ölçümleri

Çap Ölçümleri (mm): Denemenin başlaması ile birlikte 30 gün arayla bir saksının 5 cm üstünden çöğür çap ‘‘mm’’ ölçümleri dijital kumpas ile yapılmıştır. Ölçümler araştırmanın sonuna kadar devam etmiştir.

Boy Ölçümleri (cm): Denemenin Başlaması ile birlikte çöğürler tek gövdeli olarak büyütülerek 30 günde bir sürgün uzunlukları cetvel yardımı ile ‘‘cm’’ cinsinden ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Sürgünlerin ölçümleri büyüme sezonunun sonuna kadar (Şubat) devam etmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Deneme başlangıcında farklı uygulamalara tabi tutulacak bitkilerinin ilk görünüşleri

Yaş Gövde Ağırlık Oranı (%): Kombinasyonlara ait bitkiler, büyüme sezonunun sonunda sökülüp yaprak ve kök dokularından ayrılarak, hassas terazide gövde yaş ağırlıkları alınmıştır. (Şekil 3.6)

Yaş Yaprak Ağırlık Oranı (%): Kombinasyonlara ait bitkiler, büyüme sezonunun sonunda sökülüp gövde ve kök dokularından ayrılarak, hassas terazide yaprak yaş ağırlıkları alınmıştır. (Şekil 3.6)



Şekil 3.6. Bitkinin tüm aksamalarında örneklenen kök gövde ve yaprağın yaş görünümleri

Yaş Kök Ağırlık Oranı (%): Kombinasyonlara ait bitkiler, örneklemeye dönemlerinde sökülüp köklerinin hassas terazide yaş ağırlıkları alınarak aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır.

Yaprak Kuru Ağırlık Oranı (%): Kombinasyonlara ait yaş ağırlıkları alınacak bitkiler, 65°C etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutularak hassas terazide toprak üstü kuru ağırlıkları alınmıştır.

Kök Kuru Ağırlık Oranı (%): Kombinasyonlara ait yaş ağırlıkları alınacak bitkiler, 65°C etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulacak hassas terazide köklerin kuru ağırlıkları alınmıştır.

3.2.7. Fizyolojik yaprak parametreleri

Klorofil indeksi: Deneme de “Spectrum Technologies FieldScout CM1000 Model” Klorofil Metre kullanılmıştır. Klorofil miktarı sabah 10:00 -12:00 saatleri arasında gün ışığında, her bitkinin en alt, orta ve en üstteki yaprakların ölçülmesi ile yapılmıştır. Klorofil indeksi bakımından klorofil miktarında azalma oranı düşük olan bitkilerin, kuraklık stresine karşı daha toleranslı oldukları yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Anju vd. 1994).

Klorofil floresansı ölçümleri: Photon Systems Instruments (PSI) FluorPen FP 100 cihazı ile yapraklarda klorofil floresansı belirlenmiştir. Her tekerrürdeki

çöğürlerden üç bitki seçilerek genç ve yaşlı yaprak baz alınarak yaprakların üst, alt ve orta bölgelerinden yaklaşık 1 cm yüzey alanına sahip örnekler alınmıştır. Ölçüm yapılarak her bitki örneği için, fotosentetik verim, yaprak fluoressansına göre hesaplanan Fv (değişken fluoressans) /Fm(maksimum fluoressans) oranına göre belirlenmiş olup QY - Kuantum Verimi hesaplanmıştır. (Percival vd. 1999).

3.2.8. Dokuların bitki besin elementi içerikleri

Yaprak Örneklerinin Alınması: Uygulamalardaki her tekerrürü temsilen beşer fidanın yapraklarının tamamı alınarak analizler yapılmıştır. Alınan yapraklar 65°C' de 48-72 saat sabit ağırlığa ulaşana dek kurutulduktan sonra besin elementi tayini için hazır duruma getirilmiştir. Kurutulmuş olarak laboratuvara gönderilen bitki örneklerine homojenizasyon sağlanması ve organik maddenin kolay parçalanabilmesi amacı ile öğütme işlemi uygulanmıştır. Öğütülen bitki numuneleri porselen kapsüllere 0,8 g gelecek şekilde tartılmıştır. Porselen kapsüller kül fırınında 5 saat boyunca 550 °C 'de kuru yakma işlemine tabi tutularak, yakma işlemi biten numunelerin soğuması beklendikten sonra hotplate üzerine alınmıştır. Porselen kapsüllere 4 mL 1/3 HCl eklenerek uçurulur. Asidin tamamen uçması beklenir. Porselen kapsüller hotplate üzerinden alınarak numara verilmiş numune kapları ile eşleşecek şekilde dizilir. Tekrar 4 mL 1/3 HCl + 36 mL saf su eklenerek numune kapları içerisine süzülmesi beklenir (Huni ve filtre kağıdı kullanılarak süzme işlemi gerçekleştirilir). 0,8 g 40 mL ye tamamlandığı için 50 kat seyreltilmiş süzükler hazırlanmış olur.

Fosfor Analizi İçin; 50 kat seyreltilmiş süzükten 25 mL'lik balon jojelere 0,5 mL örnek alınır saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Olsen metodu kullanılarak spektrofotometrede 880 nm dalga boyunda fosfor miktarı ppm olarak belirlenir.

Bor Analizi İçin; Bor miktarı Azomethine-H yöntemi ile spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda ppm olarak belirlenir.

İz Elementlerin Tayini İçin(Cu, Zn, Mn, Fe); Okumalar 50 kat seyreltilmiş süzükten AAS(Atomik Absorbsiyon Spektrometre)'de ppm olarak yapılır. Sonuçlar seyreltme faktörü (50 kat) ile çarpılıp ppm cinsinden verilmiştir. K, Ca, Mg Tayini İçin; Okumalar 100 kat seyreltilmiş süzükten AAS(Atomik Absorbsiyon Spektrometre) 'de ppm olarak yapılır. Sonuçlar yüzde cinsinden verilmiştir.

Azot Tayini İçin; Kurutulup öğütülmüş olan bitki örneğinden 0,2 g numune tartılarak Kjeldahl tüplerine aktarılır. Üzerine derişik 0,1 N sülfürik asit + Kjeldahl tablet konularak titrasyon işlemine tabi tutulur, ağzı kapatılarak ısıtma ünitesinde yakılır (Kjeldahl 1883). Yakma işlemi tamamlandıktan sonra tüpler soğumaya bırakılır. Kjeldahl cihazında destilasyon yapılır. Ardından sülfürik asit ile harcanan miktar belirlenir.

Kök Örneklerinin Alınması: Uygulamalardaki tekerrürü temsilen beşer fidanın kökleri 65°C de 48 saat sabit ağırlığa kadar kurutulduktan sonra öğütülerek paçal yapılmış ve bu paçaldan alınan örnek üzerinde analizler yapılmıştır.

Makro ve Mikro Besin Element Analizleri: Kök ve Yaprak dokularındaki makro ve mikro elementlerden N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B' un

konsantrasyonları hizmet alımı olarak akredite SÖZ TARIM laboratuvarında analiz yaptırılmıştır.

Su Analizleri: Sulama suyunun K, Na, Ca, Mg, Cl, pH, EC, SAR, RSC, SO₄, HCO₃ ve CO₃ değerleri için analizler hizmet alımı olarak akredite LABEN laboratuvarında iki ayrı zamanda yaptırılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan suyun fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

p	EC	K	Ca ²	Mg	N	CO
H (24 ⁰ C)	(24 ⁰ C)	+me/L	+ me/L	²⁺ me/L	a ⁺ me/L	³⁻² me/L
	ms/cm					
7.	71	0	5.0	1.2	1.	--
2	7C ₂	.04	6	2	03	
HC	C	S	Sodyum	Kalıcı	Potan	
O ₃ ⁻ me/L	l ⁻ me/L	O ₄ ²⁻ me/L	Adsorpsiyon	Sodyum	siyel	
			Oranı	Karbonat	Tuzluluk	PS
			(me/L) ^{1/2}	RSC me/L	me/L	
5.1	1	0.	0.581 S₁	--		1.83
9	.5	66				

Tuzluluk durumuna göre değerlendirildiğinde (EC değerine göre) 2. Sınıf (C2) orta düzey tuz içermektedir. Killi,kumlu ve tınlı topraklar için de potansiyel tuzluluk durumuna göre 1 sınıf sulama suyu kategorisine girmektedir.

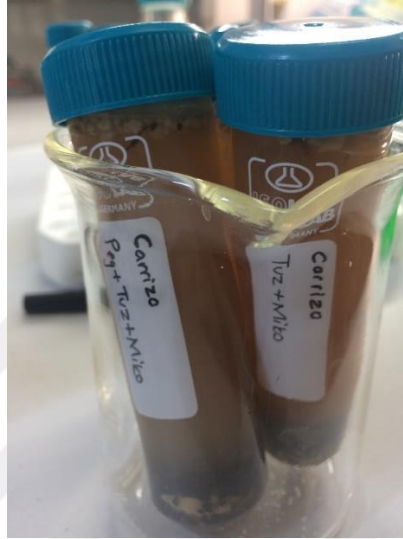
EC değerine göre tuzluluk durumu değerlendirildiğinde 2. Sınıfında (C2) bulunan su, orta düzeyde tuz içermektedir. Potansiyel Tuzluluk durumuna göre toprak türleri için ise (killi, kumlu ve tınlı topraklar için) 1.sınıf bir sulama suyu olmaktadır. Sodyum Adsorpsiyon Oranı (SAR) ve Kalıcı Sodyum Karbonat (RSC) bakımından incelendiğinde, 1.Sınıf (S1) grubunda yer almaktadır. Klor (Cl) içeriği bakımından da 1. Sınıf sulama suyu kategorisinde yer almıştır. Sülfat (SO₄) içeriği için de 1. Sınıf bir sulama suyunu oluşturmaktadır.

Bu değerler turunçgiller için herhangi bir sorun oluşturmamaktadır. Sulama suyunda ve toprak örneklerinde alınan değerler turunçgiller için %100 verim alınan limitler içerisinde yer almaktadır (Tozlu ve Kersting 2001).

3.2.9. Kök ve rhizosferde bulunan mikroorganizmalar

Kök bölgesinde mikoriza spor yoğunluklarının belirlenmesi (adet): Büyüme periyodu sonunda 10 g harç karışımı örnekleri plastik torba içerisinde buzdolabında (+4 °C) muhafaza edilmiştir. Toprak süspansiyonu toprak içerisindeki kaba materyallerin geçmesini engellemek amacıyla farklı gözenek boyutlu eleklerden en altında en küçük

boyutta elek olacak şekilde yerleştirilerek elekler içinden geçirilmiş ve çözelti berraklaşınca kadar toprak materyali su ile yıkanmıştır. En küçük boyuta sahip en alt kısımda bulunan elek üzerinde tutulan sporlar bir pipet yardımıyla 100 ml'lik santrüfuj tüplerine aktarılmış ve 2000 devir/dk'da birkaç dakika santrüfuj edilmiştir. Buradan alınan örnekler petri kaplarına aktararak 10 ve 40 büyütme ışık mikroskobu altında görüş alanları sırasıyla 0.24 mm² ve 1.94 mm² olacak şekilde mikoriza sporları sayılmıştır. Elde edilen değerler cm² çevrilmiştir (Çağlar vd. 2004) (Şekil 3.7). 10g topraktaki spor yoğunlukları her bir tür için kaydedilmiştir.

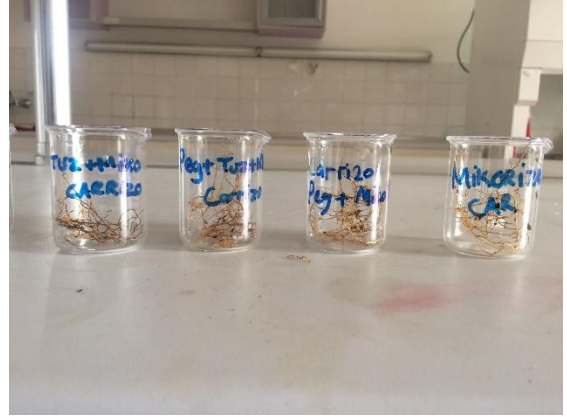


Şekil 3.7. Kök bölgesinden (rizosfer) hazırlanan ve mikoriza sayımı yapılacak olan solüsyonlar

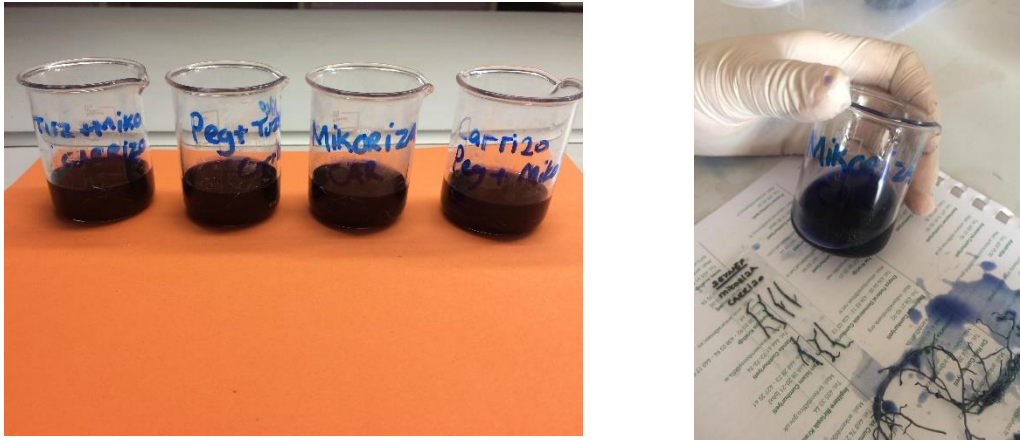
Mikorizal Kök Kolonizasyonunun Belirlenmesi (%): Temizleme ve boyama işlemi Koske ve Gemma (1989)'ya göre yapıldı. Bu yöntemle göre; Mikorizal enfeksiyonunun yoğun olduğu tahmin edilen kılcal kök bölgelerinden yaklaşık 1 cm uzunlukta olacak şekilde kök parçaları alınarak, 50 ml'lik beherlere konuldu. Köklerin üzerini kaplayacak kadar (%10) KOH ve yine köklerin üzerini kaplayacak şekilde (%10) HCl konulup 30 dakika bu şekilde bekletildi. Daha sonra beherlerdeki HCl boşaltıldı. (Şekil 3.8). Köklerin iyi temizlenebilmesi için %10 luk KOH içerisinde 100 °C ye kadar kökler ısıtılarak bekletilmiştir. Daha sonra kökleri boyamak için beherlere; 40 ml laktik asit, 40 ml saf su, 80 ml gliserin ve 0.08g glycerol trypan blue karışımı ile elde edilen boyama çözeltisi köklerin üzerini kaplayacak şekilde konulmuştur. Kökler bu şekilde 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra ise 50 °C'deki etüv içerisinde ise 5 dakika bekleyen kökler saf su ile yıkanıp %80'lik laktik asitte 1 saat bekletilerek boyama işlemi tamamlanmıştır. Beherlerdeki kökler laktik asit ile birlikte bir petri kutusuna alınarak, pens yardımıyla hassas ve dökülgen olan kökçükler lamaların üzerine taşınmıştır (Şekil 3.9). Her lam için yaklaşık 8 kökçük yan yana yerleştirilerek üzeri lamel ile kapatılıp mikroskop için incelemeye hazır hale getirilmiştir. 4x10 - 10x10 - 40x10 büyütmeyle incelenen kökler, iç-dış hifler, vesikül ve arbuskül yapılarından en az biri görülen kök mikoriza ile bulaşık olarak adlandırılmıştır (Giovannetti 1980; Ortaş 1998).

% kök enfeksiyon miktarı aşağıdaki formül ile belirlenmiştir.

$$\% \text{ Kök enfeksiyonu} = 100 \times (\text{Toplam mikorizalı kök} / \text{Toplam kök sayısı})$$

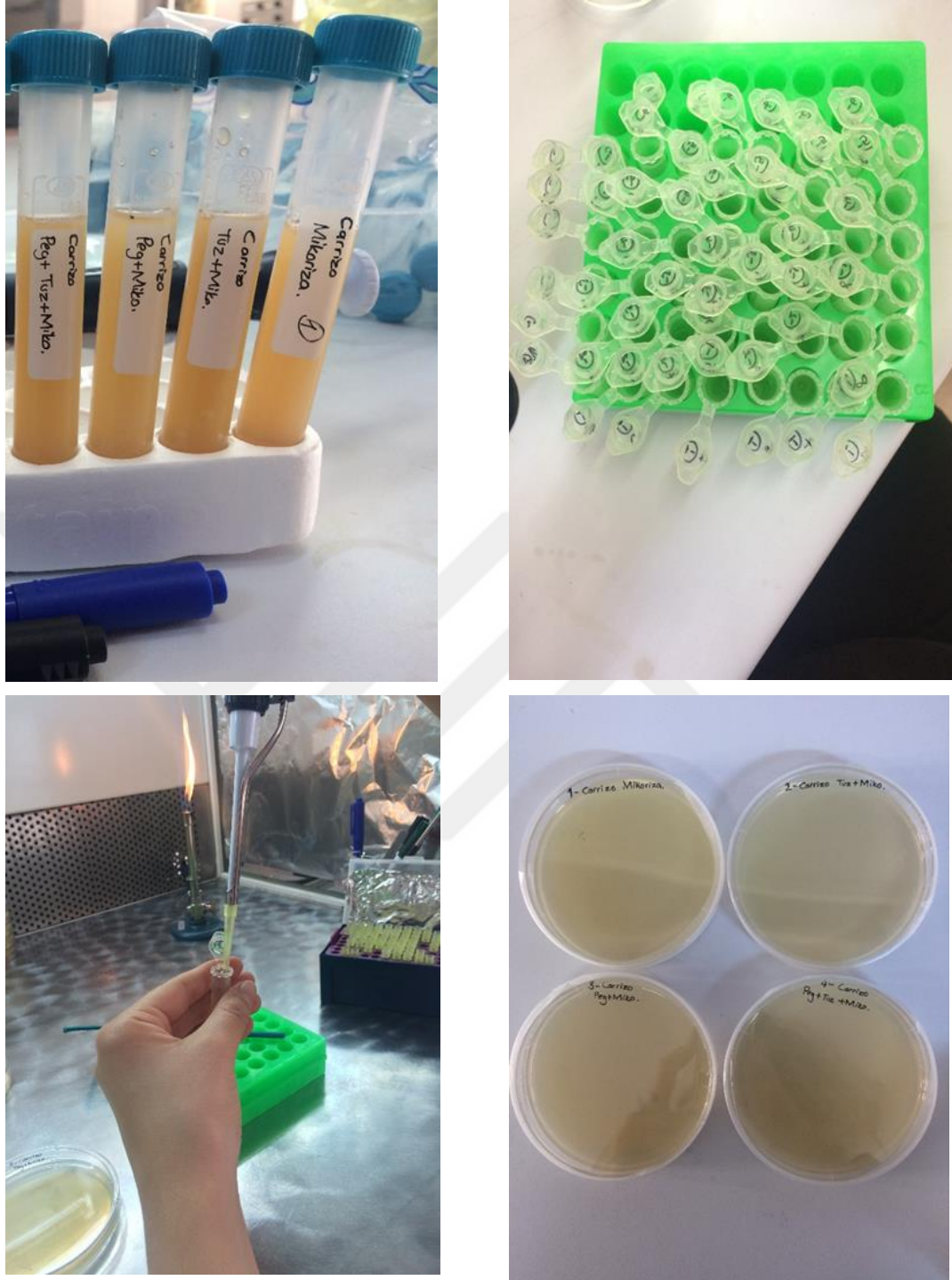


Şekil 3.8. İnce köklerde Mikoriza uygulamalarında kök bünyesinde saptanacak enfeksiyonunun belirlenmesi için hazırlık aşamalarından görünüm



Şekil 3.9. Boyama işlemi yapılan köklerin lamaların üzerine taşınması

Topraktaki Toplam Mikoriza Enfeksiyonunun Belirlenmesi (adet): Denemede toprakta bulunan mikorizal enfeksiyonu belirlemek için uygulama topraklarından bitkinin kök bölgesinden (5-10 cm derinlikten), 10 g toprak örneği alınarak yapılmıştır. Her bir uygulamadan örnekler alınmış, her bir örnek elenmiş 10 gr toprak örneği tartılmıştır. Üzerine steril edilmiş 90 ml su ilave edilmiştir. Çözelti yarım saat boyunca magnetik bir karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Sonra ki aşamada ise seyreltme serileri hazırlayabilmek için 4 adet plastik tüp içerisinde 9 ml'lik distile su koyulmuş, her bir uygulama için alınan toprak örneklerinden 1 ml sıvı alınarak hazırlanan tüplere konulmuştur. Örnekler arası farklı uygulamalar olduğu için her işlemten sonra uçlar değiştirilmek suretiyle 10^{-6} konsantrasyona kadar seyreltme serileri yapılmıştır. Bu seyreltme serileri sonucunda 10^{-6} kez seyreltilmiş toprak örneği elde edilmiştir. Enfeksiyonun ve diğer bakteri kültürlerinin gelişip çoğalabilmesi için Nutrient Agar (NA) besi ortamı hazırlanmıştır. Daha sonra 10^{-6} kez seyreltilmiş tüpten başlanarak geriye doğru, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} kez seyreltilmiş tüplerden mikropipet ile 100'er µl sıvı alınmıştır. Bu örnekler için hazırlanmış olan ikişer petrilik NA besi ortamına ekimleri yapılarak, besi ortamına yayılmaları için steril çubuk yardımıyla karıştırılmıştır. Ekim işlemi bittikten sonra tüm petriler 4 günlüğüne inkubasyona 25 °C'lik bir ortama bırakılmıştır. İnkubasyon süresi sonunda tüm petrilerdeki mikorizal enfeksiyon sayımı yapabilmek ve bakteri oluşumunu belirlemek amaçlanmıştır. Her bir örnek için (10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6}) ekim yapılan petrinin ortalaması alınmıştır. (Saygılı vd. 2006) (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Topraktaki toplam bakteri sayısının belirlenme aşamaları

3.2.10. Antioksidan enzim aktivitesinin belirlenmesi

Antioksidan enzim analizleri ve protein miktarının belirlenmesinde her bir enzim analizi için referans alınan protokoller takip edilerek belirtilen oranlarda kimyasallar hassas terazi ile tartılarak hazırlanmıştır (Şekil 3.11.). Hazırlanan kimyasallar distile su ile karıştırılarak ekstraksiyon aşaması tamamlanmıştır (Şekil 3.12.).

Total protein ve antioksidant enzim aktivite analizleri için, her deneme serisinden, alınan 3'er tekrarlı yaş yaprak ve kök örneklerinin her birisinden, protokollere uygun gramlarda yaş örnek tartılarak, sıvı azot ile parçalanmıştır (Şekil 3.13.). Her bir enzim analizi için parçalanmış örnekler protokollerde belirtilen sürelerde santfirüj aşamaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.14.).

Santfirüj işlemi biten örnekler miracloth bezi ile süzülüp süpernatant kısımları analiz için ayrılmış, falcon tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.15). Etiketlenmiş ve aktarılmış olan örnekler okumaları yapılmak üzere spektrofotometre için hazırlanmıştır (Şekil 3.16.). Enzim ekstraktlarının hazırlanmasında tüm işlemler + 4°C'de çalışılmıştır. Ekstraksiyon aşamalarında yapılan hazırlıklar aynı olup, kimyasallar ve santfirüj süreleri değişmektedir. Her bir enzim için hazırlık aşamaları aynı metodoloji de ancak farklı protokoller kapsamında çalışılmıştır.



Şekil 3.11. Ekstraksiyon için hazırlanan ve tartılan kimyasallardan örnek bir aşama



Şekil 3.12. Ekstraksiyon karıştırma aşaması



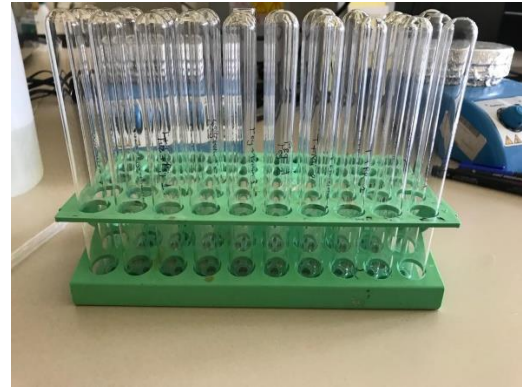
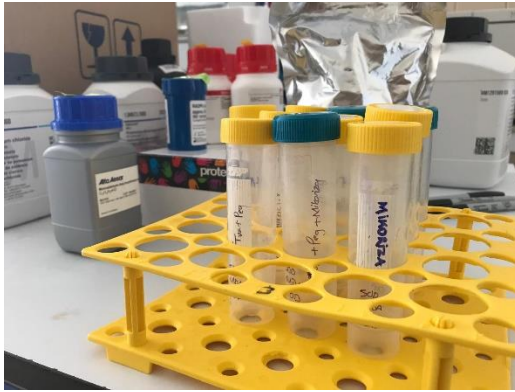
Şekil 3.13. Yaş yaprak ve kök örneklerinin sıvı azot ile parçalanması



Şekil 3.14. Parçalanmış örneklerin yapılan enzim analizine uygun ekstraksiyonları ile tüplere alınarak sentrifüj edilmesi

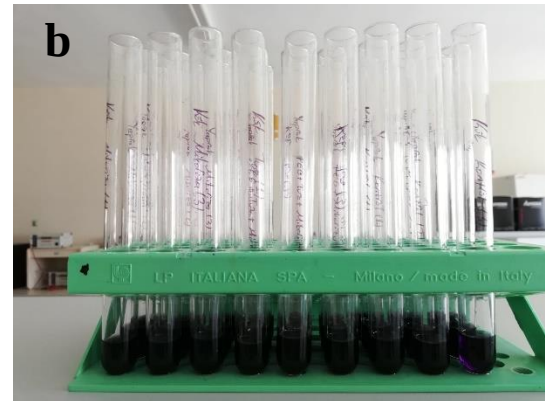


Şekil 3.15. Sentrifüj edilen örneklerin miracloth bezi ile süzülüp süpernatant kısmının analiz için ayrılması



Şekil 3.16. Süpernatant kısımları ayrılan örneklerin falcon tüplerine alınması ve enzim aktivitesinin belirlenmesi için örneklerin hazırlanması

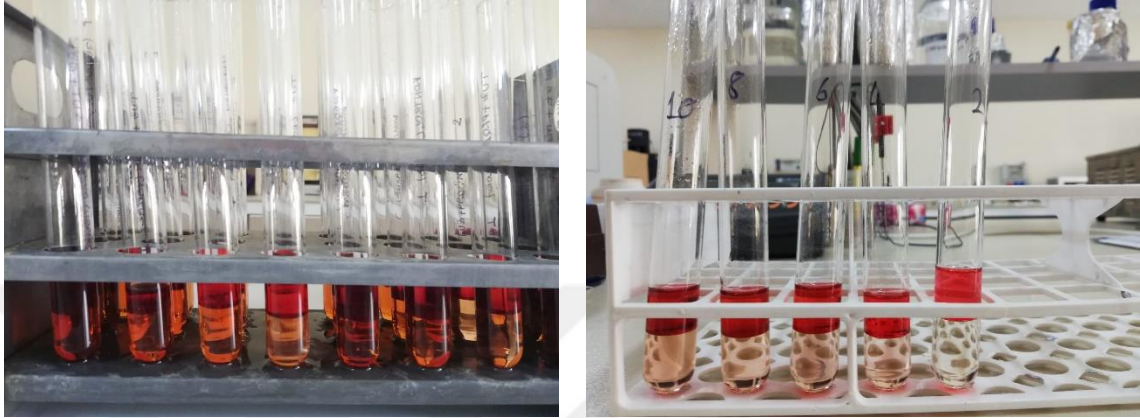
Total protein miktarı: Total protein miktar analizleri Bradford (1976)'a göre BSA (Bovine Serum Albümin) standartları kullanılarak yapılmıştır. Uygun hacimde alınan ve gerekli oranda seyreltilen süpernatantlara 1 ml reaksiyon karışımı (coomassie blue protein boyası içeren) eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilen örneklerden 595 nm'de absorbans alınmıştır. BSA standartları (0.02-0.2 mg/ml) ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak, çözünebilen total protein miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.17.).



Şekil 3.17. Total protein miktarının belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması
Protein standartları (a), Protein analizi (b)

Prolin Analizi: Bitki kök ve yeşil aksamalarının prolin miktarları Bates vd. (1973)'lerinin saptadıkları yöntemle göre belirlenmiştir. Taze bitki materyali tartılacak ve % 3'lük 5 mL sülfosalisilik asit kullanılarak havanda homojenize edilmiştir. Homojenizat 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantın 2 ml'si 2 mL asit-ninhidrin ve 2 mL glasiyel asetik asitle test tüpünde karıştırılmıştır. Bu karışım 100

°C’de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler alınarak buz içerisine sokularak ve reaksiyon sonlandırılmıştır. Reaksiyon karışımı 4 mL toluen ile ekstrakte edilecek ve 15-20 saniye tüp karışana dek çalkalanmıştır. Toluen içeren renkli sıvı oda sıcaklığında bekletilmiş ve bekleme sonunda reaksiyon karışımı 2 faza ayrılmış, üst faz kısmından 1 ml alınıp 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Standart olarak prolin kullanılmıştır (Şekil 3.18.).



Şekil 3.18. Total prolin miktarının belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması

Malondialdehid (MDA) İçeriğinin Belirlenmesi: MDA miktarı Lutts vd. (2004)’nın yöntemi esas alınarak belirlenmiştir. Bu yöntemde göre -80 °C de donmuş olan örneklerden 200 mg yaş yaprak örneği alınmış, bunun üzerine 5 ml % 0.1 ‘lik Trichloro Aceticacid (TCA) ilave edilerek ve bu karışım 12500 rpm devir hızında 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. 5 ml’lik ekstraktan 3 ml süpernatant alınarak, üzerine % 20 Thiobarbituric Acid (TBA) bulunan % 0,1’lik 3 ml TCA ilave edilmiştir. Karışım 95 °C’ deki sıcak su banyosunda 30 dakika bekletilmiş olup, 532 ve 600 nm’de absorbans değerleri spektrofotometrede okunmuştur. Kör olarak, içinde % 20 TBA bulunan % 0.1’lik TCA kullanılmıştır. Yaprak dokularındaki MDA miktarı, µmol/g T.A. olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.19.).

$$\text{MDA } (\mu\text{molg}^{-1} \text{FW}) = [(A_{532} - A_{600}) * 1000 * V] / (\epsilon * \text{FW} * 10^{-3})$$

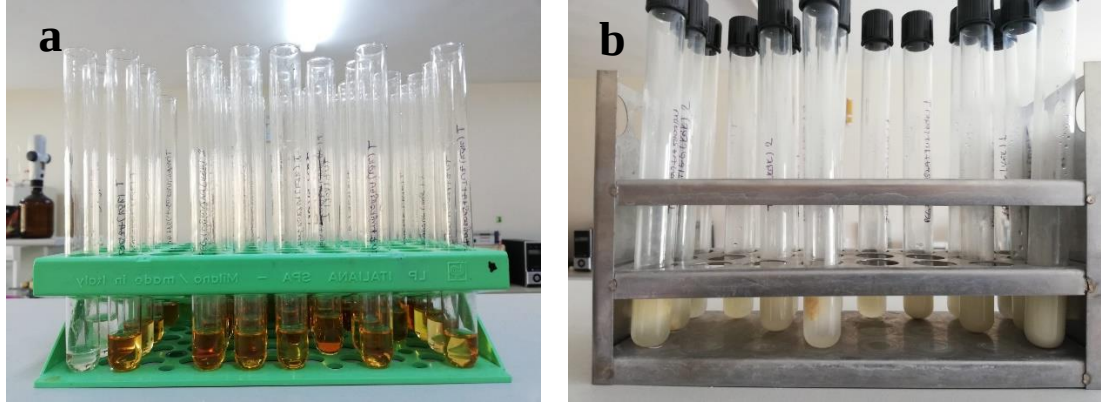
FW: Yaş ağırlık

A532: 532 nm’de absorbans değeri

A600: 600 nm’ de absorbans değeri

ε: MDA konsantrasyonu ekstinsiyon katsayısı

V: Ekstrakt çözeltisinin hacmi



Şekil 3.19. MDA (Lipid peroksidasyonu) içeriğinin belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması (a) yaprak örnekleri (b) kök örnekleri

Lipoksigenaz (LOX) aktivitesi: Çalışma kapsamında örneklerin lipoksigenaz aktivitesinin tayininde Anthon ve Barrett (2003)'te verilen spektrofotometrik yöntem bazı modifikasyonlar ile düzenlenerek kullanılmıştır. Lipoksigenaz aktivitesinin belirlenmesinde 0,1 M fosfat tamponu (pH 6,5) içerisine enzimi serbest duruma getirebilmek için % 0,2 triton X-100 eklenerek homojenizasyon tamponu hazırlanmıştır. Aktivite tayininde “linoleik asit” substrat olarak kullanılmış ve 25 ml linoleik asit substratı hazırlamak için 5 ml distile su içerisine 280 mg tween 20 ile 140 mg linoleik asit eklenmiş ve çözeltiyi berraklaştırmak amacıyla 0,6 ml, 1 N NaOH ilave edilmiştir (Şekil 3.20.).



Şekil 3.20. LOX miktarının belirlenmesi için örneklerin son hazırlık aşaması

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi: 290 nm’de ($E=2,8 \text{ mM cm}^{-1}$) askorbatın oksidasyon hızı ölçülerek saptanmıştır. Bu yöntemle göre, son hacmi 1 ml olan reaksiyon ortamına 0.1 mM EDTA içeren 50 mM’lık fosfat tamponu (pH 7.6), 0.1 ml 10 mM EDTA içeren 12 mM H_2O_2 , 0.1 ml 0.25 mM L(+) askorbik asit ve enzim akstraktı ilave edilerek askorbat oksidasyonu 20 saniye ara ile 1 dakika süredeki askorbat oksidasyonu spektrofotometrede okunmuş ve AP aktivitesi $\mu\text{mol/min/g T.A.}$ olarak hesaplanmıştır Nakano vd. (1981) (Şekil 3.21.).



Şekil 3.21. Örneklerin APX miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması

Glutasyon redüktaz (GR) enzim Aktivitesi: 340 nm’de ($E=6,2 \text{ mM cm}^{-1}$) NADPH’nın oksidasyonu esas alınarak ölçülmüştür. Bu yöntemle göre, son hacim 1 ml olan reaksiyon ortamına 0.1 mM EDTA içeren 50 mM’lık fosfat tamponu (pH 7.6), 0.1 ml 0.5 mM okside glutasyon, 0.1 ml 0.12 mM NADPH ve enzim ekstraktı ilave edilerek NADPH oksidasyonu 340 nm’de 20 saniye ara ile 1 dakika süredeki askorbat oksidasyonu spektrofotometrede okunarak ve GR aktivitesi $\mu\text{mol/min/g T.A.}$ olarak hesaplanmıştır (Foyer ve Halliwell 1976) (Şekil 3.22.).



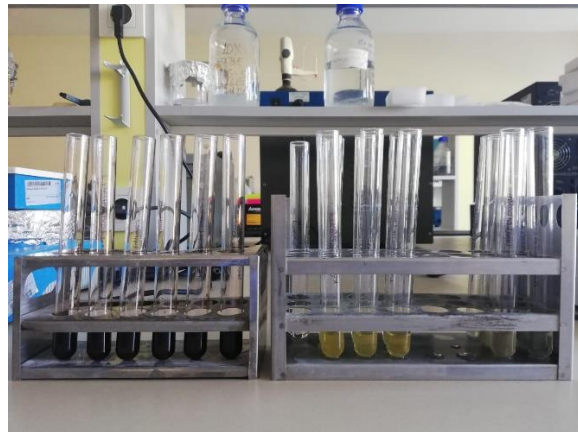
Şekil 3.22. Örneklerin GR miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi: Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi, Constantine ve Stanley (1977)'nin belirttiği metoda göre yapılmıştır. 13 mM methiyonin, 75 μ M NBT, 10 μ M EDTA ve 2 μ M riboflavin içeren 50 mM sodyum fosfat buffer (Ph:7,8)'dan 2.9 ml alınıp 0.1 ml örnek ile 3 ml'ye tamamlanıp 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri spektrofotometrede okutulmuştur. Daha sonra örnekler 10 dakika ışıktaki bekletildikten sonra aynı dalga boyunda tekrardan okuma yapılmıştır. Sonuçlar, NBT'nin SOD miktarını %50 oranında azaltması sonucunda enzimin miktarı olarak tanımlanıp U/mg protein olarak ifade edilmiştir (Şekil 3.23.).



Şekil 3.23. Örneklerin SOD miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması

Peroksidaz (POD) aktivitesi: Peroksidaz (POD) enziminin aktivitesi, Edreva'ya (1999) göre yapılmıştır. Seyreltilecek örnekler, %50 w/v jelatin ve 0.15 M Na-fosfatsitrat tamponu içeren, DAB (diaminodenzidin-tetrahidroklorid dihidrat) çözeltisi ve %0.6 H₂O₂ eklenerek yapılmıştır (Şekil 3.24.).



Şekil 3.24. Örneklerin POD miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması soldaki tüpler H₂O₂ eklenmiş hali sağdaki tüpler H₂O₂ eklenmemiş örnekler

Katalaz (CAT) aktivitesi: Katalaz (CAT) enziminin aktivite analizi, Bergmeyer'e (1970) göre yapılmıştır. 240 nm'de H_2O_2 'in tüketilmesi 3 dk süre ile izlenmiş, reaksiyon karışımı 0.05 M Na-fosfat tamponu (pH 7.0), %3 H_2O_2 ve 1 mM EDTA içerecek olup dakikada tüketilen $\mu\text{mol } H_2O_2$ miktarı saptanmıştır (Şekil 3.25.).



Şekil 3.25. Örneklerin CAT miktarının belirlenmesi için son hazırlık aşaması

3.2.10. Verilerin değerlendirilmesi: Çalışma sonucunda elde edilen veriler “Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Desenine” göre gerçekleştirilmiş olup varyans analizi ile değerlendirilerek, SPSS 24.0 istatistik paket programında Tek Yönlü ANOVA kullanılarak farklılık durumları incelenmiştir ve ortalamalar arasında önemli farklılıklar ($P < .05$) önem düzeyine göre belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Sera koşullarında Carrizo Sitranjı (*Citrus sinensis* Osb. X *Poncirus trifoliata* Raf.). çöğürlerine tuz ve kuraklık stresleri uygulanmıştır. Bu streslere ek olarak yapılan osmoregülatör olarak prolin ve ayrıca mikorizal enfeksiyon uygulamaları ile bitkilerin stres faktörlerine karşı ortaya koydukları mekanizmalar incelenmiştir. Farklı parametreler üzerinden yapılan analizlerde bitki büyümesi ve gelişmesi ölçümleri; çap ölçümleri (mm), boy ölçümleri (cm), toprak üstü yaş ağırlık oranı (%), yaş kök ağırlık oranı (%), yaprak kuru ağırlık oranı (%), kök kuru ağırlık oranı (%) incelenmiştir. Fizyolojik yaprak parametreleri; klorofil indeksi ve klorofil floresansı ölçümlerini kapsamaktadır. Dokular üzerine bitki besin elementi içeriği ve köklerdeki oranları araştırma sonunda incelenen parametrelerden bir diğeridir. Araştırma süresinin sonunda mikorizal enfeksiyon oranının bitki dokularında ve yetiştirilen ortamdaki oranlarının belirlenmesi ve antioksidan sistemde bitki mekanizmasında stres koşullarında meydana gelen aktivasyonlar incelen diğer parametrelerdir.

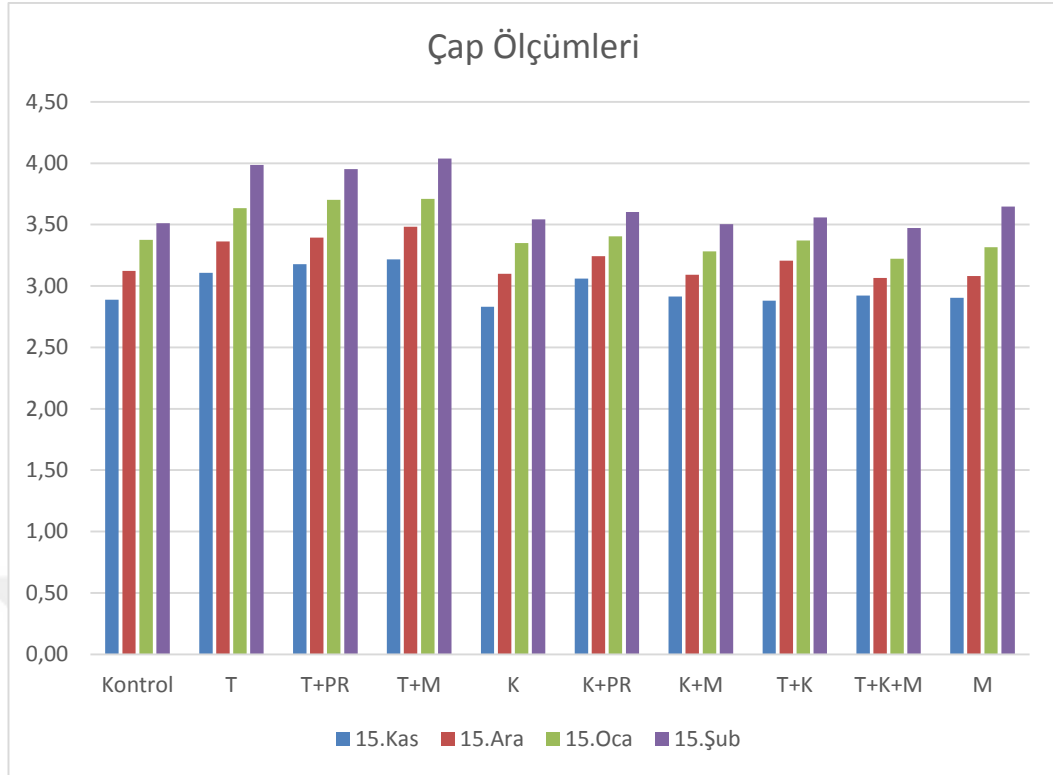
Sera koşullarında yürütülen araştırma da bitki ölçümleri 15 Kasım – 15 Şubat tarihleri arasında 30 günde bir olmak üzere tamamlanmıştır. Araştırmanın sonuna doğru ölçüm sürecinde stres faktörlerinin bitkiye olan etkileri göz önüne alınarak bazı bitkilerde ölçüm alınamamıştır. Bu nedenle istatistik analiz sonuçları için eksik olan veriler göz önüne alınarak çoklu karşılaştırmalar yapılmıştır. İncelenen tüm parametreler her bir faktörün istatistiksel analizi yapılan bulgular aşağıda ayrı başlıklar halinde sunulmuştur.

4.1. Bitki Büyüme ve Gelişmesi

4.1.1. Çap ölçümleri

Bitki büyüme ve gelişmesi üzerine incelenen parametrelerin sonuçları (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1) de sırasıyla verilmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırma testinde uygulamaların çap ölçüm sonuçlarına bakıldığında bitkiler arasında bu parametre üzerinde istatistiki olarak önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.05$). Uygulamalardan kaynaklanan bitkiler arasındaki fark şu şekilde açıklanabilir:

İncelenen faktörler üzerine farklılıklar dört gruba ayrılmıştır. Buna göre, çap ölçümü bakımından 3,61 mm ile Tuz+Mikoriza (T+M) uygulaması en iyi sonucu verirken, Tuz+Kuraklık+Mikoriza (T+K+M) uygulamasında ise 3,16 mm ile en düşük çap ölçüm sonucuna ulaşılmıştır. Çap ölçümleri içerisinde incelenen uygulamalar da diğer veriler ise istatistiki olarak ara grubu oluşturmaktadır. Bu sonuçlar incelendiğinde Carrizo anacı üzerine T+M uygulamasının Tuz ve Mikorizal yaşam döngüsünün çap gelişimine en büyük etkiyi sağladığı analiz edilmiştir.



Şekil 4.1. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında çap ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler

Çizelge 4.1. Uygulamaların bitki büyüme ve gelişim parametreleri üzerine etkisi

Uygulamalar	Çap (mm)	Boy (cm)	Kök yaş ağırlığı (g)	Yaprak yaş ağırlığı (g)	Gövde yaş ağırlığı (g)	Yaprak kuru ağırlığı (g)	Kök kuru ağırlığı (g)
Kontrol	3,22 ± 0,32bcd	17,5 ± 0,29cde	4,00 ± 0,23abc	1,11 ± 0,02b	0,96 ± 0,05bcd	3,45 ± 0,005b	2,24 ± 0,005e
T	3,52 ± 0,26abc	20,0 ± 0,32abc	4,35 ± 0,20ab	1,61 ± 0,06a	1,13 ± 0,03abc	2,92 ± 0,00f	1,74 ± 0,005h
T+PR	3,55 ± 0,24ab	21,2 ± 0,38ab	4,55 ± 0,30ab	1,82 ± 0,07a	1,18 ± 0,05ab	3,11 ± 0,005e	1,74 ± 0,00h
T+M	3,61 ± 0,31a	22,0 ± 0,67a	4,36 ± 0,27ab	1,82 ± 0,06a	1,29 ± 0,06a	3,15 ± 0,005d	2,89 ± 0,005d
K	3,20 ± 0,35bcd	18,8 ± 0,89bcd	3,68 ± 0,36bc	0,81 ± 0,07bcd	0,88 ± 0,08cd	2,52 ± 0,005h	1,78 ± 0,005g
K+PR	3,32 ± 0,33abcd	17,5 ± 0,76cde	3,93 ± 0,24abc	1,00 ± 0,08bc	0,94 ± 0,06bcd	3,2 ± 0,005c	1,95 ± 0,005f
K+M	3,19 ± 0,30cd	16,9 ± 0,68de	5,01 ± 0,21a	0,89 ± 0,04bc	0,78 ± 0,04d	3,58 ± 0,005a	3,58 ± 0,005a
T+K	3,25 ± 0,28bcd	18,3 ± 0,79cde	3,67 ± 0,23bc	0,53 ± 0,11d	0,95 ± 0,07bcd	2,52 ± 0,005h	1,6 ± 0,005i
T+K+M	3,16 ± 0,30d	15,5 ± 0,49e	3,71 ± 0,23bc	0,73 ± 0,04cd	0,76 ± 0,04d	2,52 ± 0,005h	3,41 ± 0,005b
M	3,23 ± 0,24bcd	17,0 ± 0,34de	2,9 ± 0,13c	0,79 ± 0,05bcd	0,80 ± 0,05d	2,62 ± 0,005g	3,36 ± 0,005c

Fernández-Conde ve ark., (1998) yapmış oldukları araştırmada pamuk bitkisine farklı PEG (0, 30 ve 60 g/L) konsantrasyonlarını artan PEG dozu ile sağladıkları kuraklık stresinin bitki gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Bitkilerin yaş ağırlık oranı kontrol bitkilerine göre % 27- 42 oranında kayıplar içerirken, bitkilerin kuru ağırlık içeriğinde ise % 11-20 oranında bir azalma saptanmıştır. İlaveten, stoma geçirgenliğinde, nispi büyüme oranı ve fotosentez verim miktarında da kontrol bitkilerine göre kayıpların olduğu saptanmıştır.

Al-Karaki (2000) tarafından yapılan araştırmada mikorizanın tuz stresine karşı bitkiyi koruduğu görülmüştür. Tuz stresi uygulanan domates bitkisine *Glomus mossese* enfekte ederek mikorizanın domates bitkisini tuz stresine karşı koruduğunu, bitki gelişimi ve besin maddesi alımında da artış olduğunu belirlemiştir.

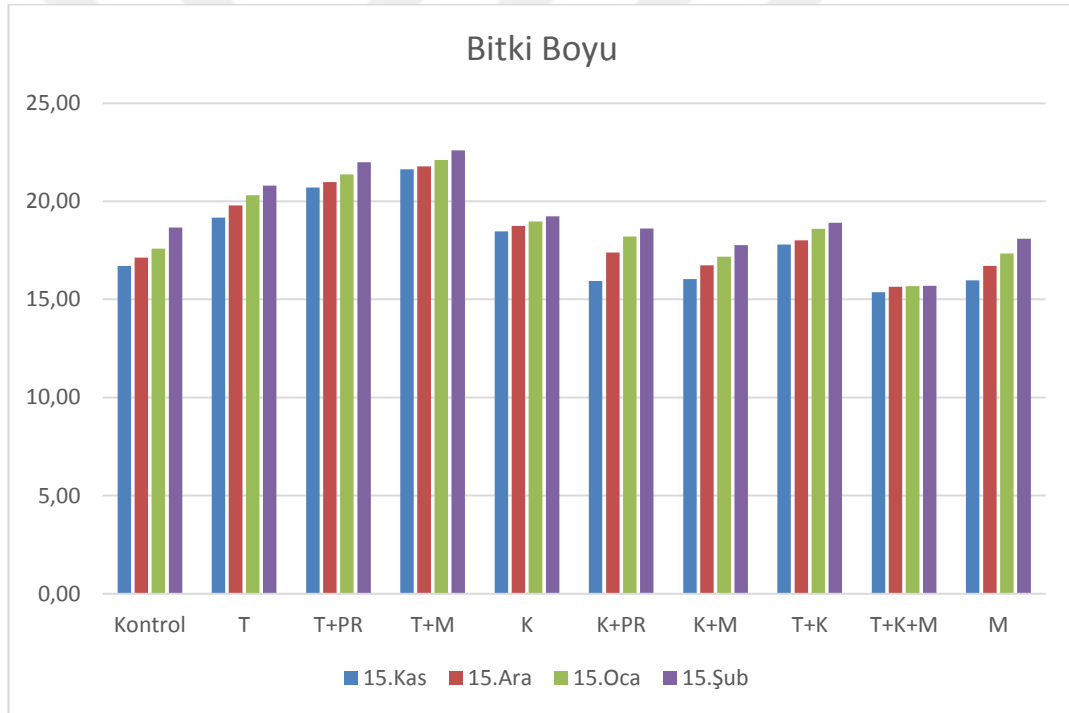
Çığışar ve ark. (2000) tarafından yapılan araştırmada serada yetiştiriciliği yapılan hıyar bittkileri VAM ile enfekte edilmiş, besin maddeleri alımı ve bitki büyümesi üzerine etkileri incelenmiştir. Uygulanan mikorizanın bitki gelişimi üzerine yapmış olduğu etkiyi incelemek amacıyla ayda iki kez aralıklarla gövde çapı, bitki boyu ve boğum sayısı ölçülmüştür. Bununla birlikte ayda bir kez sökülen bitkilerde biyomas ölçümleri yapılarak bitkiler tarafından alınan P, Mn ve Zn miktarları ile mikorizal enfeksiyon oranları belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, yetiştirme ortamına VA mikoriza enfeksiyonunun bitki büyümesini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır. Yapılan biyomas ölçümleri sonucunda ise mikoriza ile inoküle edilen bitkilerin kök yaş ve kuru ağırlıkları, yaprak, gövde, yaprak alanı değerlerinin mikoriza bulunmayan bitkilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Mikorizal enfeksiyonun bitki büyüme ve gelişimi üzerine etkisi yüksek P, Zn ve Mn alımına bağlı olduğu belirtilmiştir.

Türkmen ve ark. (2005) Tuz stresi uygulanan bitkilerde yetiştirme ortamında humik asit ve mikoriza mantar uygulamalarının biberde fide gelişimi ve besin elementi alımı üzerine olumlu etki yaptığı gözlenmiştir

4.1.2. Bitki boy ölçümleri

Bitki büyüme ve gelişmesi üzerine incelenen bir diğer parametre uygulamalar arasında meydana gelen bitki boyu farklılıklarını oluşturmaktadır. Yapılan çoklu karşılaştırma testinde uygulamalarının bitki boyu üzerine istatistiki olarak önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0.05$) (Çizelge 4.1). Burada uygulamalar arasındaki farklılıklar çap ölçümlerinden farklı olarak beş grup altında sıralanmıştır. Uygulamalardan kaynaklanan bitkiler arasındaki fark şu şekilde açıklanabilir:

Bitki boyu baz alınarak yapılan analizler sonucunda çap ölçüm sonuçlarına benzer olarak en yüksek değer 22,0 cm ile T+M uygulamasını gösterirken, en düşük bitki boyunun ölçüldüğü uygulama sonucu 15,5 cm ile T+K+M olmuştur. Diğer uygulamalar arasında 21,2 cm ile T+PR uygulaması T+M uygulamasına en yakın yüksek değer olarak gösterilmektedir. Yapılan diğer uygulamalar ise istatistik analizde ara grupta yer almaktadır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında boy ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler

4.1.3. Toprak üstü ve altı organların kuru ve yaş ağırlık ölçümleri

Uygulamalar arasında toprak üstü ve altı organların yaş ve kuru ağırlık ölçüm sonuçları bakıldığında incelenen bu parametreler arasında da önemli farklılıkların olduğu saptanmıştır. ($p<0.05$) (Çizelge 4.1). Toprak üstü yaş ağırlık uygulamaları iki grupta incelenmiştir (Yaprak yaş ağırlığı - Gövde yaş ağırlığı). Yaprak yaş ağırlığını temsilen uygulamalar dört grupta sıralanmıştır. Bu gruplar içerisinde yaprak yaş ağırlığı incelendiğinde en yüksek değerler 1,82 g ile T+M ve T+PR olurken yine aynı grubun en yüksek diğer temsilcisi 1,61 g ile T uygulamasının takip ettiği belirlenmiştir. Yaprak yaş ağırlıkları bakımından en düşük değer 0,53 g ile T+K uygulamasında ölçülmüştür.

Gövde yaş ağırlık oranında ise yapılan analiz sonucunda en yüksek değer 1,29 g ile tek başına T+M uygulamasında elde edilirken, 0,76 g ile T+K+M, 0,78 g K+M, 0,80 g ile M uygulamaları en düşük analiz oranını göstermiştir. Yaprak yaş ağırlığı ve gövde yaş ağırlığını temsilen oluşturulan Toprak üstü organların ağırlıkları ise belirtilen uygulamalar dışında kalan oranlar istatistiki bakımdan ara grupta yer almıştır.

Kök yaş ağırlığı değerlerini temsilen uygulamalar üç grupta incelenmiştir. Buna göre en yüksek değeri 5,01 g ile K+M uygulaması gösterirken, en düşük değerin 2,9 g ile M uygulamasının gösterdiği belirlenmiştir.

Toprak üstü kuru ağırlık üzerine ise sonuçlar sekiz grupta sıralanmıştır. Buna göre; Yaprak kuru ağırlığını temsilen uygulamalar incelendiğinde en yüksek değer 3,58 g ile K+M uygulaması olmuştur. Yaprak yaş ağırlıkları bakımından en düşük değerler ise 2,52 g ile K, T+K, T+K+M uygulamalarını temsil etmektedir.

Kök kuru ağırlık parametresi üzerine sonuçlar dokuz grup altında incelenmiştir. Uygulamalar arasında yapılan istatistik analizi sonucunda en yüksek değerin bulunduğu grup 3,58 g ile K+M uygulaması olurken, 1,6 g ile T+K uygulaması en düşük değeri göstermektedir (Çizelge 4.1).

Mikoriza haricindeki diğer uygulamaların bir fark oluşturmaması, Mikoriza muamelesinin kök kuru ağırlık ve yaprak kuru ağırlık değerleri üzerine diğer uygulamalara göre en yüksek değeri oluşturmaması yaptığı pozitif etkisini net olarak göstermektedir.



Şekil 4.3. Carrizo çöğürlerinde T+K+M ve T+K uygulamasının araştırma sonunda ki durumu



Şekil 4.4. Carrizo çöğürlerinde analiz öncesi sırasıyla (soldan sağa) T+M, T, T+PR, T+K uygulamalarının görünümü



Şekil 4.5. Carrizo çöğürlerinde analiz öncesi **K (a)** ve **K+M (b)** uygulamalarının görünümü

Jones ve ark. (1985)'e göre kuraklık stresinin meydana gelmesiyle birlikte buna paralel olarak bitki yaprak alanını azaltarak su kaybını engeller. Bu durum bitki de su içeriğinin korunarak uygun su potansiyelinin sağlanması amaçlanır. Böylece topraktan bitkiye su geçişi esnasında her bir bitki parçasının birim alanına düşen su kaybı azalır. Erken safhada dal ve yaprak büyümesinin engellenmesi, ayrıca yeni yaprak oluşumunun engellenmesi ve yaprak dökümü sonucu yaprak alanının azalmasına sebep olur. Kuraklık stresinde turuncgillerde yaprak alanındaki azalma en önemli dökülme nedenini oluşturmaktadır.

Antunes ve Cardoso (1991) mikoriza enfeksiyonun turuncgiller üzerine P, K etkinliğini ve kuru madde verimini pozitif oranda artırdığını belirlemişlerdir.

Matsubara ve ark. (1994) tarafından da rapor edildiğine göre, Japonya'da 17 sebze bitkisinde iki farklı mikoriza *G. etunicatum* ve *G. intraradices* ile yürütülen araştırmada mikorizanın bitkinin kök kuru ağırlık madde miktarını artırdığı ve kuru madde verimini artırırken mikorizaya bağımlılığının da arttığını belirlemişlerdir.

Kozłowski (1997)'e göre tuz stresi yaprak oluşumunun başlangıcını, yaprak ve sürgün gelişimini engellediği gibi bitki de boğum aralarının uzamasını yavaşlatır ve yaprak dökülmelerine neden olmaktadır. Bazı yabancı formlar ise anaç olarak kullanılmasının yanı sıra tuzluluğa farklı dayanım göstermektedir. Örneğin tuz stresinde, turuncgiller için en çok *Citrus jambhiri* ve *Poncirus trifoliata*'nın gelişimine zarar verdiği bildirilmiştir.

Smith ve Read (1997)'nin rapor ettiklerine göre turunçgiller de fidan yetiştiriciliğinde ya da dikimi esnasında mikorizal enfeksiyonun bitkiler için erken gelişme döneminde iyi bir kök gelişimi sağlayacağı bildirilmiştir.

Üstüner (2001) tarafından yapılan araştırma da mikoriza ile enfekte olan turunçgil bitkilerin de toprak üstü ve altı organlarının her ikisinin daha iyi geliştiğini belirtmiştir. Ayrıca *G. clarium* mikoriza ırkı ile turunçgil bitkilerinin köklerinde en yüksek miktarda enfekte olabilen bir tür olduğunu belirlemiştir.

Her bir bitki için homojen büyüklükte ki saksılar (16 cm derinliğinde 9x9 cm en x boy ebatındaki, 0,85 lt hacmine sahip hava budamaya uygun kare saksılar) yetiştirilen Carrizo çöğürleri büyüme ve gelişme ölçümleri üzerinden değerlendirildiğinde stres uygulamaları varlığında mikorizal enfeksiyonun büyüme parametreleri üzerine başarılı sonuç verdiği görülmektedir. Bu parametrelerden çap ölçümlerinde (3,61 mm) ile T+M uygulaması, boy (22,0 cm) ile T+M uygulaması, yaprak ve gövde yaş ağırlık oranlarına bakıldığında da sırasıyla (1,82 g) – (1,29 g) ile T+M uygulaması Tuz stresi ile birlikte mikoriza ile simbiyotik yaşam üzerine Carrizo çöğürlerinde başarılı sonuçlara ulaşılmıştır. Arbusküler mikorizal mantar ile inokülasyonunun tuzlu koşullarda yetişen bitkilerin büyümesini artırdığı yönünde çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Al-Karaki 2000; Feng ve ark, 2002; Buscot ve Varma, 2005; Al-Karaki 2006; Bolat 2006; Cho ve ark, 2006; Ghazi ve Al-Karaki 2006; Sharifi ve ark, 2007).

Al-Karaki ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada mikorizanın tuza dayanıklılığını belirlemek amacıyla iki domates çeşidi kullanılmış ve bu çeşitlerin mikoriza bağımlılıklarının farklı olduğunu belirlemişlerdir.

Feng ve ark (2002) tarafından yapılan çalışma da tuz stresi altındaki bitkinin AMF ile kolonize olan köklerinde yüksek miktar da çözünebilir şeker bulunabileceği, simbiyotik yaşamda AMF'nin ihtiyaç duyduğu karbonhidratı karşılayabilmek için köklerde çözünebilir şekerlerin taşınması ve depolanmasını artırdığı belirtilmiştir. Kolonizasyon sonucu kök dokularındaki şeker miktarının yüksek olması nedeniyle mikorizal bitkilerin tuz stresi sonucu oluşan osmotik strese karşı daha dayanıklı kılınabileceğini vurgulamışlardır.

Giri ve ark (2007) ise; tuz stresinde AMF kolonizasyonun besin elementlerinin bitkiye iletiminin artmasıyla bitkide büyümenin ve tuza karşı toleransın arttığını bildirmişlerdir.

Sharifi ve ark (2007) tarafından mikorizal mantar ile enfekte edilen bitkilerin tuzlu koşullar da bitki büyümesinde meydana gelen artışın daha fazla miktarda besin elementi alımının sağlanmasından kaynaklandığı bildirilmiş olup bu tez çalışması ile de desteklenmiştir. Bunun sebebi ise mikoriza hiflerinin toprağın daha derin bölgelerine uzanarak, bitkinin element alım absorpsiyonunu artırmasıdır (Ortaş 1997).

Zarei ve ark, (2016) tarafından Turunçgil anaçları üzerine yapmış oldukları çalışmada *Glomus mosseae*' nin bazı büyüme parametreleri üzerine etkilerini incelenmiş olup, araştırma sonucunda kontrol bitkileri ile yapılan karşılaştırma da aşılana bitkilerde sürgün kuru ağırlığın da artış meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Bitki büyümesi ve gelişmesi bakımından değerlendirilen parametrelerden çap ölçümlerinde (3,16 mm) ile T+K+M uygulaması, boy (15,5 cm) ile T+K+M uygulaması, yaprak yaş ağırlığı için (0,53 g) ile T+K uygulaması çapraz stres faktörlerinin en düşük değerlerine sahip olarak araştırma da analiz edilmiştir.

Kontrol bitkileri ile M uygulaması arasında büyüme parametreleri arasında önemli farklar bulunmamasına rağmen Tuz ve Kuraklık streslerinin tek tek ve kombine edilmiş uygulamalarında Mikoriza ve Prolin varlığının önemi ve pozitif etkisi saptanmıştır (Çizelge 4.1)

4.2. Fizyolojik Yaprak Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Araştırma süresi boyunca yapılan bazı fotosentetik yaprak parametrelerinin ölçümleri de yapılmıştır. Bu parametreler ise Klorofil indeksi ve Klorofil fluoresansı ölçümlerini kapsamaktadır. Elde edilen veriler Çizelge 4.2’de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Deneme boyunca devam eden uygulamaların klorofil indeksi ve klorofil fluoresansı üzerine Carrizo çöğürlerine etkisi

Uygulamalar	Klorofil fluoresansı (QY)	Klorofil indeksi
Kontrol	0,62 ± 0,00ab	87,0 ± 2,75b
T	0,53 ± 0,00bc	90,0 ± 3,06b
T+PR	0,55 ± 0,02bc	96,4 ± 2,71b
T+M	0,58 ± 0,00abc	101,5 ± 4,08b
K	0,50 ± 0,03c	95,2 ± 3,77b
K+PR	0,56 ± 0,01abc	103,1 ± 3,40b
K+M	0,52 ± 0,03c	98,7 ± 3,25b
T+K	0,52 ± 0,02c	95,9 ± 3,04b
T+K+M	0,58 ± 0,01abc	103,6 ± 4,07b
M	0,65 ± 0,00a	139,4 ± 3,11a

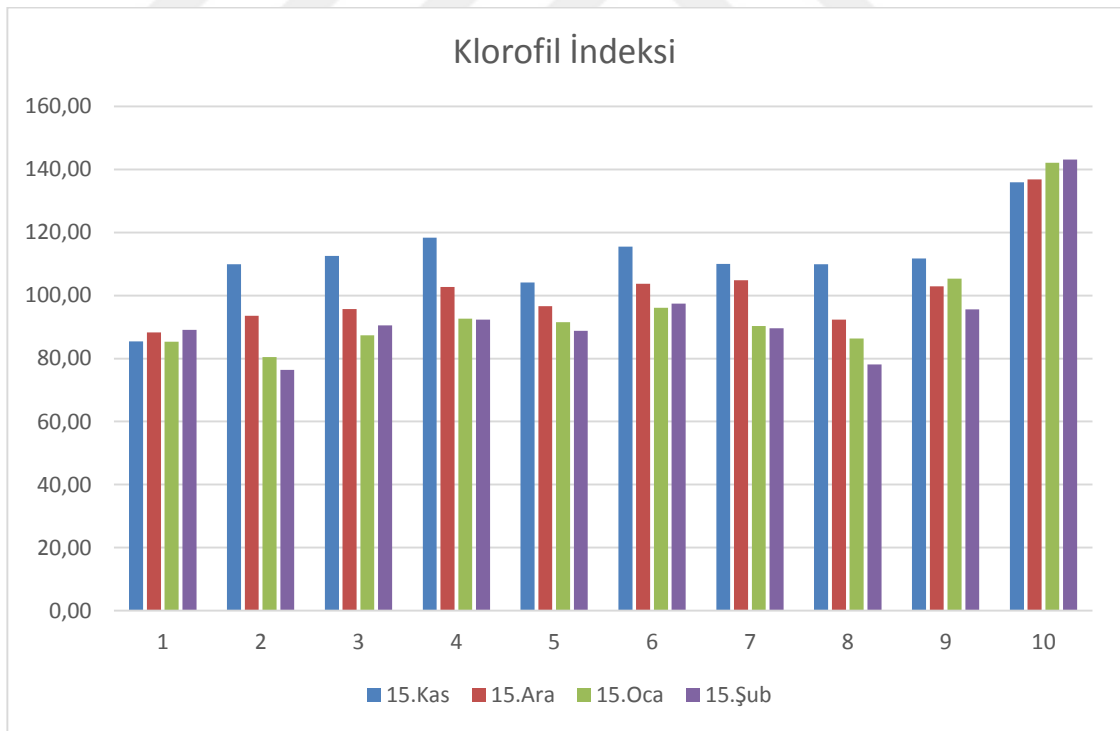
Klorofil indeks değeri yaprak klorofil miktarının belirlenmesinin yanı sıra karbon asimilasyon miktarı ile doğrudan ilişkilendirilebilen bir parametre olması yönüyle oldukça önem taşımaktadır. Deneme boyunca kaydedilen değerler uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$) – (Çizelge 4.2), (Şekil 4.6). Elde edilen verilerden yola çıkarak yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda uygulamalar arasındaki farklılıklar iki grupta incelenmiştir. Klorofil indeks değeri bakımından tek ve en yüksek değer 139,4 ile M uygulaması olmuştur. Klorofil indeks değeri bakımından diğer uygulamalar incelendiğinde ise istatistiki olarak aynı grubu oluşturmakta, belirgin bir fark ortaya koymamaktadır. Bu sonuçlardan yola çıkarak klorofil indeks değeri bakımından M uygulamasının diğer uygulamalara göre önemli ölçüde katkı sağladığı ve daha iyi bir sonuca ulaşıldığı görülmektedir.

M uygulaması dışında kalan diğer faktörler arasında ise en düşük sonucun Kontrol (87,0) bitkilerinde ulaşıldığı kaydedilmiştir (Çizelge 4.2).

Mikorizal birlikteliğin bitkilere bitki besin elementi alımını arttırmalarının yanında (Cavagnaro ve ark. 2006; Singh ve ark. 2001) ikincil metabolitlerin sentezlenmesinde, fotosentez hızının ve stres koşulları altında meydana gelen enzim aktivitelerinde de arttığını bildirilmiştir (Wu ve Xia 2006).

Bavaresco ve Fogher (1996) yapmış oldukları araştırmalarında inokulasyonun anaçlarda kireç kaynaklı kloroz üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda 3309 C ve 41 B anacı üzerine aşıl原因an bitkilerin yapraklarındaki klorofil konsantrasyonu ve demir miktarının arttığı, kök büyümesi üzerine pozitif etkili 11 olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar kudret narı (*Momordica charantia*) bitkisinde yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir. Kudret narı bitkilerinde büyüme periyotları ve çimlenme parametreleri incelenmiş olup bitkilerin yapraklarında klorofil miktarları çiçeklenme süreci boyunca kaydedilmiştir. Yapılan çalışma da kaydedilen verilere göre yaprak klorofil miktarı değerlerine bitki mikoriza enfeksiyonunun oldukça etkili olduğu, kolonizasyondan kaynaklı olarak bitkinin fosforlu ve demirli gübre alımına etkisi olduğu belirlenmiştir (Akay ve Karaarslan, 2012).



Şekil 4.6. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında klorofil indeksi ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler

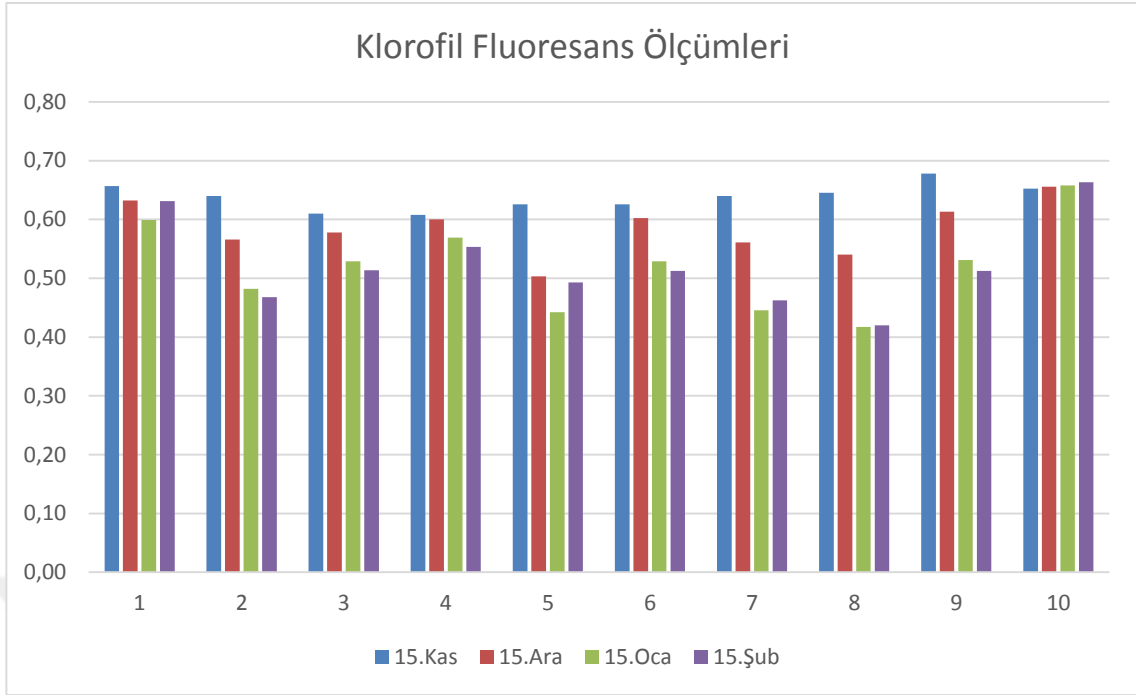
Klorofil fluoresans değeri, net fotosentez verimi ile ilişkilidir. (Edwards and Walker, 1983). Her bitki örneği için, fotosentetik verim, yaprak fluoresansına göre hesaplanan F_v (değişken fluoresans) / F_m (maksimum fluoresans) oranına göre belirlenmiş olup QY - Kuantum Verimi hesaplanmıştır. (Percival ve ark. 1999). Bu değerler fotosistem II 'nin fotokimyasal yeterlilik durumunu gösteren $F_v/F_m=QY$ oranına yerleştirilerek Klorofil fluoresans'ı hesaplanmıştır. (Çizelge 4.2), (Şekil 4.7).

Klorofil fluoresans değeri, Bitki bünyesinde su sınırlı haldeyken, bitki su kaybını engellemek için, çoğunlukla, stomalarını kapatır ve bu durum fotosentezi engelleyerek yada en aza indirerek karbondioksit fiksasyonunun kısıtlanmasına neden olur. Oluşan bu durumda kuantum verimi azalır.

Deneme boyunca kaydedilen değerler uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir ($p<0.05$) – (Çizelge 4.2), (Şekil 4.7). Elde edilen veriler doğrultusunda yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda uygulamalar arasındaki farklılıklar üç grupta incelenmiştir. Klorofil fluoresans değeri (QY) bakımından tek ve en yüksek değer (0,65) ile M uygulaması olmuştur. Yapılan analiz sonucu klorofil fluoresans değerinin en düşük olduğu grupta K (0,50), T+K (0,52), K+M (0,52) değerleri ile uygulamalar arasındaki farklılık saptanmıştır. Klorofil fluoresans değeri için diğer uygulamalar incelendiğinde ise istatistiki olarak aynı grubu oluşturmakta, belirgin bir fark ortaya koymamaktadır. Bu sonuçlardan yola çıkarak klorofil fluoresans değeri bakımından M uygulamasının diğer uygulamalara göre önemli ölçüde katkı sağladığı ve daha iyi bir sonuca ulaşıldığı görülmektedir. Buna ilaveten en düşük grubu oluşturan değerlerin Kuraklık stresi uygulanan bitkiler de olduğu görülmüş olup kuraklık stresinin bitki de kuantum verimi üzerine daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Bitki bünyesinde su kısıtlı haldeyken, bitki su kaybını engellemek için, çoğunlukla, stomalarını kapatır ve bu durum fotosentezi engelleyerek yada en aza indirerek karbondioksit fiksasyonunun azalmasına yada durmasına neden olur. Oluşan bu durumda bitkide kuantum verimi azalır. (Stuhlfauth, 1990). Bu tez çalışmasıyla birlikte desteklenmiş olup, Carrizo çöğürlerinde kuraklık stresi altında klorofil fluoresans değerleri azalmış, kuantum veriminde (QY) düşük sonuçlara ulaşılmıştır. Carrizo çöğürlerinde de kuraklık stresi net fotosentezi olumsuz etkilemektedir (Çizelge 4.2), (Şekil 4.7).

Aksoy ve ark, (1998), tarafından yapılan çalışma ile, Trifoliata orange üzerindeki bitkilerin yapraklarındaki klorofil fluoresans (f_v/f_m) 0.92, Troyer citrange üzerindeki bitkilerde ise 0.97 olarak ölçülmüştür. Klorofil fluoresansı ölçümlerine göre tüm uygulamaların etkisi dikkate alınarak genelleştirildiğinde ise, sonuçlar 0.65 ve 0.99 değerleri arasında ve genel ortalamanın ise 0.88 olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.7. Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arasında klorofil floresans ölçümleri üzerine aylara göre etkili olan değişimler

Hava budamaya uygun olarak (0,85) lt hacme sahip saksılarda yetiştirilen Carrizo çöğürlerinde uygulamalar arası farklılıkların fizyolojik yaprak parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir (Çizelge 4.2), (Şekil 4.7). Carrizo çöğürleri üzerinde her ay düzenli olarak ve aynı saat aralığını kapsayan ölçüm sonuçları analizinde, klorofil indeks değerleri arasında M uygulaması diğer uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Yine aynı doğrultu da ölçümü ve analizi tamamlanmış olan Carrizo çöğürlerinin klorofil floresans değerlerinde Kuraklık stresi uygulamaları bu parametre için belirleyici bir rol oynamış olup, diğer uygulamalar arasında net fotosentez veriminin en düşük düzeyde olduğu saptanmıştır.

4.3. Uygulamaların Kök ve Yaprak Dokularındaki Bitki Besin Elementi İçerikleri

Carrizo çöğürleri arasında yapılan farklı uygulamalar sonucu yapraklardaki bitki besin elementlerinin oranları incelenmiştir. Yaprak analizi için ölçümü yapılan uygulamalar; Kontrol, T, T+PR, T+M, K+PR, K+M ve M olmak üzere analiz edilmiştir. Diğer uygulamalar stres etkileri sonucu yapraklarını kaybetmeleri nedeniyle analiz için yeterli yaprak örneği alınamamıştır. Uygulamalar arasında bitki besin elementlerinin sonuçları incelendiğinde bu parametreler arasında da önemli farklılıkların olduğu saptanmıştır. ($p < 0.05$) (Çizelge 4.3).

Azot için uygulamalar arası farklılıklar altı gruba ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde azot için en yüksek değer sadece topraksız besleme formülasyonu ile yetiştirilen kontrol (3,6 %) grubunda ölçülmüştür. Kontrol grubu ile benzerlik gösteren ikinci uygulamalar ise T (3,18 %) ve T+PR (3,16 %) olarak kaydedilmiştir.

Uygulamalar arasında azot bakımından en düşük değer M (1,71 %) uygulamasına aittir. Diğer uygulamalar ise ara grupta yer almaktadır. (Çizelge 4.3)

Fosfor için uygulamalar arası farklılıklar üç gruba ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde fosfor için en yüksek değerler topraksız besleme formülasyonu ile yetiştirilen kontrol (0,21 %) ve tuz uygulanan bitkiler T (0,21 %) grubunda ölçülmüştür. T+M (0,18 %), K+PR (0,18 %) ve K+M (0,17 %) değerleri ile uygulamalar arasında en düşük grubu oluşturmaktadır (Çizelge 4.3).

Potasyum için ise yapraklarda belirlenen miktar T+M (1,58 %) ve T (1,56 %) olmak suretiyle en yüksek değerler ölçülmüştür. En düşük değer ise M (1,28 %) uygulaması olmuştur.

Genel bir ifade ile bitki besin elementleri açısından uygulamalar arası en yüksek değerler incelendiğinde; Kalsiyum (3,26 %) K+M uygulaması için, Magnezyum (0,29 %) M uygulaması için yüksek değerler göstermiştir (Çizelge 4.3).

Çinko tüm uygulamalar için tek bir grubu oluşturmaktadır. Uygulamalar arasında ki fark önemli bir düzeyde bulunmamıştır (Çizelge 4.3).

K+M uygulaması (40,3 ppm) ile Mangan için, (282,9 ppm) ile Demir için en yüksek sonucu göstermektedir. K+M uygulaması kuraklık stresi altındaki Carrizo çöğürlerinin mikorizal kolonizasyonu ile bu elementler için istatistiksel olarak önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Genel olarak kuraklık ile mikorizal ilişki Ca, Mn ve Fe miktarlarında artışa neden olurken, P için en düşük düzeyi göstermektedir. Diğer elementler açısından ise ara grupta yer almaktadır (Çizelge 4.3).

Bor elementi ise Kontrol bitkilerinde (62,8 ppm) oranı ile en yüksek düzeyde bulunmaktadır (Çizelge 4.3).

Kök bölgesinde bitki besin elementleri incelendiğinde; yapılan uygulamalar arasında bitki besin elementi akümüasyonu ve bitki besin elementi bulundurma miktarları arasında önemli farklılıklar görülmüştür (Çizelge 4.4).

Köklerde bitki besin elementi tayininde azot için uygulamalar arası farklılıklar dokuz gruba ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde azot için en yüksek değer T+K (3,43 %) ile çapraz stres faktörü etkisi altındaki bitkilerde görülmüştür. Fosfor elementi için uygulamalar arası farklılıklar altı grup altında incelenmiştir. Bu gruplar arasında en yüksek değerler Kontrol (0,18 %) ve T+K (0,18 %) uygulamalarında görülmüştür. En düşük değer T (0,13 %) uygulamasında kaydedilmiş olup, diğer uygulamalar açısından gruplandırma ara değerlerde yer almıştır. Potasyum analizi üç grup altında incelenmiş olup, en yüksek değer lider olarak K+PR (1,65 %) uygulamasında analiz edilmiştir. En düşük değerler ise K+M (1,23 %), T+K+M (1,27 %) ve M (1,14 %) uygulamaları olmuştur. Kalsiyum için dört ana grup oluşturulmuş olup, en yüksek değerler K+M (3,12 %) ve M (2,94 %) uygulamalarını kapsamaktadır. En düşük değerler grubunu ise stres faktörlerinin oluşturduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Giovannetti ve Mosse (1980) tarafından mikorizal kolonizasyonun bitki - su dengesi üzerine etkilerinin bitkinin özellikle fosfor bakımınca zengin bir beslenme

durumunu sağlamasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Ancak, mikorizaların kuraklık stresi üzerindeki etkisinin fosfor alımından bağımsız olabileceğine ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır (Sweatt ve Davies 1984; Bethlenfalvay 1988; Almagrabi ve Abdelmoneim, 2012; Karimi 2012).

Ho ve ark, (1995).tarafından bildirildiğine göre, bitkilerde Kalsiyum noksanlığı meydana gelmesi, su veya tuz stresi sonucunda yeterli miktarda alınamamasından kaynaklanmakta olup, toprak çözeltisinde yeterli ve alınabilir miktarda bulunsu bile stres faktörlerinden dolayı alımı engellenerek noksanlığa sebep olduğu bildirilmiştir.

Anaç ve ark, (1997) Potasyum miktarından etkilenmiş tuz stresi altındaki topraklarda yetişen bitkilerdeki Sodyum'un olumsuz etkilerini azalttığı bildirilen bir diğer çalışmada, farklı dozlarda (0.65, 2, 3.5, 6.5 dS/m) tuz verilerek yetiştirilen *Poncirus trifoliata* ve *Troyer citrange* üzerine aşılı satsuma mandarinlerine ağaç başına 100-200g K₂O verilerek yaprağın Na, Cl, K, Ca içerikleri ve ağacın gelişimi (ağaç çapı, dal uzunluğu, yaprak alanı) incelenmiştir. . Artan tuzluluk ile birlikte, her iki anaç üzerine aşılı satsuma mandarini yapraklarındaki Na miktarı artmıştır. *Poncirus trifoliata* anacına aşılı mandarinlerde Na daha çok ağaç tacında birikirken, Troyer üzerine aşılı ağaçlarda Na tacın alt kısımlarındaki yaşlı yapraklarda birikmiştir. En yüksek tuzluluk dozunda ve K₂O ilavesinde yapraklardaki Na içeriği, *Poncirus trifoliata* anacına aşılı mandarin yapraklarında %5, Troyer citrange üzerine aşılı mandarin yapraklarında %11 azalmıştır. Artan tuzlulukla birlikte *Poncirus trifoliata* anacı üzerine aşılı mandarin yapraklarında daha fazla Cl iyonu birikmiştir. Her iki anaç üzerine aşılı mandarin yapraklarında en yüksek dozdaki tuz ve K uygulamalarında, K miktarı artmıştır. Artan K uygulamalarında, yapraktaki Ca miktarı azalmıştır. Ağaç gelişiminde ise, tuzluluk arttıkça Troyer citrange anacına aşılı satsuma mandarinlerinde ağaç çapı diğer anaca aşılı olanlarda göre daha fazla azalmıştır. Tuz oranı arttıkça yaprak alanı her iki anaçta da azalmıştır. Uygulanan K ile bu etki tersine çevrilmiştir

Kara ve Tilki (2001), mikorizal kolonizasyonun bitki büyümesini hızlandırdığı, kök yenilenmesini teşvik ettiği, ve kimyasal gübre kullanımını azalttığını bildirmişlerdir.

Magnezyum bakımından uygulamalar arası farklılıklar altı grupta incelenmiştir. Buna göre Mg içeriği bakımından en yüksek değer kontrol (0,32 %) grubunda olup, en düşük değer ise K+M (0,22 %) uygulamasında saptanmıştır. Gruplar arasında seyreden diğer uygulamalar ise ara grupta yer almaktadır (Çizelge 4.4).

Bakır elementi için en iyi sonuç K (9,40 ppm) uygulamasında, en düşük değer ise T+PR (5,50 ppm) uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çinko için en yüksek değerler Kontrol, T+K, T+M uygulamalarını gösterirken K+PR uygulamasında en düşük analiz değerine ulaşılmıştır (Çizelge 4.4).

Mangan için yapılan analizler altı farklı grubu oluşturmaktadır. En yüksek değerler K+M ve M uygulamasında olup en düşük analiz değeri T+PR uygulamasında belirlenmiştir. Diğer uygulamalar için analiz değerleri ara grupta yer almaktadır (Çizelge 4.4).

Demir elementi için yedi ayrı analiz grubu altında inceleme yapılmış olup, en iyi sonuca K+M uygulamasında ulaşılmıştır. K+PR uygulaması ise en düşük analiz sonucunu oluşturmaktadır (Çizelge 4.4).

Bor analizinde en iyi grubu M, K+M ve T+M uygulamaları oluşturmuştur. Mikorizal kolonizasyon oluşmuş bitkilerde ve tuz-kuraklık streslerinde enfekte edilmiş mikorizanın bor alımı üzerine etkisi olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber en düşük değer T uygulamasında analiz edilmiştir (Çizelge 4.4).

Mikorizal kolonizasyon Mn miktarlarında artış sağlarken, Cu miktarı üzerine mikorizal kolonizasyonun herhangi bir etkisi olmamıştır. Mn miktarındaki en büyük artış K+M ve M uygulamasında görüldüğünden dolayı bu durumun M ile birlikte kuraklık üzerine sinerjistik bir etki olabileceği düşünölmüştür.



Çizelge 4.3. Uygulamaların Carrizo çöğürleri üzerine yapraktaki bitki besin elementi içerikleri

Uygulamalar	Azot (N) %	Fosfor (P) %	Potasyum (K) %	Kalsiyum (Ca) %	Magnezyum (Mg) %	Bakır (Cu) ppm	Çinko (Zn) ppm	Mangan (Mn) ppm	Demir (Fe) ppm	Bor (B) ppm
Kontrol	3,6 ± 0,02a	0,21 ± 0,003a	1,48 ± 0,01ab	2,75 ± 0,34ab	0,24 ± 0,01b	3,5 ± 0,9ab	15,1 ± 2,85a	23,5 ± 1,99c	133,0 ± 1,23c	62,8 ± 0,91a
T	3,18 ± 0,03b	0,21 ± 0,01a	1,56 ± 0,10a	2,47 ± 0,19b	0,24 ± 0,01b	4,81 ± 1,10a	16,1 ± 1,10a	24,3 ± 1,22c	110,4 ± 8,04de	50,7 ± 0,46cd
T+PR	3,16 ± 0,05b	0,19 ± 0,002b	1,50 ± 0,04ab	2,61 ± 0,13b	0,26 ± 0,01ab	3,61 ± 0,12ab	20,5 ± 3,06a	26,0 ± 1,2bc	148,0 ± 4,92b	48,8 ± 0,92de
T+M	2,98 ± 0,02c	0,18 ± 0,001c	1,58 ± 0,03a	2,51 ± 0,18b	0,24 ± 0,01b	2,51 ± 0,20b	14,1 ± 2,45a	26,5 ± 1,32bc	148,1 ± 0,57b	50,3 ± 0,32cd
K+PR	2,68 ± 0,05d	0,18 ± 0,002c	1,35 ± 0,06bc	2,83 ± 0,11ab	0,25 ± 0,02ab	3,56 ± 0,79ab	17,2 ± 3,12a	28,3 ± 1,04b	121,9 ± 0,33cd	51,3 ± 0,68c
K+M	2,36 ± 0,01e	0,17 ± 0,002c	1,28 ± 0,06c	3,26 ± 0,11a	0,28 ± 0,01ab	3,51 ± 0,60ab	20,6 ± 2,47a	40,3 ± 0,86a	282,9 ± 5,05a	55,2 ± 0,48b
M	1,71 ± 0,03f	0,20 ± 0,001b	1,34 ± 0,10bc	2,79 ± 0,13ab	0,29 ± 0,01a	2,33 ± 0,12b	19,0 ± 0,52a	23,8 ± 1,33c	107,8 ± 5,90e	47,3 ± 1,36e

Çizelge 4.4. Uygulamaların Carrizo çöğürleri üzerine kökteki bitki besin elementi içerikleri

Uygulamalar	Azot (N) %	Fosfor (P) %	Potasyum (K) %	Kalsiyum (Ca) %	Magnezyum (Mg) %	Bakır (Cu) ppm	Çinko (Zn) ppm	Mangan (Mn) ppm	Demir (Fe) ppm	Bor (B) ppm
Kontrol	2,66 ± 0,01b	0,18 ± 0,00a	1,38 ± 0,07abc	0,66 ± 0,02cd	0,32 ± 0,00a	5,86 ± 0,36de	61,8 ± 3,12a	143,9 ± 0,87cd	596,8 ± 2,96d	15,6 ± 0,33cde
T	2,20 ± 0,02c	0,13 ± 0,00f	1,39 ± 0,08abc	0,53 ± 0,00d	0,29 ± 0,00b	6,9 ± 0,36cd	46,8 ± 2,80bc	125,4 ± 2,02e	517,1 ± 0,72e	14,0 ± 0,39e
T+PR	1,94 ± 0,02de	0,17 ± 0,00c	1,28 ± 0,03bc	0,54 ± 0,02d	0,27 ± 0,00bc	5,5 ± 0,05e	52,3 ± 0,20abc	97,7 ± 2,78f	538,6 ± 6,58e	14,6 ± 0,30de
T+M	2,04 ± 0,01d	0,17 ± 0,00bc	1,34 ± 0,07abc	0,83 ± 0,03c	0,27 ± 0,01bcd	7,38 ± 0,07bc	56,8 ± 2,17a	153,7 ± 1,72c	841 ± 3,21c	22,8 ± 0,92a
K	1,89 ± 0,02e	0,16 ± 0,00d	1,61 ± 0,09ab	0,48 ± 0,01d	0,29 ± 0,00b	9,4 ± 0,18a	56,0 ± 2,01ab	132,8 ± 0,44de	417,0 ± 4,61fg	17,8 ± 0,74bc
K+PR	1,75 ± 0,02f	0,16 ± 0,00d	1,65 ± 0,07a	0,41 ± 0,01d	0,24 ± 0,00ef	7,81 ± 0,24bc	45,9 ± 1,71c	182,7 ± 0,46b	377,5 ± 1,51g	18,5 ± 0,21b
K+M	0,84 ± 0,01	0,13 ± 0,00f	1,23 ± 0,07c	3,12 ± 0,10a	0,22 ± 0,00f	7,31 ± 0,30bc	52,9 ± 0,65abc	214,2 ± 1,11a	1115 ± 2,02a	23,1 ± 0,49a
T+K	3,43 ± 0,02a	0,18 ± 0,00a	1,38 ± 0,02abc	0,83 ± 0,05d	0,26 ± 0,00cde	7,33 ± 0,24bc	61,7 ± 0,50a	149,3 ± 0,67c	427,8 ± 1,48f	16,6 ± 0,46bcd
T+K+M	1,61 ± 0,02g	0,17 ± 0,00b	1,27 ± 0,04c	1,26 ± 0,06b	0,24 ± 0,00def	8,38 ± 0,12ab	54,5 ± 1,91abc	189,9 ± 5,71b	1069 ± 20,9b	17,8 ± 0,42bc
M	1,45 ± 0,03h	0,14 ± 0,00e	1,14 ± 0,05c	2,94 ± 0,06a	0,29 ± 0,00b	7,1 ± 0,23c	53,3 ± 2,28abc	205,1 ± 5,11a	1109 ± 13,6ab	23,6 ± 0,32a

4.4. Kök ve Kök Bölgesinde İncelenen Mikroorganizmalar

4.4.1. Mikoriza tayini

Sera koşullarında yetiştirilen Carrizo çöğürlerinde ERS (Endo Roots Soluble) Mikoriza kullanılmıştır. Denemede mikoriza karışımı olarak kokteyl (*Glomus spp*: *G. intraradices*, *G. aggregatum*, *G. mosseae*, *G. clarum*, *G. monosporus*, *G. etunicatum*, *G. margarita*, *G. deserticola*, *G. brasilianum*) kullanılmış olup, yetiştirilen çöğürlere aşılanmıştır (Dalkılıç ve Özbek, 2017). Deneme sonunda mikoriza uygulamaları yapılmış olan Carrizo çöğürlerinin kök enfeksiyonu belirlenmiştir. Köklerde bulunan enfeksiyon boyama metodu ile belirlenmiş olup, kök enfeksiyonu oranlarına ait ortalamalar Çizelge 4.5’ te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Carrizo çöğürlerinde kök bölgesinde mikoriza spor sayısı (adet) ve mikoriza enfeksiyon oranı (%)

Uygulamalar	Kök bölgesinde spor sayısı/adet (10 g harç ortamı için)	Köklerde Mikoriza Enfeksiyon Oranı (%)
Kontrol	-	-
T	-	-
T+PR	-	-
T+M	117	95
K	-	-
K+PR	-	-
K+M	160	95
T+K	-	-
T+K+M	161	75
M	75	90

*(-) mikoriza uygulaması yapılmamıştır.

Carrizo çöğürlerinde kök bölgesinde yapılan sayımlarda kök enfeksiyonu bakımından en yüksek kolonizasyonun T+M (%95) ve K+M (%95) uygulamasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5) - (Şekil 4.9). Mikorizal kolonizasyon uygulaması (M) tek hiçbir stres faktörü olmaması halinde % 90 enfeksiyon sağlamıştır. Diğer mikorizal uygulama T+K+M için kök enfeksiyon oranı ise % 75 enfeksiyon değerine ulaşılmıştır (Çizelge 4.5). Tuz stresi ve kuraklık stresinin bitki bünyesi üzerine etkili olan uygulamalarında mikorizal kolonizasyonun arttığı, stres faktörlerinin kolonizasyonu arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durumun bitki stres faktörlerinin etkisi altındayken daha çok besin elementlerine ihtiyaç duyduğu ve bu nedenle mikorizal birliğin sağladığı pozitif etkiden dolayı enfeksiyonun arttığı düşünülmektedir.

Bitki ile mikoriza arasındaki simbiyotik ilişki, bitkinin fosfor ve inorganik minerallere olan ihtiyacını karşılamaktadır. Bitki fotosentez ürünü olarak elde etmiş olduğu karbonun %20-40’ını kök bölgesine aktararak, bu aktarımın önemli bir bölümü mikoriza tarafından kullanıldığı bildirilmiştir (Smith ve Read 1996).

Nunes ve ark, (2006) tarafından yapılan çalışmada iki farklı mevsimde turunçgil

bahçelerinden toprak ve kök örnekleri alınmıştır. Buna göre, mikorizal enfeksiyonun örnek alınan iki dönem içinde yüksek olduğu belirlenmiştir. Kök enfeksiyonunun % 42 - % 83 değerleri arasında değişmekte olduğunu saptamışlardır.

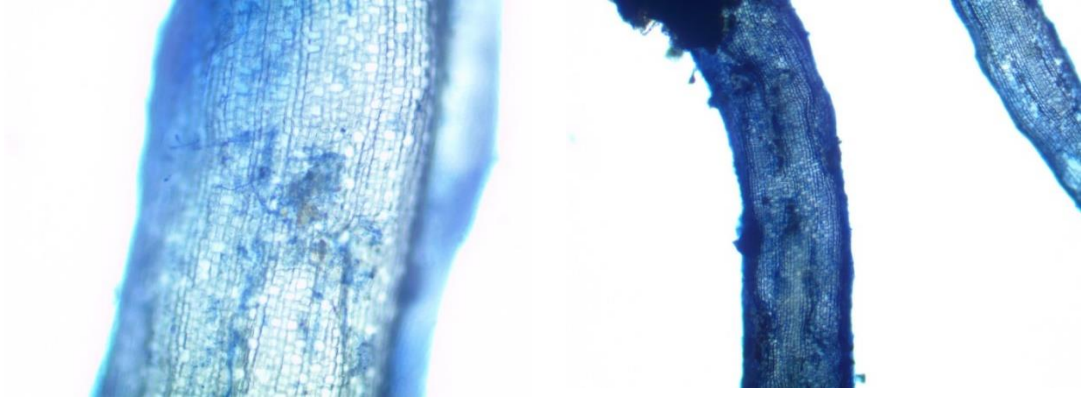
Mikoriza ile enfekte tuz stresi altındaki bitki de büyümenin artması, AMF ile kolonize olmuş bitkilerin daha çok mineral madde almalarından kaynaklanmaktadır (Sharifi, 2007).

Tuz stresinde etkisi altındaki bitki de AMF ile kolonizasyonun tuza karşı toleransı arttığı bildirilmiştir (Giri ve ark, 2007).

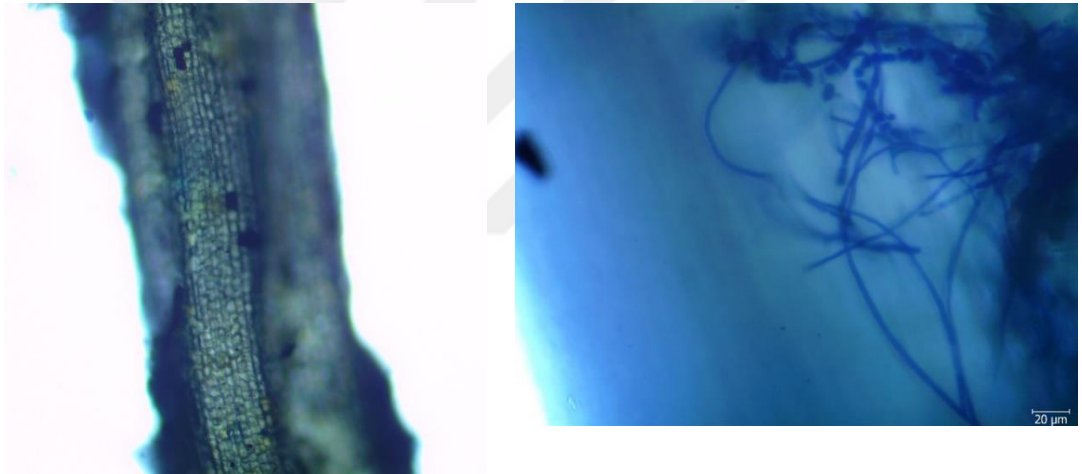
Hetrick ve Wilson (1989) rapor ettiğine göre, steril olmayan ve verimliliğinin minimum olduğu şartlarda Turunç bitkisinde büyüme ve mikorizal kolonizasyonu incelemişlerdir. Bu şartlar altında Turunç'ta bitki büyümeve gelişiminin ilaveten mikoriza enfeksiyonunun azaldığını saptamışlardır. Buna bağlı olarak Turunçgillerin, mikoriza kolonizasyonu sağlanmayan yetiştirme koşullarında optimum gelişim göstermekte zorluk yaşadığı bildirilmiştir (Menge ve ark, 1978; Ortaş ve ark, 2002a).



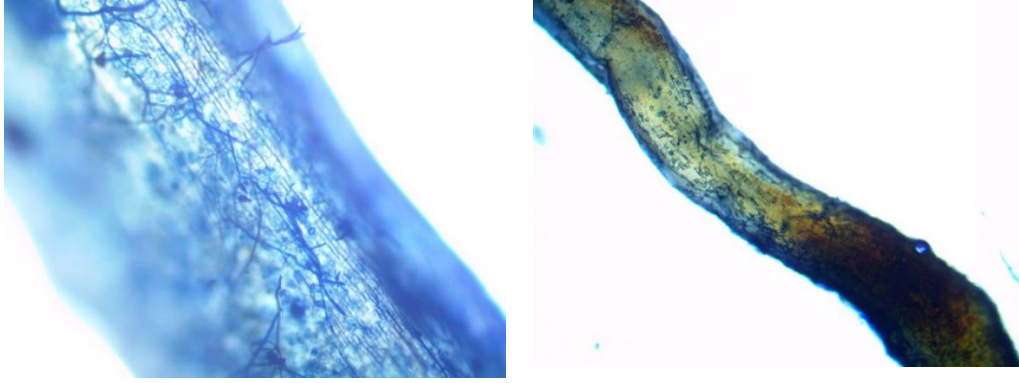
Şekil 4.8. Carrizo çöğürlerinin köklerinde M uygulamasında 10x10 (sol), 4x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü



şekil 4.9. Carrizo ögürlerinin köklerinde K+M uygulamasında 10x10 (sol), 4x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü



şekil 4.10. Carrizo ögürlerinin köklerinde T+M uygulamasında 10x10 (sol), 40x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü



Şekil 4.11. Carrizo çöğürlerinin köklerinde T+K+M uygulamasında 10x10 (sol), 4x10 (sağ) büyütme ile mikroskop altında mikoriza sporlarının görünümü

Akpınar (2004), farklı bitkiler üzerine yaptığı çalışma da (mısır, yonca, sorgum, soğan, pırasa, üçgül) mikorizal kök enfeksiyonunun kökler üzerine dördüncü haftadan sonra daha etkili olduğunu bildirmiştir. Bazı bitkilerde büyüme ve gelişmenin optimum düzeyde sağlanabilmesi, bitki besin elementlerinden fayda sağlayabilmesi mikorizal kolonizasyonun kökler ile ilişkisine bağlıdır. Bu durum bazı bitkiler için mikoriza birliğini mutlak gerekli, "olmazsa olmaz" seviye de etkilemekte yaşamlarını sadece mikorizal enfeksiyonun var olmasına bağlı kılmaktadır (Ortaş ve ark, 2002 a ve b).

Deneme süresince Carrizo çöğürlerine yapılan uygulamalar sonunda, mikoriza enfekte edilmiş bitkiler ve yetiştirme ortamları analiz edilmiştir. Yetiştirme ortamı üzerine yapılan analiz için köklerin değiştiği bölgelerden alınan 10 g'lık toprak örneğinde mikoriza sporlarının sayımı yapılmıştır. Uygulamalar arası sayım miktarlarında en yüksek değer T+K+M (161) gösterdiği değer olup, en yakın ikinci değer K+M (160) uygulamasında sayılmıştır. Diğer uygulamalar ise, T+M (117), M (75) adet mikoriza spor sayımı yapılmıştır (Çizelge 4.5), (Şekil 4.13).

Mikoriza sayımının kök enfeksiyon yüzdesi gibi stres faktörleri altında arttığı saptanmıştır. Kök bölgesinde mikoriza miktarı stres faktörü / faktörleri etkisi altında bitki bünyesinde kolonizasyon artmakta, bitki – mikoriza ilişkisi güçlenmekte olduğu belirlenmiştir.

Harley ve Smith (1983), Abbot ve ark (1992) tarafından bildirildiğine göre, mikorizal kolonizasyon bitki köklerini patojenik organizmalara karşı korumaktadır. Ayrıca bitkide sağlanan kolonizasyon sadece patojenler için korunma sağlamayıp, bitkiyi abiyotik stres faktörlerine (ağır metal toksisitesi, tuzluluk, kuraklık vb.) karşı korumakta ve bitkinin bu stres faktörlerine karşı direncini arttırmaktadır.



Şekil 4.12. Carrizo çöğürlerinde mikorizalı uygulamaların spor miktarını belirlemek için yapılan örnekleme ve meydana gelen enfeksiyonun görünümü

4.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Carrizo çöğürleri arasında yapılan farklı uygulamalar sonucu yapraklarda ve köklerde antioksidan enzim aktivite değerleri hesaplanmıştır. Yaprak ve kök için analizi yapılan uygulamalar; Kontrol, T, T+PR, T+M, K+PR, K+M ve M olmak üzere gruplandırılmıştır. Uygulamalar arasında antioksidan enzim aktiviteleri incelendiğinde bu parametreler arasında da önemli farklılıkların olduğu saptanmıştır. ($p < 0.05$) (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

Protein analizi için uygulamalar arası farklılıklar yaprak dokularında tek grup altında incelenmiştir. Bu nedenle yaprak dokularında enzim aktivitesi bakımından istatistiki bir fark bulunamazken, köklerde yapılan protein analizinde sonuçlar altı gruba ayrılmıştır. Uygulamalar arasında protein miktarı en yüksek değer M (1518,3) uygulaması olup en düşük değerler ise T+K (719,4), K (788,5) uygulamalarına aittir. Diğer uygulamalar ise ara grupta yer almaktadır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

MDA analizi için uygulamalar arası farklılıklar yaprak dokularında altı gruba ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde MDA için en yüksek değer T+PR (8,08) uygulamasında ölçülmüştür. Bu durum MDA miktarının tuz stresinde oldukça arttığını ve uygulamalar arasında en yüksek düzeyde bulunarak önemli bir parametreyi kapsamaktadır. Uygulamalar arasında MDA bakımından en düşük değerler sadece topraksız besleme formülasyonu ile yetiştirilen kontrol (4,50) ve mikorizal kolonizasyon

uygulaması olan M (4,16) için saptanmıştır. MDA analizi bakımından gruplar arasında istatistiki farklar kaydedilmiş olup diğer uygulamalar ara grupta yer almaktadır. MDA analizinin köklerdeki analiz sonucunda altı grup altında incelenmiş olup, en yüksek değer K (7,35) ve en düşük analiz değeri de K+PR (3,63) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7). Bu durumda yaprak dokularında prolin uygulamasının MDA aktivitesi üzerine stres faktörlerine karşı artan tepkisini ortaya koymaktadır.

LOX enzim aktivitesi için ise oluşan beş grup altında yaprak dokularında T+K+M ve Kontrol uygulaması en yüksek değeri göstermiş, T+K en düşük değeri gösteren uygulama olarak saptanmıştır. Uygulamalar arası farklılıklar gruplandırıldığında ise oluşan beş ayrı gruplandırmada T uygulaması en iyi sonucu vermiş olup, K+M ve T+K uygulamalarında en düşük değer hesaplanmıştır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

POD enzim aktivitesinin belirlenmesinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptanmıştır. POD aktivitesi için istatistik analiz metoduna göre uygulamalar üç gruba ayrılmıştır. Buna göre yaprak dokularında en yüksek değerler T, K+M, T+K uygulamalarını göstermektedir. Köklerde yapılan analiz sonucunda ayrılan dört grup arasında en yüksek değer T+K uygulaması olmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında stres faktörlerini barındıran uygulamalarda POD seviyesinin arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

CAT enzim aktivitesi için yaprak dokularında yapılan analizler sonucunda dört grup oluşmuş olup yine POD analizinde olduğu gibi en yüksek değer çapraz stres faktörünün uygulandığı T+K uygulamasında ölçülmüştür. Köklerde ise beş gruba ayrılmış olan sonuçlar arasında CAT enzimi için yine en yüksek değer T+K uygulamasında kaydedilmiştir. Ayrıca en düşük değerler ise Kontrol ve M uygulamasında kaydedilmiş olup diğer uygulamalar ara grupları oluşturmaktadır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7). Çalışmada CAT aktivitesinin T+K uygulamasında yüksek sonuçlar elde edilmesi çapraz stres ya da tekli stres faktörlerinin savunma mekanizması üzerine olumsuz etkilerini ortaya koymaktadır. Bitki de stres faktörlerinin antioksidan savunma sistemini harekete geçirerek savunma mekanizmalarını etkinleştirdiğini ve Carrizo çöğürlerinde çizelgelerde belirlenen etkileri görülmektedir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

Yaprak dokularında yapılan analizde uygulamalar arasında Prolin bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Bu durum stres faktörlerinin bitki bünyesinde maksimum seviyede olduğunu ve bu nedenle dışsal prolin uygulamasının bitki üzerine herhangi bir katkısının olmadığı saptanmıştır. Köklerde yapılan analizde ise sadece en düşük değer M uygulamasını göstermiş olup diğer uygulamalar arasında önemli bir fark hesaplanmamıştır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

SOD enzim analizi için yaprak dokularında kaydedilen en yüksek değer T+PR uygulaması olmuştur. Köklerde ise SOD analizi için T+M uygulaması en yüksek değeri göstermiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

APX için uygulamalar arası farklılıklar dört gruba ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde yaprak dokularında APX için en yüksek değer M uygulamasında ölçülmüştür. Köklerde ise analiz sonuçları üç gruba ayrılmıştır. Buna göre K uygulaması APX

aktivitesi bakımından en yüksek değerin bulunduğu grubu oluşturmaktadır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

GR aktivitesi incelendiğinde ise; yaprak dokularında en yüksek değer T uygulamasında kaydedilmiş olup, en düşük değer M uygulamasında hesaplanmıştır. Ancak aktivasyonun yüksek olması nedeniyle T+PR, T+K, T+K+M uygulamalarında aktivasyon belirlenememiştir. Yine GR aktivitesi için uygulamalar arası farklılıkların köklerdeki değişimi analiz edildiğinde, K+M en yüksek değer, K+PR ve T+K+M uygulaması en düşük değer hesaplanmıştır. Köklerde de T+PR ve T+K uygulamalarında aktivasyon yüksek olduğu için ölçüm sonucu alınamamıştır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

Sofo vd., 2004 tarafından yapılan bir çalışmada, iki yaşlı zeytin ağaçları (CCI 'Coratina') yirmi gün boyunca kontrollü bir şekilde su stresine maruz bırakılmıştır. Araştırmada uygulama öncesi ve esnasında kök ve yaprak örnekleri alınarak prolin, MDA ve LOX analizleri yapılmıştır. Sonuç olarak yaprakta ve kökte kuraklık şiddetine bağlı olarak prolin, MDA ve LOX seviyesi arttığı belirlenmiştir.

Özpay, 2008 tarafından on farklı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) (GB64, S100, 4F-89, GS57, GS26, S96, SB, KG, OB) genotiplerinde yürütülen çalışmada su stresine karşı tolerans mekanizmaları araştırılmıştır. Fidler Hoagland besin çözeltisi bulunan kaplarda kültüre alınmış ve besin çözeltisine %10 Polietilen glikol eklenmiştir. Uygulama sonrasında yaprak örnekleri alınarak nisbi su içeriği, klorofil miktarı, antioksidant enzim aktiviteleri (SOD, POD, CAT, APX) ve MDA miktarları ile K, Ca, Zn, Fe ve Mn içerikleri belirlenmiştir. Sonuçta antioksidant enzim aktivitelerinin kuraklık üzerinde etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Arbona vd. (2003), yaptıkları çalışmada turunçgillerde farklı tuz konsantrasyonlarında antioksidan savunma mekanizmalarını incelemişler ve enzimatik olan, enzimatik olmayan antioksidanların verdikleri tepkileri araştırmışlardır. Tuzluluğun etkisiyle birlikte bitkilerde oksidatif stres olduğu ve bu durumdan kaynaklanan zararlanmaların olduğu bildirmişlerdir. Oksidatif zararlanma miktarları; SOD, APX, MDA, CAT ve GR aktiviteleri ile enzimatik olmayan antioksidanların miktarlarını ölçülerek belirlenmiştir. Ayrıca bitkilerde prolin birikimi de ölçülerek oksidatif zararlanmayı belirlemişlerdir. Turunçgiller tuzun neden olduğu oksidatif strese enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların miktarlarında artma meydana gelmesi ile bir tepki oluşumu göstermiştir. Stres süresinin uzamasıyla bu savunma bileşik ve enzimlerin arttığını göstermiştir. MDA içeriğinde önemli ölçüde bir değişiklik olmamakla birlikte, tuzun neden olduğu oksidatif stresten çok Cl⁻ stresinin zararlı olduğu belirlenmiştir. Ulaşılan bulgulara ilaveten 30 mM NaCl uygulanan bitkilerde yedi günde prolin içeriğinin en yüksek seviyeye ulaştığı, uygulanan tuz miktarı arttıkça ise bitkilerdeki prolin miktarında arttığı bildirilmiştir.

Çizelge 4.6. Uygulamaların yaprak dokularında belirlenen antioksidan enzim aktiviteleri

Uygulamalar	PROTEİN (µg/ml)	MDA (nmol/mg protein)	LOX (U mg ⁻¹ protein)	POD (U mg ⁻¹ protein)	CAT (U mg ⁻¹ protein)	PROLİN (U mg ⁻¹ protein)	SOD (U mg ⁻¹ protein)	APX (mol min ⁻¹ g ⁻¹)	GR (mol min ⁻¹ g ⁻¹)
Kontrol	1709,5 ± 8,91a	4,50 ± 0,08f	13,4 ± 0,65a	156,1 ± 1,86bc	9,74 ± 0,19cd	7,51 ± 0,02a	12,8 ± 1,89cd	0,01 ± 0,00d	5,45 ± 0,07d
T	1688,6 ± 5,75a	4,47 ± 0,07de	5,84 ± 0,29cd	185,4 ± 1,58a	10,3 ± 0,03c	7,59 ± 0,06a	10,1 ± 0,92cd	0,02 ± 0,00cd	9,36 ± 0,32a
T+PR	1698,9 ± 9,69a	8,08 ± 0,10a	6,47 ± 0,03c	164,8 ± 1,80b	8,86 ± 0,15d	7,39 ± 0,14a	65,4 ± 7,22a	0,02 ± 0,00cd	-
T+M	1693,0 ± 6,74a	4,94 ± 0,14cde	10,5 ± 0,27b	154,8 ± 2,94bc	10,4 ± 0,05c	7,45 ± 0,11a	32,0 ± 0,64b	0,02 ± 0,00cd	6,31 ± 0,16cd
K	1717,4 ± 4,33a	7,02 ± 0,12b	4,65 ± 0,15de	156,5 ± 2,11b	10,1 ± 0,06c	7,46 ± 0,09a	23,1 ± 3,18bcd	0,03 ± 0,00bc	7,56 ± 0,15b
K+PR	1690,5 ± 2,95a	5,22 ± 0,11cd	5,91 ± 0,25cd	159,1 ± 3,67b	9,86 ± 0,19c	7,61 ± 0,03a	25,6 ± 2,95bd	0,02 ± 0,00cd	6,24 ± 0,33cd
K+M	1706,5 ± 4,96a	4,43 ± 0,09ef	6,95 ± 0,08c	181,6 ± 1,78a	13,9 ± 0,42b	7,39 ± 0,08a	25,6 ± 3,80bc	0,01 ± 0,00d	6,67 ± 0,04bc
T+K	1698,9 ± 2,20a	4,93 ± 0,16cde	4,45 ± 0,17e	178,2 ± 3,30a	16,2 ± 0,10a	7,53 ± 0,09a	18,0 ± 1,53bcd	0,04 ± 0,00ab	-
T+K+M	1695,5 ± 4,16a	5,37 ± 0,09c	12,7 ± 0,20a	159,5 ± 1,08b	13,4 ± 0,08b	7,43 ± 0,07a	9,55 ± 0,72d	0,04 ± 0,00ab	-
M	1728,5 ± 23,2a	4,16 ± 0,09f	6,42 ± 0,03c	144,1 ± 3,19c	10,5 ± 0,19c	7,22 ± 0,08a	20,5 ± 1,57bcd	0,05 ± 0,00a	5,45 ± 0,19d

*(-): Aktivasyon miktarının yüksek olması nedeniyle okuma yapılamamıştır.

Çizelge 4.7. Uygulamaların köklerinde belirlenen antioksidan enzim aktiviteleri

Uygulamalar	PROTEİN (µg/ml)	MDA (nmol/mg protein)	LOX (U mg ⁻¹ protein)	POD (U mg ⁻¹ protein)	CAT (U mg ⁻¹ protein)	PROLİN (U mg ⁻¹ protein)	SOD (U mg ⁻¹ protein)	APX (mol min ⁻¹ g ⁻¹)	GR (mol min ⁻¹ g ⁻¹)
Kontrol	1054,8 ± 8,30c	4,31 ± 0,09ef	9,95 ± 0,38de	256,2 ± 2,60d	7,2 ± 0,38e	7,4 ± 0,08a	1,05 ± 0,01f	0,02 ± 0,00c	1,67 ± 0,01cd
T	880,5 ± 13,6e	5,12 ± 0,16de	20,8 ± 0,45a	339,5 ± 5,36b	12,6 ± 0,15b	7,3 ± 0,03a	4,15 ± 0,06cd	0,02 ± 0,00c	1,70 ± 0,12cd
T+PR	912,7 ± 23,5de	5,66 ± 0,20cd	10,0 ± 0,19de	290,8 ± 4,23c	8,9 ± 0,17d	7,5 ± 0,07a	2,42 ± 0,51ef	0,07 ± 0,00ab	-
T+M	1067,0 ± 19,7c	6,73 ± 0,09ab	15,4 ± 0,60c	272,4 ± 2,97cd	9,0 ± 0,20cd	7,1 ± 0,03a	7,80 ± 0,41a	0,02 ± 0,00c	2,11 ± 0,16c
K	788,5 ± 11,2f	7,35 ± 0,14a	15,7 ± 0,29bc	360,9 ± 7,22b	12,7 ± 0,17b	7,0 ± 0,12a	5,49 ± 0,46bc	0,08 ± 0,00a	2,72 ± 0,07b
K+PR	993,6 ± 5,22cd	3,63 ± 0,16f	10,8 ± 0,56d	266,0 ± 8,48cd	9,9 ± 0,15c	7,3 ± 0,09a	6,45 ± 0,04ab	0,07 ± 0,00ab	1,47 ± 0,11d
K+M	1066,4 ± 12,7c	5,25 ± 0,37de	8,25 ± 0,14e	273,8 ± 2,63cd	7,4 ± 0,12e	7,1 ± 0,02a	3,98 ± 0,23cd	0,06 ± 0,00b	5,56 ± 0,09a
T+K	719,4 ± 13,5f	6,32 ± 0,25bc	8,34 ± 0,34e	410,3 ± 8,01a	13,7 ± 0,12a	7,2 ± 0,07a	4,39 ± 0,12cd	0,07 ± 0,00ab	-
T+K+M	1152,6 ± 22,5b	6,43 ± 0,08abc	12,0 ± 0,95d	271,3 ± 2,70cd	8,8 ± 0,13d	7,3 ± 0,07a	3,72 ± 0,13de	0,02 ± 0,00c	1,52 ± 0,17d
M	1518,3 ± 21,9a	4,71 ± 0,14de	17,8 ± 0,19b	171,0 ± 2,85	7,15 ± 0,08e	4,1 ± 0,93b	1,07 ± 0,43f	0,02 ± 0,00c	1,73 ± 0,04cd

*(-): Aktivasyon miktarının yüksek olması nedeniyle okuma yapılamamıştır.

5. SONUÇLAR

Dünya genelinde üretime yönelik tarım alanları kısıtlı olup, değişen iklim şartları ile tarımda kullanılabilir alanlar her geçen gün daha da azalmaktadır. Abiyotik stres faktörleri olarak karşımıza çıkan bu durum bitki yaşamında önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açmak suretiyle bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum, bitkisel üretimi etkileyen en büyük stres kaynaklarını oluşturmakta, öncelikle ürün verim ve kalitesinde azalmaya; ileri düzeylerde ise bitkinin ve bitki organlarının yaşamını yitirmesine neden olabilmektedir.

Bu çalışma ile Carrizo anaçlarının fizyolojik bakımdan belirlenen tuzluluk ve kuraklık stresine karşı gösterdiği tepkiler bitkinin bütün aksamalarında çalışılarak, Carrizonun tuzluluk tolerans mekanizması ile kuraklığa karşı dayanımı, prolin birikimi ve mikoriza ile olan ilişkilerinin araştırılması osmotik uyum mekanizmaları belirlenmiştir. Bu doğrultuda, ülkemizde turunca alternatif anaç olarak tercih edilen Carrizo'nun abiyotik stres faktörleri (tuzluluk-kuraklık) karşısında gösterdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler ile savunma mekanizmaları araştırılmış olup, sonuçta uzun, sürdürülebilir turunçgil yetiştiriciliğine katkılar sağlamak amaçlanan araştırmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Seralarında yürütülen araştırma da bitki ölçümleri 15 Kasım – 15 Şubat tarihleri arasında 30 günde bir olmak üzere sonuçlandırılmıştır.

Bitki büyüme ve gelişmesi üzerine incelenen parametrelerin sonuçlarında çap ölçümleri ve bitki boyu üzerine Tuz+Mikoriza (T+M) uygulaması en iyi sonucu verirken, Tuz+Kuraklık+Mikoriza (T+K+M) uygulamasında ise çap ölçüm ve bitki boyu gelişiminde en düşük sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar incelendiğinde Carrizo anacı üzerine T+M uygulamasında stres faktörüne karşı mikorizal kolonizasyonun bitki çap gelişimini ve bitki boyunu olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Aynı şekilde T+K+M uygulamasında ise çapraz stres faktörü altındaki bitkilerde mikorizal kolonizasyonun belirleyici bir rol oynamadığı sonucuna ulaşılmıştır. Tuz stresi altındaki bitkilerde mikorizal kolonizasyonun bitki büyüme parametrelerini olumlu etkilediği sonucuna ulaşılmıştır.

Bitki boyu ve çap ölçümü sonuçlarında T+M uygulamasına en yakın ve yüksek değer olarak T+PR uygulaması analiz edilmiş olup tuz stresinde dışarıdan prolin uygulamasının tuz stresinin bitki büyüme ve gelişmesi parametrelerini olumlu etkilemiştir. Prolin'in kuraklık stresinde ise bu parametreler üzerinde belirleyici bir rol oynamadığı saptanmıştır.

Uygulamalar arasında toprak üstü ve altı organların yaş ve kuru ağırlık ölçüm sonuçları bakıldığında yaprak yaş ağırlığı incelendiğinde en yüksek bulgular T+M ve T+PR olurken yaprak yaş ağırlıkları bakımından en düşük değer T+K uygulamasında belirlenmiştir. Gövde yaş ağırlık oranında da yaprak yaş ağırlığına benzer olarak T+M uygulaması başarılı sonuç vermiş olup, en düşük sonuçlar T+K+M, K+M uygulamaları en düşük analiz oranını göstermiştir. Kök yaş ağırlığı değerinde ise en yüksek değeri K+M uygulaması göstermiştir.

Her bir bitki için homojen büyüklükte ki saksılar (16 cm derinliğinde 9x9 cm en x boy ebatındaki, 0,85 lt hacmine sahip hava budamaya uygun kare saksılar) yetiştirilen Carrizo çöğürleri büyüme ve gelişme ölçümleri üzerinden değerlendirildiğinde stres uygulamaları varlığında mikorizal enfeksiyonun büyüme parametreleri üzerine başarılı sonuç verdiği görülmektedir. Buna ilaveten Prolin uygulamasının da çöğürlerde özellikle tuz stresinde önemli olduğu ve bitki stres toleransını artırıcı yönde etki yaptığı saptanmıştır. Tuz stresinin birlikte mikoriza ile simbiyotik yaşam üzerine Carrizo çöğürlerinde başarılı sonuçlara ulaşılmış olması, arbusküler mikorizal fungus ile inokülasyonunun tuzlu koşullarda yetişen turuncgil çöğürlerinin büyümesini artırdığı düşünülmektedir.

Çalışmada incelenen fizyolojik yaprak parametreleri sonuçlandırılmıştır.

Klorofil indeks değeri bakımından tek ve en yüksek değer 139,4 ile M uygulaması olmuştur. Klorofil indeks değeri bakımından diğer uygulamalar incelendiğinde ise belirgin bir fark ortaya koymamaktadır. M uygulaması dışında kalan diğer faktörler arasında ise en düşük sonucun Kontrol (87,0) bitkilerinde ulaşıldığı kaydedilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak Carrizo çöğürlerinde yürütülen denemede klorofil indeks değeri bakımından M uygulamasının diğer uygulamalara göre önemli ölçüde etkin rol oynadığına ulaşılmıştır.

İncelenen diğer bir parametre ise klorofil flüoresans miktarı olup, her bitki örneği için, fotosentetik verim belirlenmiş olup QY - Kuantum Verimi hesaplanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda klorofil flüoresans değeri (QY) bakımından tek ve en yüksek değer (0,65) ile M uygulaması olmuştur. Yapılan analiz sonucu klorofil flüoresans değerinin en düşük olduğu grupta K (0,50), T+K (0,52), K+M (0,52) değerleri ile uygulamalar arasındaki farklılık saptanmıştır. Klorofil flüoresans değeri için diğer uygulamalar incelendiğinde ise istatistiki olarak aynı grubu oluşturmakta, belirgin bir fark ortaya koymamaktadır. Bu sonuçlardan yola çıkarak klorofil flüoresans değeri bakımından M uygulamasının diğer uygulamalara göre önemli ölçüde katkı sağladığı belirlenmiştir. Buna ilaveten en düşük grubu oluşturan değerlerin Kuraklık stresi uygulanan bitkiler de olduğu görülmüş olup kuraklık stresinin bitki de kuantum verimi üzerine daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Carrizo çöğürlerinde kuraklık stresi altında klorofil flüoresans değerleri azalmış, kuantum veriminde (QY) düşük sonuçlara ulaşılmıştır. Carrizo çöğürlerinde de kuraklık stresi net fotosentezi olumsuz etkilemektedir. Çalışma da Carrizo çöğürleri üzerine mikoriza kolonizasyonunun yaprak parametreleri üzerine pozitif etki ettiği saptanmıştır.

Carrizo çöğürleri arasında yapılan farklı uygulamalar sonucu yapraklardaki bitki besin elementlerinin oranları incelenmiştir. Yaprak analizi için ölçümü yapılan uygulamalar; Kontrol, T, T+PR, T+M, K+PR, K+M ve M olmak üzere analiz edilmiştir.

Azot için en yüksek değer sadece topraksız besleme formülasyonu ile yetiştirilen kontrol (3,6 %) grubunda ölçülmüştür. Fosfor için en yüksek değerler topraksız besleme formülasyonu ile yetiştirilen kontrol (0,21 %) ve tuz uygulanan bitkiler T (0,21 %) grubunda ölçülmüştür. T+M (0,18 %), K+PR (0,18 %) ve K+M (0,17 %) değerleri ile uygulamalar arasında en düşük grubu oluşturmaktadır. Potasyum için ise yapraklarda belirlenen miktar T+M ve T olmak suretiyle en yüksek değerler ölçülmüştür.

Genel bir ifade ile bitki besin elementleri açısından uygulamalar arası en yüksek değerler incelendiğinde; Kalsiyum (3,26 %) K+M uygulaması için, Magnezyum (0,29 %) M uygulaması için yüksek değerler göstermiştir. Deneme de mikoriza kolonizasyonunun Carrizo çöğürlerinde yaprakta Ca ve Mg miktarını arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Ancak Zn miktarı tüm uygulamalar için önemli bir fark yaratmamıştır.

K+M uygulaması (40,3 ppm) ile Mangan için, (282,9 ppm) ile Demir için en yüksek sonucu göstermektedir. K+M uygulaması kuraklık stresi altındaki Carrizo çöğürlerinin mikorizal kolonizasyonu ile bu elementler için istatistiki olarak önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Genel olarak kuraklık ile mikorizal ilişki Ca, Mn ve Fe miktarlarında artışa neden olurken, P için en düşük düzeyi göstermektedir. Diğer elementler açısından ise önemli bulunmamıştır.

Kök bölgesinde bitki besin elementleri incelendiğinde; azot için uygulamalar arası farklılıklar en yüksek değer T+K ile çapraz stres faktörü etkisi altındaki bitkilerde görülmüştür. Fosfor elementi için uygulamalar arası en yüksek değerler Kontrol ve T+K uygulamalarında görülmüştür. En düşük değer T uygulamasında kaydedilmiş olup, diğer uygulamalar açısından gruplandırma önem arz etmemektedir. Potasyum için en yüksek değer lider olarak K+PR uygulamasında en düşük değerler ise K+M, T+K+M ve M uygulamaları olmuştur. Kalsiyum için en yüksek değerler K+M ve M uygulamalarını kapsamaktadır. En düşük değerler grubunu ise stres faktörlerinin oluşturduğu belirlenmiştir. Magnezyum içeriği bakımından en yüksek değer kontrol grubunda olup, en düşük değer ise K+M uygulamasında saptanmıştır.

Bakır elementi için en iyi sonuç K uygulamasında, en düşük değer ise T+PR uygulamasında belirlenmiştir. Bu durum da Kuraklık stresinde Cu konsantrasyonunun köklerde alımının artması bitki için toksik etki yaratabilecek bir besin elementinin alımını arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Çinko için en yüksek değerler Kontrol, T+K, T+M uygulamalarını gösterirken K+PR uygulamasında en düşük analiz değerine ulaşılmıştır.

Mangan için en yüksek değerler K+M ve M uygulamasında olup en düşük analiz değeri T+PR uygulamasında belirlenmiştir. Diğer uygulamalar için analiz değerleri ara grupta yer almaktadır.

Demir elementi için yedi ayrı analiz grubu altında inceleme yapılmış olup, en iyi sonuca K+M uygulamasında ulaşılmıştır. K+PR uygulaması ise en düşük analiz sonucunu oluşturmaktadır.

Bor analizinde köklerde en iyi grubu M, K+M ve T+M uygulamaları oluşturmuştur. Mikorizal kolonizasyon oluşmuş bitkilerde ve tuz-kuraklık streslerinde enfekte edilmiş mikorizanın bor alımı üzerine etkisi olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber en düşük değer T uygulamasında analiz edilmiştir.

Mikorizal kolonizasyon Mn miktarlarında artış sağlarken, Cu miktarı üzerine mikorizal kolonizasyon uygulamasına herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu analiz değerine göre mikorizal kolonizasyonun Cu miktarı alımını kısıtladığı sonucuna varılmıştır. Mn miktarındaki en büyük artış K+M ve M uygulamasında görüldüğünden dolayı bu

durumun mikoriza ile birlikte kuraklık üzerine sinerjistik bir etki olabileceği düşünülmüştür

Carrizo çöğürlerinde kök bölgesinde yapılan sayımlarda kök enfeksiyonu bakımından en yüksek kolonizasyonun T+M (%95) ve K+M (%95) uygulamasında olduğu belirlenmiştir Tuz stresi ve kuraklık stresinin bitki bünyesi üzerine etkili olan uygulamalarında mikorizal kolonizasyonun arttığı, stres faktörlerinin kolonizasyonu arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durumun bitki stres faktörlerinin etkisi altındayken daha çok besin elementlerine ihtiyaç duyduğu ve bu nedenle mikorizal birliğin sağladığı pozitif etkiden dolayı enfeksiyonun arttığı düşünülmektedir.

Deneme süresince Carrizo çöğürlerine yapılan uygulamalar sonunda, mikoriza enfekte edilmiş bitkiler ve yetiştirme ortamları analiz edilmiştir. Yetiştirme ortamı üzerine yapılan analiz için köklerin değiştiği bölgelerden alınan 10 g'lık toprak örneğinde mikoriza sporlarının sayımı yapılmıştır. Uygulamalar arası sayım miktarlarında en yüksek değer T+K+M (161) gösterdiği değer olup, en yakın ikinci değer K+M (160) uygulamasında sayılmıştır. Diğer uygulamalar ise, T+M (117), M (75) adet mikoriza spor sayımı yapılmıştır. Mikoriza sayımının kök enfeksiyon yüzdesi gibi stres faktörleri altında arttığı saptanmıştır. Kök bölgesinde mikoriza miktarı stres faktörü / faktörleri etkisi altında bitki bünyesinde kolonizasyon artmakta, bitki – mikoriza ilişkisinin güçlenmekte olduğu belirlenmiştir.

Antioksidan enzim analiz sonuçlarında ise uygulamalar arasında önemli ve özgün sonuçlar kaydedilmiştir. MDA miktarının T+PR uygulamasında en yüksek değeri içermesi ve diğer antioksidan analizler için miktarların stres faktörlerinden özellikle tuz uygulamalarında arttığı saptanmıştır.

Yaprak dokularında yapılan analizde Prolin miktarında uygulamalar arası herhangi bir farkın bulunmaması stres miktarının bitki bünyesinde maksimum düzeyde bulunmasından dolayı dışsal prolin uygulamasının bitki üzerine bir etkisi olmadığı sonucunu ortaya çıkarmıştır. Prolin miktarında bir değişim olmaması bitki dokularındaki prolinin yeterli düzeyde olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Köklerde yapılan prolin analizinde ise M uygulamasının en düşük grupta yer alması Mikorizal kolonizasyonun köklerde daha aktif rol oynamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbott, L.K., Robson, A.D., Jasper, D.A. and Gazey, C. 1992. What is the role of VA mycorrhizal hyphae in soil. In *Mycorrhizas in Ecosystems* (Eds.) D. J. Read, H. D. Lewis., A. H. Fitter, and Alexander, C.A.B International.
- Abdel-Baki GK, 1996. Response of some plants to the interactive effect of salinity and organic acids. M.Sc. Thesis, El-Minia Univ., El-Mina, Egypt. 1- 187.
- Abdel-Latef AA, 2005. Salt tolerance of some wheat cultivars. Ph.D.Thesis, South valley Univ. Qena, Egypt. 1-159.
- Abdel-Samed HM, Azooz MM. 2002. Salt tolerance of maize cultivars. Bull. Fac. Sci. Assiut. Univ. 31: 263-269
- Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sankar, B., Gopi, R., Somasundaram, R. ve Panneerselvam, R., 2007. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59, 150-157.
- Abdullah, Z., ve Ahmad, R. 1990. Effect of Pre- and Post-Kinetin Treatments on Salt Tolerance of Different Potato Cultivars Growing on Saline Soils. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 165(2-3), 94-102.
- Ábrahám, E., Rigó, G., Székely, G., Nagy, R., Koncz, C. ve Szabados, L., 2003. Light-dependent Induction of Proline Biosynthesis by Abscissic Acid and Salt Stress is Inhibited by Brassinosteroid in *Arabidopsis*, *Plant Molecular Biology*, 51 (3), 363-372.
- Abu-Muriefah, S.S. 2015. Effects of sitosterol on growth, metabolism and protein pattern of pepper (*Capsicum annum L.*) plants grown under salt stress conditions. *Intl J Agri Crop Sci*, 8(2), 94-106.
- Adak, N. 2009. Topraksız Kültürde Yetiştirilen Çileklerin Verim ve Kalitesi Üzerine Değişik Yetiştirme Ortamlarının Etkileri. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 232 sayfa.
- Agarwal, S., and Pandey, V. 2004. Antioxidant Enzyme Responses to NaCl Stress in *Cassia angustifolia* *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.doi:10.1023/b:biop.0000047152.07878.e7
- Akay, A. ve Karaarslan, E. 2012. Mikoriza Aşılannmış Kudret Narı (*Momordica charantia*) Bitkisine Farklı Dozlarda Fosforlu Ve Demirli Gübre Uygulamasının Yaprak Klorofil İçeriğine Etkisi. *Iğdır Üniv. Fen Bilimleri Enst. Der.* 2(3): 103-108.
- AKİB, 2018. Akdeniz İhracatçı Birlikleri (AKİB), Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği Değerlendirme Raporu, Türkiye Genel. www.akib.org.tr Erişim Tarihi: 12.04.2018.
- Akpınar, Ç. 2004. Farklı Mikoriza Türleri ve Spor Sayılarının Değişik Kültür Bitkilerinde Mikorizal Enfeksiyon ve Bitki Gelişimine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, (Yüksek Lisans Tezi).
- Aksoy,U., Hepaksoy, S. and Can, H.Z., Anaç, S., Ul M.A., Dorsan, F., Anaç, D., Okur, B., Kılıç, C.C.,1998. The Effect of Rootstocks on Leaf Characteristics and

- Physiological Response of Satsuma Mandarins Under Saline Conditions. 25th IHC Symposium on Culture Techniques with Special Emphasis on Environmental Implications, Disease, Pest Control and Integrated Pest Strategies, Acta Horticulture, 513:169-176.
- Alam, S. M., 1994. Nutrient Uptake by Plants Under Stress Conditions, Handbook of Plant and Crop Stress (M. Pessarakli, ed.). p. 227-246, Marcel Dekker, New York.
- Alexieva, V., Ivanov, S., Sergiev, I. and Karanov, E., 2003. “ Interaction between stresses”, Bulg. J. Plant Physiol., Special Issue, 1-17
- Alexieva V, Ivanov S, Sergiev I, Karanov E 2005. Interaction Between Stress Bulg. J. Plant Physiol, Special Issue, 1-17.
- Al-Harbi, A., Hejazi, A. and Al-Omran, A. 2016. Responses of grafted tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to abiotic stresses in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.005>.
- Al-Karaki, G. N. 2000. ‘Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress’. *Mycorrhiza*, 10(2), 51–54. doi:10.1007/s005720000055.
- Al-Karaki, G.N. 2006. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Scientia Hort.* 109, 1-7.
- Anaç, D., Okur, B., Kılıç, C., Aksoy, U., Can, H.Z., Hepaksoy, S., Anaç, S., Ul, M.A., Dorsan, F., 1997. Potassium Fertilization to Control Salinization Effects. Regional Workshop on Food Security in The WANA Region, The Essential Need for Balanced Fertilization, İzmir, Turkey. Ed. A.E. Johnston, IPI, Bern Switzerland, Imprimerie Brinkmann Mulhouse, France. 370-377p.
- Anju, S., Thakur, P.S. and Duvivedi, M.P. 1994. Rapid evaluation of apple varieties for drought tolerance. *Dep. Bas. Sci. Hort. For. Iniv.* 51, 16-21.
- Anjum, S.A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M.F., Man, C., & Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6: 2026-2032.
- Anthon, G. E., & Barrett, D. M. 2003. Thermal inactivation of lipoxygenase and hydroperoxytrienoic acid lyase in tomatoes. *Food Chemistry*, 81(2), 275–279. doi:10.1016/s0308-8146(02)00424-7.
- Antunes, V. And Cardoso, E.J.B.N. 1991. .Growth and nutrient status of Citrus plants as influenced by mycorrhiza and phosphorus application. *Plant and Soil.* 131.(1):11-19.
- Apse, M.P. ve Blumwald, E., 2007. Na⁺ Transport in Plants, *FEBS Letters*, 581, 2247-2254.
- Aranda, R.R. and Syvertsen, J. P. 1996. The Influence of Foliar Applied Urea Nitrogen ve Salina Solutions on Net Gas Exchange of Citrus Leaves, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121, 501-506.
- Arbona, V., Flors, V., Jacas, J., García-Agustín, P., & Gómez-Cadenas, A. 2003. Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidant Responses of Carrizo citrange, a

- Salt-Sensitive Citrus Rootstock, to Different Levels of Salinity. *Plant and Cell Physiology*, 44(4), 388–394.
- Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C., 2002. "Oxidative stress and antioxidative systems in plants", *Curr. Sci.*, 82: 1227–1238
- Asada K. 1994. Production and action of active oxygen in photosynthetic tissue. In: Foyer CH, Mullineaux PM, editors. *Causes of photooxidative stress and amelioration of defence system in plants*. Boca Raton (FL): CRC Press. pp 77104.
- Asensio, J. L., Ardá, A., Cañada, F. J., & Jiménez-Barbero, J. 2012. Carbohydrate–Aromatic Interactions. *Accounts of Chemical Research*, 46(4), 946–954. doi:10.1021/ar300024d
- Ashraf, M. 1989. "The Effects of NaCl on Water Relations Chlorophyll and Protein and Proline Contents of Two Cultivars of Black Gram (*Vigna mungo L.*)", *Plant Soil*, 119, 205-210.
- Ashraf, M. 1994. "Breeding for Salinity Tolerance in Plants", *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13(1), 17-42.
- Ashraf, M. ve Harris, P.J.C., 2004. Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants, *Plant Science*, 166, 3-16
- Ashraf, M. and Ali, Q. 2007. "Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus L.*)". *Environmental and Experimental Botany*, 63, 266-273.
- Ashraf, M. ve Foolad, M. R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
- Atul-Nayyar A, Hamel C, Hanson K & Germida J 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza* 19: 239–246
- Augé, R.M. 2001. "Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis" *Mycorrhiza*, 11: 3–42.
- Avcıoğlu R., Khalvati M.A., Demiroğlu G. ve Geren H. 2003. "Ozmatik Basıncın Bazı Kültür Bitkilerinin Erken Gelişme Dönemindeki Etkileri-1, Çimlenme Ve Büyüme Özellikleri", *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2): 1-8.
- Awank., Y.B., Atherton., J.G., Taylor., A.J., 1993. Salinity Effects on Strawberry Plants Grown Rock Wool, Growth and Leaf Relations. *J.Hort. Sci.*, 68:783-790.
- Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Braga De Abreu, C.E. and GomesFilho, E. 2006. "Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes." *Environmental and Experimental Botany*, 56, 87-94.
- Azooz MM, Shaddad MA, Abdel-Latef AA, 2004. The accumulation and compartmentation of proline in relation to salt tolerance of three sorghum cultivars. *Ind. J. Plant Physiol.* 9:1-8.
- Bagni, N., Pistocchi, R. 1992. "Polyamine Metabolism and Compartmentation in Plant Cells. In: "Nitrogen Metabolism of Plants", (K Mengel, DJ Pilbeam eds),

- Clarendon Press, Oxford, 229-248.
- Bagni, N., Tassoni, A. 2001. "Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants" *Amino Acids*, 20: 301–317.
- Bagyaraj, D. J. and Manjunath, A. 1981. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-dissolving bacterium (*Bacillus circulans*) on plant growth and ^{32}P -uptake. *Soil. Biol. Biochem.* 13:105-108.
- Balal R.M., Ashraf M. Y., Khan M. M, Jaskanı M. J. and Ashfaq, M. 2011. Influence Of Salt Stress On Growth and Biochemical Parameters Of Citrus Rootstocks, *Pak. J. Bot.*, 43(4): 2135-2141
- Banfalvi, G., 2011. "Cellular Effects of Heavy Metals", Springer, 348 p.
- Banulus,J., F. Legaz,E. and Primo-Millo, 1990. Effect of salinity on uptake and distribution of chloride and sodium in some citrus scion rootstock combinations. *J.of Hort. Sci.*, 65(6):715-724
- Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Batool, N., Shahzad A. and Ilyas N. 2014. "Plants and Salt stress" *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. Available online at www.ijagcs.com IJACS/2014/7-14/1439-1446.
- Bavaresco, L., and C. Fogher. 1996. Lime-induced chlorosis of grapevine as affected by rootstock and root infection with arbuscular mycorrhiza and *Pseudomonas fluorescens*. *Vitis* 35: 119-123.
- Belkhodja, R., Morales, F., Abadia, A., Gomez-Aparisi, J. 1994. "Chlorophyll Fluorescence as a Possible Tool for Salinity Tolerance Screening in Barley (*Hordeum vulgare* L.)", *Plant Physiol*, 667- 673.
- Bergmeyer, N., 1970. *Methoden der enzymatischen, Analyse*, vol. 1. Akademie Verlag, Berlin, pp. 636–647 pp.
- Bernstein, L., 1975. Effects of salinity and sodicity on plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.* 13:295-312.
- Berthomieu, P., Con      , G., Nublat, A., Brackenbury, W.J., Lambert, C., Savio, C., Uozumi, N., Oiki, S., Yamada, K., Cellier, F., Gosti, F., Simonneau, T., Essah, P.A., Tester, M., V  ry, A-A., Sentenac, H. ve Casse, F., 2003. Functional Analysis of AtHKT1 in Arabidopsis Shows that Na^+ Recirculation by the Phloem is Crucial for Salt Tolerance, *The EMBO Journal*, 22(9), 2004-2014.
- Beyaz, R. 2014. Farklı korunga (*Onobyrrichis viciifolia Scop.*) ekotiplerinin tuza toleransının belirlenmesi ve in vitro mutagenesis tekniği aracılığıyla yeni korunga hatlarının geliştirilmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Ababilim Dalı, Ankara.
- Biçici, M. 2011. Bitki Hastalık Etmenleri ile Biyolojik Mücadelenin Başarısını Arttırmada Mikoriza'nın Rolü. *Türk. Biyo. M  c. Derg.* 2 (2): 139-174.
- Blondel, W. P. 1967. "Quelques Aspects du Remplacement du Bigaradier et de l'utilisation de Porte Greffe Nouveaux", *Fruit*, 22 (1): 2-26.

- Blum, A. 1985. "Breeding Crop Varieties For Stres Environments, Critial Rewievs in Plant Sciences", 199-238.
- Blumwald, E., 2000. Sodium Transport and Salt Tolerance in Plants, Current Opinion in Cell Biology, 12, 431-434.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. ve Jensen, R.G., 1995. Adaptations to Environmental Stresses, The Plant Cell, 7, 1099-1111.
- Bohra, J. S. and Doffling, K., 1993. Potassium nutration of rice (*Oryz sativa* L.) varieties under NaCl salinity. Plant and Soil, 152, 299-303.
- Bolat, N. Y 2006. "Doğal ekosistemde bulunan mikoriza türlerinin kültür bitkilerinde adaptasyonun sağlanması" Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, 64 s.
- Bonneau, R.H., Sheridan, J.F., Feng, N., Glaser, R. 1991. "Stress-induced effects on cell-mediated innate and adaptive memory components of the murine response to herpes simplex virus infection", Brain Behav. Immun, 5:274-295.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. ve Hasegawa, P.M., 2005. Plant Adaptive Responses to Salinity Stress, Plant Abiotic Stress, Blackwell Publishing Ltd., 270p.
- Bousslama, M., Schapanagh, W. T. 1984. "Stres Tolerance in Soybeans 1. E- valuation of Three Screening Techniques for Heat and Drought Tolerance", Crop Sci. 24, 933-937.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254 pp.
- Bray, E.A, 1997. "Plant Responses to Water Deficit", Trends Plant Sci., 2: 48-54
- Braz., J. 2005. "Copper in plants", *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 145-146.
- Breckle, S-W., 2002. Salinity, Halophytes and Salt Affected Natural Ecosystems, Salinity: EnvironmentPlants-Molecules, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 552p
- Brugnoli, E. and Lauteri, M. 1991. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 nonhalophytes. plant Physiol., 95, 628-635.
- Campbell, M.K., 1991. Biochemistry, Harcourt Brace Jovanovich College Publishers, Fort Worth, USA.
- Candan, F. 2013. "Some Observations On Plant Karyology and Investigation Methods", Current Progress in Biological Research, 394 p.
- Cantrell, I.C. ve Linderman, R. G. 2001. "Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity" Plant and Soil, 233: 269-281.
- Castle, W. S. 1984. "Choosing a Rootstocks for Citrus", The Citrus Industry, 65 (1): 20-28.

- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A.M., Francia, E., Mare`, C., Tondelli, A., Stanca, A. M. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research*, 105 (1-2): 1-14.
- Cavagnaro TR, Jackson EL, Six J, Ferris H, Goyal S, Asami D, Scow KM 2006. Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability, and soil aggregates in organic tomato production. *Plant and Soil* 282: 209–225.
- Chapman, H.D., 1968. The Mineral Nutrition of Citrus . in "The Citrus Industry". (Ed. W.Reuther, L.D. Batchelor. H. D. Webber.) 2:127-289.
- Charles SA., and Halliwell, B. 1980. Effect of hydrogen peroxide on spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplast fructose biphosphatase, *Biochem J.* 1980 Aug 1;189(2):373-6.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P. ve Pereira, J. S., 2003, Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant, *Functional Plant Biology*, 30 (3), 239-264.
- Chen, Z.H., Zhang, L.C., Wu, G.L., Zhang, S.L., 1992. Photosynthesis of Citrus Under Water Stres.
- Chen, C.T., Chen, L.M., Lin, C.C. and Kao, C.H. 2001. Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Science*, 160, 283 –290.
- Chen, Z., Cuin, T.A., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B.P. ve Shabala, S., 2007. Compatible Solute Accumulation and Stress-mitigating Effects in Barley Genotypes Contrasting in Their Salt Tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58, 4245-4255
- Chen, J.B., Yang, J.W., Zhang, Z.Y., Feng, X.F. and Wang, S. M. 2013. Two P5CS genes from common bean exhibiting different tolerance to salt stress in transgenic Arabidopsis. *Journal of Genetics*. 92, 461–469
- Cheong, M.S. ve Yun, D-J., 2007. Salt-stress Signaling, *Journal of Plant Biology*, 50(2), 148-155.
- Cho, K., Toler, H., Lee, J., Owenley, B., Stutz, J.C., Moore, J.L., Auge, R.M., 2006. Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *J. Plant Physiol.* 163, 517–528.
- Cleary, B.D., Greaves, R.R., 1979. (Çeviri: Eyüboğlu, A.K.). Fidan. Orm. Araşt. Enst. Dergisi, Cilt: 25, Sayı: 2, 31-67, Ankara.
- Cole, P.J. and McCloud, P.I., 1985. Salinity and climatic effects on the yield of Citrus. *Aust.J. Exp. Agric.* 25, 711-717 pp.
- Colla, G. Roupheal, Y. Cadarelli, M. and Rea, E. 2006. Effect of salinity on yield, fruit quality, leaf gas exchange, and mineral composition of grafted watermelon plants. *HortScience*, 41(3), 622-627.
- Constantine, N. G., Stanley, K. R., 1977. Superoxide Dismutases. *Plant Physiol*, 59(309), 314.
- Couée, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, C. ve El Amrani, A. 2004. ‘‘Involvement

- of polyamines in root development”, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 76, 1–10.
- Cram, W.J., Torr, P.T. ve Rose, D.A., 2002. Salt Allocation During Leaf Development and Leaf Fall in Mangroves, *Trees*, 16, 112-119.
- Cramer, G.R., Lauchli, A. and Epstein, E. 1986. Effects of NaCl ve CaCl₂ on Ion Activities in Complex Nutrient Solutions and Root Growth of Cotton. *Plant Physiol.*, 81, 792-797.
- Cuartero, J. and Fernandez-Munoz , R. 1999. “Tomato and salinity”. *Sci. Horticulture*, 78, 83–125.
- Cuartero, J. ve Fernández-Muñoz, R., 1998. Tomato and salinity, *Scientia Horticulturae*, 78 (1), 83-125
- Çağlar, S., Sütyemez, M. ve Bayazit, S. 2004. Seçilmiş Bazı Ceviz (*Juglans regia*) Tiplerinin Stoma Yoğunlukları. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (2), 169-174.
- Dajic, Z., 2006. Salt Stress, Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants, ISBN-13 978-1- 4020-4224-9, Dordrecht, The Netherlands, 345p.
- Dalkılıç, Z. ve Özbek, C. 2017. “Üç Yapraklı Portakal Çöğürlerinin Büyümesi Üzerine Mikoriza ve Solucan Gübresinin Etkisi, Nagami Kamkatı Aşı Kalemelerinin Kobalt-60 Işınlamasına Dayanımının Belirlenmesi ve Farklı Genotiplerin RAPD Belirteçleri ile Tanımlanması”, *Adü Ziraat Derg.* 2017;14(1):1-7 — doi: 10.25308/aduziraat.304139
- Daşgan HY, Aktaş H, Abak K, Çakmak İ 2002. “Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses”. *Plant Science*. 163: 695-703.
- Daşgan, H.Y., Koç, S., 2009. Evaluation of Salt Tolerance in Common Bean Genotypes by Ion Regulation and Searching for Screening Parameters. *Journal of Food, Agriculture Environment*, 7(2): 363-372.
- Davies, F.T., Potter, Jr. and Linderman, R.G. 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content. *J. Plant Physiol*, 139, 289-294.
- Davies, F.S. ve Albrigo, L.G. 1994. “Rootstocks”, In: Athern,J., Rees. A. (Eds.), *Citrus*. CAB International, Wallingford, UK, 254p.
- Davies, F.S. ve Albrigo, L.G. 2005. “Turunçgiller”, (Çeviren: Z.Dalkılıç), Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, No:22, Aydın.
- Debouba, M., Gouia, H., Suzuki, A., Ghorbel, M. H. 2006. NaCl stress effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato “*Lycopersicon esculentum*” seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 163(12), 1247–1258.
- Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants, *Plant Journal*, 4,215-223.
- Delzoppo, M., Galleschi, L., Onnis, A., Pardossi, A., 1999. Effect of Salinity on Water Relations, Sodium Accumulation, Chlorophyll Content and Proteolytic Enzymes

- in a Wild Wheat. *Biologia Plantarum*, 42(1): 97- 104.
- Demir, S., Ellialtıoğlu, Ş., Yaşar, F., Kuşvuran, Ş., Yücer, M. ve Türközü, D. 2012. Tuz Stresi Uygulanmış Yerli Kavun Aksesyonlarına ait Fidelerde İyon Dağılımının İncelenmesi. *Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Dergisi*, 1(2), 30-45
- Demiral, T. and Turkan, İ. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 247-257.
- Diaz-Curti, S.A., Hernandez, C., Lopez-Maza, I., Salazar-Loredo, R.X., Gonzalez-Sanchez, A., 2004. Drought Tolerance of 27 Citrus Rootstocks Growing in a Nursery. *International Society of Citriculture Abstracts*. p145.
- Dionisio-S. M.L. and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*. 135: 1–9.
- Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. 2001. “Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L.Cv. *Azad*)”. *Journal of Experimental Botany*, 52 (358), 1101-1109.
- Djilianov, D., Georgieva, T., Moyankova, D., Atanassov, A., Shinozaki, K., Smeeken, S.C.M., Verma, D.P.S. ve Murata, N., 2005. Improved Abiotic Stress Tolerance in Plants by Accumulation of Osmoprotectants–gene Transfer Approach, *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 19, 63-71.
- Doğan, M., Avu, A., Can, N., E., Aktan, A., 2008. “Farklı Domates Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Tuz Stresinin Etkisi”. *Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, SDÜ fen edebiyat fakültesi, fen dergisi (e-dergi)*., 3(2) 174-182
- Doğan, M., Tozlu, I., Akgül, H. 2013. “Lead accumulation and toxicity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings”, *Fresenius Environmental Bulletin*, 22, 2350-2356.
- Dolferus R. 2014. To grow or not to grow: A stressful decision for plants. *Plant Sci.*, 2229: 247-261.
- Dölarslan M, ve Gül, E. 2012. Toprak Bitki İlişkileri Açısından Tuzluluk. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5(2): 56-59.
- Dubey, R.S., 1994, *Handbook of Plant and Crop Stress*, (M. Pessarakli, ed.). Marcel Dekker, New York 277p.
- Edrava, A.. 1999. “Molecular Basis of Stress Plants”, *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri*. Ege Üniv. Ziraat Fak.-EBİLTEM Yayını, 1-33s.
- Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N. and Koyro, H.W., 2012. Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte, *AJCS*, 6(2): 357-368.
- Eltner, E. F., 1987, *Metabolism of activated oxygen species*. I.D.D. Davies (ed.) *The Biochemistry of Plants. Biochemistry of Metabolism*. Academic Press. San Diego, CA., 2:252-315.
- Erismann, N., Machado, E.C., Sant, M.L., Tucci, A., 2008. Photosynthetic Limitation

- by CO₂ Diffusion in Drought Stresses Orange Leaves on Three Rootstocks. *Photosynth Res.*, 96:163-172.
- Estan, M. T. 2005. Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *Journal of Experimental Botany*, 56(412), 703–712.
- Evans, P.T., Malmberg, R.L. 1989. ‘‘Do polyamines have roles in plant development?’’, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 235-269.
- Evelin, H., Kapoor, R., & Giri, B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany*, 104(7), 1263–1280. doi:10.1093/aob/mcp251
- FAO, 2017. Statistical Yearbook of the Food And Agricultural Organization for the United Nations. (<http://faostat.fao.org>) (Erişim tarihi: 29.05.2018).
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA., 2009. Plant dorught stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, (29), 185-212.
- Farrant J.M., 2000. ‘‘A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species’’, *Plant Ecol.*, 151: 29-39
- Feng, G., Zhang, F.S., Tian, X.L., Li.C.Y., Tang, C., Rengel, Z. 2002. ‘‘Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots’’ *Mycorrhiza*, 12:185-190 .
- Fischer, R. A. and Wood, J.T. 1979. Drought resistance in spring wheat cultivars. III.* Yield associations with morpho-physiological traits, *Australian Journal of Agricultural Research* 30(6) 1001 – 1020.
- Flores, H.E., Protacio, C.M., Signs, M.W. 1989. ‘‘Primary and Secondary Metabolism of Polyamines in Plants’’, In: *Recent Advances in Phytochemistry*, 23: 329-393.
- Flowers, M. L. 1977. A laboratory test of some implications of Janis’s groupthink hypothesis. *Journal of Personality and Social Psychology*, 35, 888–896
- Ford, H.W. 1966. ‘‘Rootstocks for Spreading Decline Araes. Citrus station Mimeo Report CES’’, Lake Alfred, Florida, 66 (11): 1-7.
- Foyer, C.H. and Halliwell, B., 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133, 21–25 pp.
- Foyer CH, Descourvieres P, Kunert KJ. 1994. Protection against oxygen radicals, an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell Environ* 17:507523
- Fu, Shao-Y., Feng, X.-Q., Lauke, B., & Mai, Y.-W. 2008. Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate–polymer composites. *Composites Part B: Engineering*, 39(6), 933–961. doi:10.1016/j.compositesb.2008.01.002
- Furlani, P.R., Zanetti, M. and Bataglia, O.C. 2009. Citrus Nursery Production In Soilless Culture. *Acta Hort.* (ISHS) 843:255-260.
- Gadallah, M.A.A. 1999. Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* response to

- salt stress. Biol. Plant. 42, 249–257.
- Gallardo, M., Matilla, A., Munoz De Rueda, P. ve Sanchezcalle, I.M. 1996. ‘‘Role of Polyamines in Growth and Development’’, Ars pharm. 37;(1); 17-27.
- Galston, AW., Shawney-Kaur, R. 1995. ‘‘Polyamines as Endogenous Growth Regulators’’ In: Plant Hormones (Davies PJ Editör) 1-12., 158-173.
- Ganieva, R., Allahverdiev, S., Bayromova, S. ve Nafisi, S. 1997. ‘‘Effect of Polystimuline-K on maize (*Zea mays* L.) Seedlings Pigment Apparatus Formation on The Sodium Chloride Salinity’’, Tr. J.Botany, 21,253-257.
- Garcia-Sanchez, F., Syvertsen, P.J., Gimeno, V., Botia, P., Perezperez, G., 2007. Responses to Flooding and Drought Stress by Two Citrus Rootstock Seedlings with Different Water-Use Efficiency. Physiologia Plantarum. 130:532–542.
- Gardner, F. E. and Horanic, G.E. 1961a. ‘‘A Comparative Evaluation of Rootstocks for Valencia and Parson Brown Oranges on Lakeland Fine Sand’’, Proc. Florida Sta.
- Gardner, F.E. and Horanic, G.E. 1961b. ‘‘Evaluation of Citrus Rootstocks for Florida’’, Citrus and Vegetable Magazine, 24 (10): 12, 26, 27, 30.
- Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J. F., & Dommes, J. 2002. Plant Growth Regulation, 37(3), 263–285.
- Germana, C., Sardo, V., 1996. Relationship Between Net Photosynthesis and Transpiration Rate in Citrus Trees. Proc. Int. Soc. Citriculture, 1117–1121.
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Dolatabadian, A., Jamshidi, E., & Khodaei-Joghan, A. 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. Agricultural Water Management, 117, 106–114.doi:10.1016/j.agwat.2012.11.007
- Gilbert G, Gadush M, Wilson C, Madore M, 1998. Amino acid accumulation in Sink and source tissues of *Coleus blumei* Benth during salinity stress. J. Exp. Bot. 49: 107-114.
- Giovannetti, M.; Mosse, B. 1980. ‘‘An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots’’. New Phytologist, v. 84, n. 3, p. 484-500,.
- Giri, B., Kapoor, R. ve Mukerji, K. G. 2007. ‘‘Improved Tolerance of *Acacia nilotica* to Salt Stress by Arbuscular Mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be Partly Related to Elevated K/Na Ratios in Root and Shoot Tissues’’ Microbial Ecology, 54(4):753-76.
- Glenn, E.P., Brown, J.J. ve Blumwald, E., 1999. Salt Tolerance and Crop Potential of Halophytes, Critical Reviews in Plant Sciences, 18(2), 227-255
- Gluffrida F, Martorana M, Leonardi C, 2009. How sodium chloride concentration in the nutrient solution influences the mineral composition of tomato leaves and fruit. HortScience, 44(3): 707-711.
- Goldschmidt, E.E. and Koch, K.E., 1996. Citrus. (E. Zamski and A.A Schaffer editor). Photoassimilate Distribution in Plants and Crops. Marcel Dekker Inc. , New York, 1994., pp: 797-823.

- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G. ve Bending, G.D. 2006. “Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming” *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 113(1-4):17-35.
- Grattan, S., 1993. Sodium and Chloride Toxicity in Plants. *Agricultural Salinity and Drainage*, Ed: Hanson, B., S. Grattan, A. Fulton, Univ. of California Irrigation Programme, Univ. Of California, Davis, USA.
- Greenway, H. and Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 31: 149-190.
- Grewal, H.S., 2010. Water Uptake, Water Use Efficiency, Plant Growth and Ionic Balance of Wheat, Barley, Canola and Chickpea Plants on A Sodic Vertisol With Variable Subsoil NaCl Salinity. *Agricultural Water Management* 97: 148–156.
- Guclu, K., Altun, M., Ozyurek, M., Karademir, S. E., & Apak, R. 2006. Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(s1), 76–85. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01347.x
- Guy, C.L., Niemi, K.J. ve Brambi, R. 1985. “Altered Gene Expression During Cold Acclimation of Spinach”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 3673-3677.
- Günes, A., Cicek, N., İnal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Güneri, E., Güzelordu, T., 2006. Genotypic Response of Chickpea (*Cicer Arietinum L.*) Cultivars to Drought Stress Implemented at Pre- and Post-Anthesis Stages and its Relations with Nutrient Uptake and Efficiency. *Plant Soil Environ.*, 52 (8): 368–376.
- Gür, N., Topdemir, A., Munzuroğlu, Ö ve Çobanoğlu, D., 2004. Ağır Metal İyonlarının (Cu^{+2} , Pb^{+2} , Hg^{+2} , Cd^{+2}) Clivia sp. Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri. *F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi*, 16(2), 177-182.
- Hajiboland, R., & Farhanghi, F. 2010. Remobilization of boron, photosynthesis, phenolic metabolism and anti-oxidant defense capacity in boron-deficient turnip (*Brassica rapa L.*) plants. *Soil Science and Plant Nutrition*, 56(3), 427–437. doi:10.1111/j.1747-0765.2010.00478.x
- Hale, M.G., Orcutt, D.M. 1987. *The Physiology of Plants under Stress*.-John Wiley and Sons, New York
- Halliwell, B. And Gutteridge, J. M. C., 1985, *Free radicals in Biology and medicine*. Clarendon Press, Oxford.
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford: Clarendon Press.
- Hamada, E.A.M., Homoud, M.A., Kirkwood, R.C. ve El-Sayed, H. 1992. “Studies on The Adaptation of Selected Species of The Family Gramineae A. Juss to Salinization”, *Afaeddes Repertorium*, 103, 128-798.
- Hanzawa, Y., Takahashi, T., Michael, A.J., Burtin, D., Long, D., Pineiro, M., Coupland, G. ve Komeda, Y. 2000. “Acaulis, an Arabidopsis Gene Required For Stem Elongation, Encodes a Spermine Synthase. *EMBO Journal*, 19, 4248–4256.

- Hare, P.D., Cress, W.A. ve Staden, J.V., 1998. Dissecting the Roles of Osmolyte Accumulation During Stress, *Plant, Cell and Environment*, 21, 535-553.
- Harley, J. L. and Smith, S. E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. London.
- Haroun, S.A. 2002. Fenugreek growth and metabolism in response to gibberellic acid and sea water. *Assuit University Journal of Botany*, 31, 11-12.
- Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F. ve Del Rio, L.A., 1995. Salt-induced Oxidative Stress in Chloroplasts of Pea Plants, *Plant Science*, 105, 151-167.
- Hernandez-Jimenez, M. J., Lucas, M. M. ve Felipe, M. R. 2002. ‘‘Antioxidant defence and damage in senescing lupin nodules’’, *Plant Physiol, Biochem.*, 40, 645–657.
- Hetrick, B.A.D and Wilson, G.W.T. 1989. Suppression of Mycorrhizal Fungus Spore Germination in Non-Sterile Soil: Relationship to Mycorrhizal Growth Response in Big Bluestem. *Mycologia* 81(3):382-390.
- Ho, L.C., P. Adams, X. Z. Li, H. Shen, J. Andrews, Z.H. Xu, 1995. Responses of Ca-efficient and Ca-inefficient tomato cultivars to salinity in plant growth, calcium accumulation and blossom-end Rot. *J.of Hort. Sci.* 70(6):909-918.
- Hodgson R.W. 1967. Horticultural Varieties of Citrus. In: W. Reuther (ed.), *The Citrus Industry*, 1: 431-589, Univ. Of Calif. Div. Agr. Sci., Berkeley, California.
- Hoffman, R., Tufariello, J. ve Bisson, M. A. 1989. Effect of divalent cations on the sodium permeability of *Chara corallina* ve freshwater grown *Cahara buckelli*. *J. of Exp. Bot.*, 40, 875-881.
- Hooker, J. E. and Atkinson, D. 1996. Arbuscular mycorrhizal fungi-induced alteration to tree-root architecture and longevity. *P. Z. Pflanzenernähr, Bodenk*, 159. 229-234.
- Houghton, R. A. 2005. Aboveground Forest Biomass and the Global Carbon Balance. *Global Change Biology*, 11(6), 945–958. doi:10.1111/j.1365-2486.2005.00955.x
- Howladar, S. M. 2014. A novel *Moringa oleifera* leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 69–75.
- Hsiao, T.C. and A. Läuchli, 1986. Role of potassium in plant-water relations. ‘In *Advances in Plant Nutrition*’ (B. Tinker and A. Läuchli, eds.) 2: 281- 312. Preage Scientific, New York
- Hu, M., Guo, Y., Shen, Y., Zhang, L., 2006. Environmental Regulation of Citrus Photosynthesis. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao (The Journal of Applied Ecology)*. 17(3):535-540.
- Huang, J. and Redman, R.E. 1995. Solute adjustment to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. *J. Plant Nutrition*, 18, 1371-1389.
- Hussein, T.M., Chandrasekhar, T., Hazara, M., Sultan, Z., Saleh, B.K. ve Gopal, G.R., 2008. Recent Advances in Salt Stress Biology – a Review, *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 3(1), 8-13
- Iba K, 2002. ‘‘Acclimative Response To Temperature Stress In Higher Plants:

- Approaches Of Gene Engineering For Temperature Tolerance'', Annu. Rev. Plant Biol, 53: 225-245.
- Ibrahim, Z.M., Ghazi, S.M., Nabawy, D.M., 2013. ''Alleviation Of Heavy Metals Toxicity In Waste Water Used For Plant Irrigation'', International Journal of Agronomy and Plant Production, 4, 5, 976-983.
- Igarashi, Y., Yoshika, Y., Sanada, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Wada, K. and Shinozaki, K. 1997 Characterization of the gene for Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase and correlation between the expression of the gene and salt tolerance in *Oryza sativa*. Plant Molecular Biology, 33, 857–865.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Gomathinayagam, M., Riadh, K., Ine`s, J., et al., 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. Acta Physiol. Plant 31 (3), 427-436.
- Jefferies, R. L., 1981. Osmotic adjustment and the response of halophytic plants to salinity, Bio Science, 31 (1), 42-46.
- Jeffries, P. and Dodd, J. C. 1991. The use of mycorrhizal inoculents in forestry and agriculture. IN: D.K. Arora et al. (Eds.) Handbook of Applied Mycology. Soil and Plants. vol. 1. Marcel Dekker. USA.
- Jie, Z., Yuncong, Y., Yuping, Z., 2008. Effects of Drought Stress on the Photosynthesis of Wild Apricot. ISHS Acta Horticulturae 772: XXVII International Horticultural Congress - IHC2006: International Symposium on Enhancing Economic and Environmental Sustainability of Fruit Production in a Global Economy.
- Jimenez-Bremont, J.F., Becerra-Flora, A., Hernandez-Lucero, E., Rodriguez-Kessler, M., Acosta Gallegos, J.A., Ramirez-Pimentel, J.G. 2006. Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine, Biologia Plantarum, 50, 763-766.
- John, T., 1992. "The Importance of Mycorrhizal Fungi and Other Beneficial Microorganisms in Biodiversity Projects", Western Forest Nursery Associations Meeting, 14-18.
- Jones, H. G., A.N. Lakso, J.P. Syvertsen, 1985. Physiological Control of Water Status in Temperate and Subtropical Fruit Trees. Horticultural Reviews, Volume 16.
- Jones RL, Mac Millan J, 1987. Gibberellins. In: "Advanced plant physiology" (Ed) Wilkins. M.B. The Bath press. Avon. Pp.1-52 .
- Jung, S., 2004. "Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought", Plant Sci., 166: 459-466
- Juniper, S., Abbott, L. 1993. "Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity", Mycorrhiza 4:45–57 .
- Kacar, B., Katkat, A.V., Öztürk, Ş., 2002, Bitki Fizyolojisi ,Uludağ Univ., Güçlendirme Vakfı Yayın No:198. 493-533s.
- Kadioglu, I. Ve Yanar Y. 2004. Allelopathic Effects of Plant Extracts Against Seed Germination of Some Weeds, Asian Journal of Plant Sciences, 3 (4): 472-475.
- Kaiser, W.M., 1979. "Reversible inhibition of the Calvin cycle and activation of the

- oxidative pentose phosphate cycle in isolated intact chloroplasts by hydrogen peroxide”, *Planta*, 145: 377-382 .
- Kalac, P. ve Krausova, P. 2004. “A Review of Dietary Polyamines: Formation, Implications for Growth and Health and Occurrence in Foods”, *Food Chemistry*. Volume 90, issue 1-2, pages 219-230.
- Kalefetoğlu, T. ve Ekmekçi, Y. 2005. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18 (4): 723-740.
- Kaplankıran, M., Demirköser, H.T., Toplu, C. ve Uysal, M. 2001. “The Structure of Citrus Production. The Status of Rootstocks and Nursery Tree Production in Turkey”, 6th. World Congress of The International Society of Citrus Nurserymen, 9-13 July 2001, Brazil: 190-195.
- Kara Ö. ve Tilki F. 2001. Mikoriza ve Ormancılıkta Kullanımı. *İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi*, Seri: B, Cilt: 51, Sayı: 1. pp. 127-139.
- Karamanos, A.J. and Papatheohari, A.Y. 1999. Assessment of Drought Resistance of Crop Genotypes by Means of the Water Potential Index. *Crop Science*, 39, 1792-1797.
- Karandashov, V. ve Bucher, M., 2005. “Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas”, *TRENDS in Plant Science*, 10 (1): 22-29.
- Kavi Kishor, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P. and Sreenivasulu, N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 88, 424- 438.
- Keller, C. and Hammer, D., 2004. “Metal availability and soil toxicity after repeated croppings of *Thlaspi caerulescens* in metal contaminated soils”, *Environmental Pollution*, 131, 243-254.
- Kendirli, B., Çakmak, B. ve Uçar, Y., 2005. Salinity in the Southeastern Anatolia Project (GAP), Turkey: Issues and Options, *Irrigation and Drainage*, 54, 115-122.
- Kılıç, A. ve Teymen, A. 2008. Determination of mechanical properties of rocks using simple methods. *Bulletin of Engineering Geology and the Environment*, 67(2), 237–244. doi:10.1007/s10064-008-0128-3
- Kishor, P.B.K., Hong, Z., Miao, G.H., Hu, C.A.A. and Verma, D.P.S. 1995. Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology*, 108, 1387–1394.
- Koç, N.K., Kayım, M., Çınar, A., 1997. Protoplast Füzyonu (Somatik Hibridizasyon) ile Limonda Uçkurutan Hastalığına (*Phoma tracheiphila* Kanc. et Ghik.) Dayanıklı Bitkiler Elde Etme Olanaklarının Araştırılması. *Tr. J. of Agriculture and Forestry* 23:157-168.
- Koide, R.T. ve Mosse, B., 2004. “A history of research on arbuscular mycorrhiza”, *Mycorrhiza*, 14:145-163.

- Korkmaz, K. 2007. Küresel ısınma ve tarımsal uygulamalara etkisi. Alatarım Dergisi, 6 (2): 43-49.
- Koske, R. E.; Gemma, J. N. A 1989. "Modified procedure for staining roots to detect mycorrhizas". Mycological Research, v. 92, n. 4, p. 486-488,
- Kosová, K., Vítámvása, P., Prášila, I. T. ve Renaut, J., 2011. Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response, Journal of Proteomics, 74, 1301-1322.
- Kozłowski, T.T., 1997, Responses of Woody Plants to Flooding and Salinity. Tree Physiology Monograph, Heron Publishing, Victoria, Canada, 1:2-29
- Kozłowski, T.T., Pallardy, S.G., 1997. Physiology of Woody Plants, Academic Press, San Diego.
- Kramer, G.F. ve Wang, C.Y. 1990. "Effects of Chilling and Temperature Preconditioning on The Activity of Polyamine Biosynthetic Enzymes in Zucchini Squash", J. of Plant Physiol., 36(1), 115-119.
- Kuiper, P.J.C., Kuiper, D., Schuit, J. 1988. "Root functioning under stress conditions: an introduction" Plant and Soil, 111(2): 249-253.
- Kuşvuran Ş. 2004. Kavunda (*Cucumis melo L.*) Tuz Stresine Toleransın Belirlenmesinde Antioksidant Enzim Aktivitesi ve Lipid Peroksidasyonundan Yararlanma Olanakları. Ankara Üniversitesi, Fen Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi, 110 s.
- Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., Abak, K., Yaşar, F. 2007. Bazı kavun (*Cucumis sp.*) genotiplerinin tuz stresine tepkileri. Journal of Agricultural Sciences 13(4): 39-404.
- Kuşvuran A. ve Saruhan V. 2011. Güneydoğu Anadolu Bölgesi Koşullarında Bazı Yonca (*Medicago sativa L.*) Çeşitleri Ve Genotiplerinin Verim Performanslarının Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 48 (2), 131-138
- Kuznetsov V, Shorina M, Aronova E, Stetsenko L, Rakitin V, Shevyakov N, 2007. NaCl and ethylene dependent cadaverine accumulation and its possible protective role in the adaptation of the common ice plant to salt stress. Plant Sci .172: 363- 370.
- Landis, T.D. 1989. Mineral Nutrients and Fertilization. In: Landis, T.D., Tinus, R.W., McDonald, S.E. and Barnett, J.P., Eds., The Container Tree Nursery Manual, Vol. 4, Department of Agriculture, Forest Service, Washington DC, 1-67.
- Larcher, W. 1995. Photosynthesis as a Tool for Indicating Temperature Stress Events. Ecophysiology of Photosynthesis, 261-277.
- Lauchli, A., 1986. Responses and Adaptations of Crops to Salinity. Acta Hort., 190: 243-246.
- Lawlor, D. W., Tezara W. 1995. Effects of water stress on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. In Photosynthesis: from Light to Biosphere IV, pp. 625-628. Ed P Mathis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

- Lewitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses., Academic Press New York, USA 2:365-1453p.
- Liming, H., Renxue, X., Kaibing, Z., Renhua, H., Mingyuan, W., Meilian, T., 2006. Effects of Different Rootstocks on the Photosynthesis of Satsuma Mandarin. ACTA HORTICULTURAE SINICA 2006, Vol. 33 Issue (5) :937-941
- Liu, M. S., and Hellebust, J. A. 1976. Effects of salinity and osmolarity of the medium on amino acid metabolism in *Cyclotella cryptica*. Canadian Journal of Botany, 54(9), 938–948. doi:10.1139/b76-098
- Liu, K., Fu, H.H., Bei, Q.X. ve Luan, S. 2000. ‘Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements’, Plant Physiology, 124, 1315–1325.
- Lloyd, J., Kriedeman, P.E., Aspinall, D., 1989. Comparative sensitivity of “Prior Lisbon” Lemon and “Valencia Orange” trees to foliar sodium and chloride concentrations. Plant Cell Environ., 12:529.
- Lutts, S., Almansouri, M., Kinet, J.M. 2004. Salinity ve water stress have contrasting effects on the relationship between growth ve cell viability during ve after stress exposure in durum wheat callus. Plant Sci. 167 , 9–18.
- Lüttge, U., 2002. Mangroves, Salinity: Environment Plants-Molecules, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p
- Maas, E.V. and Hoffman, G.J., 1977. Crop salt tolerance-current assesment. J. irrig. and Drainage Div. Am. Soc. Civil Eng. 103 (IR2): 115-134.
- Maas, E.V., 1986. Salt tolerance in plants. Applied Agricultural Research. Appl. Agric. Res., 1: 12-26.
- Maas, E.V., 1990, Crop Salt Tolerance. Agricultural Salinity Assessment and Management, Am. Soc. Civil Eng. Manuals and Reports on Eng. Practises, No.71: 262-326.
- Maas, E.V., 1993. Salinity and Citriculture. Tree Physiology. 12: 195-216. Heron Publishing, Victoria, Canada.
- Maathuis, F.J.M., Altmann, A., 1999. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: The basis of cellular K⁺ /Na⁺ ratios. Ann. Bot., 10:123-133.
- Makela, P., Kontturi, M., Pehu, E. and Somersalo, S., 1999, Photosynthetic Response of Drought and Salt-Stressed Tomato and Turnip Rape Plants to Foliar-Applied Glycinebetaine. Physiologia Plantarum, 105:45-50.
- Manoj P. ve Lata, C.. 2011. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. Journal of Experimental Botany, 62(14), 4731–4748. doi:10.1093/jxb/err210
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, 657- 680, London.
- Marschner, H. 1997. Mineral Nutrition of Higher Plants.. 2.nd. Edition Academic Press, London. p. 889.

- Martin, C. A., Stutz, J. 2004. "Interactive effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of *Capsicum annuum* L." *Mycorrhiza*, 14:241–244 .
- Martínez-Ballesta, M. R. Dominguez-Perles, M.C. Carvajal, C. García-Viguera, D.A. Moreno, *Food Chem.* 75 2010. 383.
- Mata-González R, Meléndez-González R 2005. Growth characteristics of mexicano regano (*Lippia berlandieri schauer*) under salt stress. *Southwest. Nat.*, 50: 1-6.
- Matsubara, Y., Harada, T. ve Yakuwa, T. 1995. Effect of Inoculum Density of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungal Spores and Addition of Carbonized Material to be Soil on Growth of Welshonion Seedlings. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 64(3): 549-554.
- Mc Kersie, B.D. and Leshem, Y.Y., 1994. Salt Stress. *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Pages 55–78. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- McDonald S.E., 1984. Irrigation in Forest-Tree Nurseries: Monitoring and Effects on Seedling Growth. In: Duryea M.L. and Landis T.D. (eds), *Forest Nursery Manual*, Martinus Nijhoff /DrW. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands, 107–121.
- Mckimmie, T. and A. K. Dobrenz 1991. Ionic concentrations and water relations of alfalfa seedlings differing in salt tolerance. *Agron. J.*, 83: 363-367.
- Meharg, A.A. 1994. "Integrated Tolerance Mechanisms Constitutive and Adaptive Plant Responses To Elevated Metal Concentrations In The Environment", *Plant Cell Environ.*, 17, 989-993.
- Mehrotra, V. S. 2005. "Mycorrhiza: Role and Applications", Allied Publishers, Hindistan 355s.
- Mengoni, A., Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbrielli, R., Bazzicalupo, M., 2000. "Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis", *Molecular Ecology*, 9, 1319-1324.
- Miranda, M. G., ve Ilangovan, K. 1996. Uptake of Lead by *Lemna gibba* L.: Influence on Specific Growth Rate and Basic Biochemical Changes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(6), 1000–1007.
- Miransari, M., Bahrami, H. A., Rejali, F., & Malakouti, M. J. 2008. Using arbuscular mycorrhiza to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5), 1197–1206.doi:10.1016/j.soilbio.2007.12.014
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination, *Trends Plant Science*, 11, 15-19.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M. 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salttolerant tomato species *Lycopersicon Pennellii*. *Journal of Experimental Botany*, 55(399), 1105-1113.
- Moghaieb, R.E.A., Saneoka, H. ve Fujita, K., 2004. Effect of Salinity on Osmotic

- Adjustment, Glycinebetaine Accumulation and the Betain Aldehyde Dehydrogenase Gene Expression in Two Halophytic Plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*, *Plant Science*, 166, 1345-1349
- Mosse, B. 1981. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Research for Tropical Agriculture. Research Bulletin, Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, 82p.
- Mostafa DM, 2004. Metabolic imbalance and salinity tolerance of two maize cultivars. M.Sc. Thesis. El-Minia Univ. Elminia, Egypt 1-195.
- Muhammed, S., Akbar, M., Neue, H.U., 1987. Effect on Na/Ca and Na/k ratios in saline culture solution on the growth and mineral nutrition of rice (*Oryza sativa*). *Plant and Soil*, 104:57-62.
- Mundree, S.G, Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Willigen, C.V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J.M. and Thomson J.A., 2002."Physiological and molecular insights into drought tolerance", *Afr. J. Biotechnol.*,1: 23-38
- Mundree, S.G. and Farrant, J.M., 2000. " Some physiological and molecular insights into the mechanisms of desiccation tolerance in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* Baker. In Cherry, J.H., Ryther, A. and Locy, R.D (eds)., *Plant Tolerance to Abiotic Stresses in Agriculture: Role of Genetic Engineering*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp 201-222
- Munns, R. ve Termaat, A., 1986. Whole-Plant Responses to Salinity. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13: 143-160
- Munns, R. ve Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651- 681.
- Munns, R., 2002. Comparative Physiology of Salt and Water Stres. *Plant Cell Environ.* 25: 239-250.
- Munns, R., Hare, R., James, R.A. and Rebetzke, G.J.: 2000. Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 69–74,
- Munzuroğlu, Ö. ve Nazmi G. 2000. "Ağır Metallerin Elma (*Malus sylvestris* Miller cv. Golden)'da Polen Çimlenmesi ve Polen Tüpü Gelişimi Üzerine Etkileri", *Türk J.Biol.* (24) 677-684. TÜBİTAK.
- Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Nelsen, C.E. 1987. The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems.
- Nicola, S., Egea-Gilabert, C., Niñirola, D., Conesa, E., Pignata, G., Fontana, E. and Fernández, J.A. 2015. Nitrogen And Aeration Levels Of The Nutrient Solution In Soilless Cultivation Systems As Important Growing Conditions Affecting Inherent Quality Of Baby Leaf Vegetables: A Review. *Acta Hort. (ISHS)* 1099:167-177.
- Nieves, M., Cerda, A., Botella, M., 1991. Salt tolerance of two lemon scions measured by leaf chloride and sodium accumulation. *J. Plant Nutr.* 14, 623- 636.
- Nogues, S., Baker, R.N., 2000. Effects of Drought on Photosynthesis in Mediterranean

- Plants Grown Under Enhanced UV-B Radiation. Journal of Experimental Botany. Vol:51, No. 348, pp. 1309–1317.
- Nunes, M., D, Soares, A.C.F., Soares W.D. and Ledo, C.A.D. 2006. Natural Mycorrhizal Colonization of Citrus Rootstocks Under Field Conditions. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41:3, 525-528.
- Nunez-Ramirez, F., Gonzalez-Mendoza, D., Grimaldo-Juarez, O., Diaz, L.C., 2011. Nitrogen Fertilization Effect on Antioxidants Compounds in Fruits of Habanero Chili Pepper (*Capsicum chinense*). Int. J. Agric. Biol., 13: 827-830.
- Olympos, C.M. 1999. Overview of soilless culture; advantages, constraints, and perspectives. In: Choukr-Allah R. (ed), Protected cultivation in the Mediterranean region, Ciheam/Iav Hassan II, 307-324.
- Oono, Y., Seki, M. and Nanjo, T. 2003. Monitoring expression profiles of Arabidopsis gene expression during rehydration process after dehydration using a 7000 fulllength cDNA microarray. The Plant Journal, 34, 868–887.
- Ortaş, İ. 1997. Mikoriza nedir. ? TUBİTAK dergisi, Şubat 1997 sayı 351, Ankara.
- Ortaş, İ. 1998. Toprak ve Bitkide Mikoriza. Workshop, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, 20-22 Mayıs Adana 61 s.
- Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K, Tran LP. 2014. Response of plants to water stress. Front. Plant Sci., 5: Article 86.
- Ouzounidou, G., Ilias, I., Tranopoulou, H. ve Karataglis, S., 1998, Amelioration of copper toxicity by iron on spinach physiology, Journal of Plant Nutrition, 21, 2089-2101.
- Özcan, M., ve Ulubelde, M., 1984. "Turunçgil Anaçları", Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Proje ve Uygulama Genel Müdürlüğü, Ege Bölge Zirai Araş. Ens. Yayınları No:50, Menemen, 37 sayfa.
- Özerdem, H., Çolakoğlu, H., Dokuzoğlu, M., Mendilcioğlu, K., 1987. Kuzey Kıbrıs (Güzelyurt) Valencia portakal bahçelerinin beslenme durumu. E.Ü.Z.F Dergisi, 42(2):77-90.
- Özpay, T., 2008. Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Kuraklık Stresine Olan Tepkilerinin Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64s, Van.
- Öztürk A., 1998. Kuraklığın Kışlık Buğdayın Gelişmesi ve Verimine Etkisi. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23 (1999) 531-540.
- Öztürk, L., Demir, Y. 2002. "In vivo and in vitro protective role of proline", Plant Growth Regulation 38: 259–264.
- Pandey, H.C., Baig, M.J., Chandra, A., Bhatt, R.K., 2010. Drought Stress Induced Changes in Lipid Peroxidation and Antioxidant System in Genus Avena. Journal of Environmental Biology. 31(4): 435-440.
- Parida A, Das AB, Das, P 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora* in hypotonic cultures. J.Plant Biol. 45: 28-36.

- Parida AK, Das AB, Mittra B, 2003. Effect of NaCl stress on the structure, pigment complex composition and photosynthetic activity of mangrove *Bruguiera parviflora* chloroplasts. *Photosynth.* 41: 191-200.
- Parida, A.K. ve Das, A.B., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- Parvaiz, A. ve Satyawati, S., 2008. Salt Stress and Phytobiochemical Responses of Plant - a Review, *Plant Soil Environment*, 54(3), 89-99.
- Pasternak, D., 1987. Salt Tolerance and Crop Production - A Comprehensive Approach. *Ann. Rev. Phytopathology.*, 25:271-291p.
- Percival, G.C., Boyle, C. and Baird, L., 1999, The influence of calcium supplementation on the freezing tolerance of woody plants. *J. Arboric.* 25(6):285-291p.
- Perveen, S., Shalata, M. and Ashraf, M. 2014. Tricantanol-induced changes in growth, yield, leaf water relations, oxidative defense system, mineral, and some key osmoprotectants in *Triticum aestivum* under saline conditions. *Turk J Bot*, 38, 896-913.
- Pessarakli, M. ve Szabolcs, I., 1999. Soil Salinity and Sodidity as Particular Plant/Crop Stress Factors, *Handbook of Plant Crop Stress*, ISBN 0-8247-1948-4, New York, 1198 p
- Pinhero, R. G., & Paliyath, G. 2001. Antioxidant and Calmodulin-Inhibitory Activities Of Phenolic Components In Fruit Wines and Its Biotechnological Implications. *Food Biotechnology*, 15(3), 179–192. doi:10.1081/fbt-100107629
- Pinhero, R., Liaw, P., Bertens, K. ve Yankulov, K., 2004. Three cyclin-dependent kinases preferentially phosphorylate different parts of the C-terminal domain of the large subunit of RNA polymerase II, *European Journal of Biochemistry*, 271 (5), 1004-1014.
- Pitman, M.G. ve Läuchli, A., 2002. Global Impact of Salinity and Agricultural Ecosystems, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p
- Porcel, R., Ruiz-Lozano, M. 2004. “Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress”, *Journal of Experimental Botany*, 55(403): 1743-1750.
- Qishlaqi, A., Moore, F., Forghani, G. 2008. “Impact of untreated wastewater irrigation on soils and crops in Shiraz suburban area”, SW Iran. *Environ. Monit. Assess.*, 141, 257-273.
- Quamme HA, Stushinoff C. 1983. Resistance to environmental stress. In: Moore JN, Janick J (Eds), *Methods in Fruit Breeding*. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana
- Rai, M.K., Kalia, R.K., Singh, R., Gangola, M.P. and Dhawan, A.K. 2011. Developing stress tolerant plants through in vitro selection-An overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 89-98.
- Ramachandra Reddy, A., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P. and Sumithra, K., 2004. “Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry

- (*Morus alba* L.) cultivars”, *Environ. Exp. Bot.*, 52: 33-42
- Ream, C.L. and Furr, J.R., 1976. Salt tolerance of some Citrus species, relatives and hybrids tested as rootstocks. *J.Amer. Soc. Hort. Sci.*, 101 (3):265-267p.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P., Sumithra, K., 2004. Differential Antioxidative Responses to Water Stress Among Five Mulberry (*Marus alba* L.) Cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 52: 33- 42.
- Reinhold, L. ve Guy, M., 2002. Function of Membrane Transport System Under Salinity: Plazma Membrane, Salinity: Environment-Plants-Molecules, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p
- Requena, N., Serrano, E., Ocón, A. ve Breuninger, M. 2007. “Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment” *Phytochemistry*, 68(1):33-40.
- Richardson, A., Mooney, P., andersen, P., Dawson, T. and Watson, M., 2009. HortResearch Publication- How do Rootstocks Affect Canopy Development <http://www.hortnet.co.nz/publications/science/r/richarson/rootcan.htm>
- Robe E, 1990. Stress Physiology: The functional significance of the accumulation of nitrogen containing compound. *J. Hot. Sci.* 65: 231-243.
- Rodríguez-Gamir, J., Intrigliolo, D. S., Primo-Millo, E., & Forner-Giner, M. A. 2010. Relationships between xylem anatomy, root hydraulic conductivity, leaf/root ratio and transpiration in citrus trees on different rootstocks. *Physiologia Plantarum*, 139(2), 159–169.doi:10.1111/j.1399-3054.2010.01351.x
- Romero, L., Belakbir, A., Ragala, L. and Ruiz, M.J. 1997. Response of plant yield and leaf pigments to saline conditions: Effectiveness of different rootstocks in melon plants (*Cucumis melo* L.). *Soil Sci. Plant Nutr.* 43, 855-862.
- Ruiz-Lozano, J. M., Gomez, M., Azcon, R. 1995. “Influence of different Glomus species on the time-course of physiological plant responses of lettuce to progressive drought stress periods” *Plant Science*, 110(1):37-44.
- Ruiz-Lozano, J. M., 2003. “Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies” *Mycorrhiza*, 13:309–317 .
- Sakamoto, A. ve Murata, N., 2002. The Role of Glycine Betaine in the Protection of Plants from Stress: Clues from Transgenic Plants, *Plant Cell and Environment*, 25, 163-171.
- Salama, S., Trivedi, S., Busheva, M., Arafa, A.A., Garab, G. ve Erdei, L. 1994. “Effects of NaCl Salinity on Growth, Cation Accumulation, chloroplast Syructure and Function in Wheat Cultivars Differing in Salt Tolerance”, *J. Plant Physiol.*, 241-247.
- Salisbury, F. B. ve Ross, C. W., 1992, *Plant physiology*, Ed. 4, Wadsworth Publishing Company, p. 682 California.
- Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2002. ACTCAT, a novel cis-acting element for proline-and hypoosmolarity-responsive

- expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 130, 709–719.
- Saunt, J., 2000. ‘‘Citrus Varieties of the World’’, Sinclair Int. Limited, Norwich, England.
- Savvas, D., Gianquinto, G., Tuzel, Y. and Gruda, N. 2013. Soilless culture, Good agriculture practices for greenhouse vegetable crops. Principles for Mediterranean climate areas, FAO press, ISBN: 978-92-5-107649-1, 303-345.
- Sawahel, W.A. and Hassan, A.H. 2002. Generation of transgenic wheat plants producing high levels of the osmoprotectant proline. *Biotechnology Letters* 24, 721-725.
- Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y. 2006. Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, Türkiye. 530 s.
- Scandalios, J.G. 1997. Oxidative stress and molecular biology of antioxidant defenses. Cold Spring Laboratory Press. United States of America.
- Seemann, J.R. and Critchley, C. 1985. Effects of salt stress on growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta*, 164, 151-162.
- Semerci, H., Öztürk, H., Semerci, A., İzbirak, A., Ekmekçi, Y. 2008. ‘‘Değişik Islah Zonlarından Örneklenen Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* Arnold. subsp. *nigra* var. *caramanica*) Orijinlerinin Dona ve Kuraklığa Dayanıklılıklarının Belirlenmesi’’, Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü Teknik Bülteni No: 21, Ankara, s. 64.
- Sengar, R.S., Gautam, M., Sengar, R.S., Garg, S.K., Sengar, K. ve Chaudhary, R. 2008. ‘‘Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants’’, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 196:73-93.
- Sevengör, Ş., 2010. Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) Tuz Stresine Toleransın Belirlenmesinde Antioksidant Enzim Aktivitelerinin in vitro ve in vivo Olarak İncelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 165 s.
- Sevgican, A., 2002. Örtüaltı Sebzeciliği. Cilt I, E.Ü. Zir.Fak.Yay., No:528, 476 s.
- Sgherry, C.L.M., Pinzino C. and Navari-Izzo, F., 1996. ‘‘Sunflower seedlings subjected to increasing water stress by water deficit: changes in O₂ - production related to the composition of thylakoid membranes’’, *Physiol Plant*, 96: 446-452
- Shalaby, E.E., Epstein, E. ve Qualset, C.O., 1993. ‘‘Variation in Salt Tolerance Among Some Wheat and Triticale Genotypes’’, *J. Agronomy and Crop Science*, 171, 298-304.
- Shalata, A., Mittova, V., M., Guy, M. and Tal, M. 2001. ‘‘Response of cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt dependent oxidative stress: The root antioxidative system’’. *Physiologia Plantarum*, 112, 487-494
- Sharifi, M., Ghorbanli, M., Ebrahimzadeh, H. 2007. ‘‘Improved growth of salinity stressed soybean after inoculation with salt pre-treated mycorrhizal

- fungi.” *Journal of Plant Physiology*, 9:1144-1151 .
- Sharma, P.K. ve Hall, D.O. 1992. “Changes in Carotenoid Composition and Photosynthesis in Sorghum Under Highlight and Salt Stresses”, *J. Plant Physiol.*, 140, 661-666.
- Sharma, P., Dubey, R.S., 2005. “Lead toxicity in plants”, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1): 35-52.
- Sharma, R.K., Agrawal, M., Marshall, F. 2007. “Heavy metal contamination of soil and vegetables in suburban areas of Varansi”, *India, Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, 258–266.
- Sherwin, H.W. and Farrant J.M., 1998. “Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscosa*”, *Plant Growth Regul.*, 24: 202-210 .
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, K. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), 1305-1319.
- Silva-Ortega, C., Ochoa-Alfaro, A.E., Reyes-Agüero, J.A., Aguado-Santacruz, G.A. and Jimenez-Bermont, J.F. 2008. Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46, 82-92.
- Singh B, Singh Y, Ladha JK, Bronson KF, Balasubramanian B, Singh J, Khind JS 2001. Chlorophyll Meter– and Leaf Color Chart–Based Nitrogen Management for Rice and Wheat in Northwestern India. *Agron. J.* 94: 821–829.
- Skewes, M., Grigson, G., Cox, J., 2009. Citrus Rootstock Drought Tolerance. mark.skewes@sa.gov.au
- Slocum, RD. 1991. “Polyamine biosynthesis in plants. In: Slocum RD, Flores HE, editors. *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*”, Boca Raton, FL: CRC Press pp. 23–40.
- Smirnoff N, Cumbes QJ 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4): 1057-1060.
- Smirnoff N., 1993. The Role of Active Oxygen in The Response of Plants to Water Deficit and Desiccation. *New Phytol.*, 125: 27-58.
- Smith, TA. 1970. “Putrescine, Spermidine and Spermine in Higher Plants”, *Phytochemistry*, 9 (7):1479-1486.
- Smith, S. and Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Second Edition, Academic Press. London.
- Smith, S., ve Read, D.J.. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Pres. London, 800 s .
- Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., Masia, A., 2004. Lipxygenase Activity and Proline Accumulation in Leaves and Roots Of Olive Trees in Response to Drought Stress. *Physiologia Plantarum*, 121(1), 58-65.
- Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H. ., Shekar-Shetty,

- H., Savithri, H. ., & Sudhakar, C. 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. *Plant Science*, 141(1), 1–9. doi:10.1016/s0168-9452(98)00204-0
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. Ve Weschke, W., 2000. Differential Response of Antioxidant Compounds to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Seedling of Fox-Tail Millet (*Setaria Italica*). *Physiol. Plant.*, 109: 435-442.
- Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R., 2003. “Antioxidative defence system in upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery”, *Physiol. Plant.*, 119: 503-512
- Stewart, C.R., Voetberg, G. and Rayapati, P.J. 1986. The effects of benzyladenine, cycloheximide and cordycepin on wilting – induced abscisic acid accumulations and induced proline accumulations in barley leaves. *Plant Physiology*, 82, 703-707.
- Strack, D., Fester, T., Hause, B., Schliemann W. ve Walter M.H., 2003. “Arbuscular Mycorrhiza: Biological, Chemical, and Molecular Aspects”, *Journal of Chemical Ecology*, 29(9):1955-1979.
- Stuhlfauth, T., Scheuermann, R., & Fock, H. P. 1990. Light Energy Dissipation under Water Stress Conditions: Contribution of Reassimilation and Evidence for Additional Processes. *PLANT PHYSIOLOGY*, 92(4), 1053–1061. doi:10.1104/pp.92.4.1053
- Sumithra, K., Jutur, PP., Dalton-Carmel, B., Reddy AR. 2006. Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: responses of antioxidative and proline metabolism. *Plant Growth Regulation*, 50: 11-22.
- Sun, W.Q., Li, X-P. ve Ong, B-L., 1999. Preferential Accumulation of D-pinitol in *Acrostichum aureum* Gametophytes in Response to Salt Stress, *Physiologia Plantarum*, 105, 51-57.
- Suzuki, N. ve Mittler, R., 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction, *Physiologia Plantarum*, 126, 45-51.
- Şensoy, S., Demir, S., Turkmen, O., Erdinc, C. ve Savur, O. B. 2007. “Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi” *Scientia Horticulturae*, 113(1):92- 95.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. 3rd Edition. Sinauer Associates. Sunderland. pp.116-119.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. 5th Edition, Sinauer Associates Inc., Sunderland, 782 p.
- Tattini, M, Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N., and Romani, A. 2002. Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 79–86.
- Terzi, R. ve Kadioğlu, A., 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system in *Ctenanthe setosa*, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 48 (2), 89-96.

- Tester, M. ve Davenport, R., 2003. Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants, *Annals of Botany*, 91, 503-527.
- Tiburcio, AF., Altabella, T., Borrell, A., Masgrau, C. 1997. "Polyamine metabolism and its regulation", *Physiologia Plantarum* 100, 664–674.
- Ti-Da, G.E., Fang-Gong, S.U.I., Li-ping, B.A.I., Yin-Yan, L.U., Guangsheng, Z.H.O.U., 2006. Effects of Water Stress on the Protective Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Roots and Leaves of Summer Maize. *Agricultural Sciences in China*. 5(4): 101-105.
- Tisdall, J. M. 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil*, 159(1), 115–121.doi:10.1007/bf00000100
- Topaloğlu K 2010. Tuz Stresinin Chili Biberlerinin Pigment Ve Kapsaisinoid Değişimi İle Peroksidaz Aktivitesi Arasındaki İlişki. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana
- Torrigiani, P., Altamura, M.M., Pasqua, G., Monacelli, B., Serafini-Fracassini, D. ve Bagni, N., 1987. "Free and conjugated polyamines during de novo floral and vegetative bud formation in thin cell-layers of tobacco", *Physiol. Plant.* 70, 453-460.
- Tozlu, I., Moore, G.A. ve Guy, C.L. 2000. "Effects of increasing NaCl concentration on growth, dry mass production, and macro- and micro-element accumulations by *Poncirus trifoliata*," *Aust. J. Plant Physiol.*, 27(1):35-42.
- Treeby, M.T., Henriod, R.E., Bevington, K.B., Milne, D.J., Storey, R., 2007. Irrigation Management and Rootstock Effects on Navel Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Fruit Quality. *Agricultural Water Management* <http://www.elsevier.com/locate/agwat>
- Tripathi, S.B., Gurumurthi, K., Panigrahi, A.K. and Shaw, B.P. 2007. Salinity induced changes in proline and betaine contents and synthesis in two aquatic macrophytes differing in salt tolerance, *Biologia Plantarum*, 51, 110-115.
- Tsokankunku, A., Dzikiti, S., Trebs, I., Meixner, F.X., Milford, J.R., Chipindu, B., 2008. Effects of Shading on Leaf Temperature, Photosynthesis and Water Relations of Two Navel Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) Cultivars. *Geophysical Research Abstracts*, Vol. 10.
- Tuna, A.L. 2014. Influence of foliarly applied different triazole compounds on growth, nutrition, and antioxidant enzyme activities in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under salt stres. *AJCS*, 8(1), 71-79.
- Turan M., Aydın A. ve Kant C. 2011. Hydrogel substrate alleviates salt stress with increase antioxidant enzymes activity of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress, *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6(3), pp. 715-724
- Turner, N. C. ve Madelaine, M. J., 1980. Turgor maintenance by osmotic adjusment: A review and eveluation. *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. Turner, N. C. and Kramer P. J. (eds.), Wiley-Interscience, New York, pp. 87-103.
- Tuteja, N., 2007. Mechanisms of High Salinity Tolerance in Plants, *Methods in Enzymology*, 428, 419-438.

- Tuzcu, Ö. 1978. ‘‘Turunçgillerde Anaç ve Sorunları’’, Çağdaş Tarım Tekniği, 3:31.
- Tuzcu, Ö. 1994. ‘‘Türkiye’de Yetiştirilen Başlıca Turunçgil Çeşitleri’’, Akdeniz İhracatçı Birlikleri Yayınları, Mersin, 71 s.
- TÜİK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Statistical database. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. Erişim tarihi: 12.04.2018.
- Türkmen, Ö., Şensoy, S., Dursun, A. ve Demir, S., 2005. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus and humic acid on the seedling development and nutrient content of pepper grown under saline soil conditions, Journal of Biological Sciences, 5 (5), 568-574.
- Ueda, A., Yamamoto-Yamane, Y. and Takabe, T. 2007. Salt stress enhances proline utilization in the apical region of barley roots. Biochemical and Biophysical Research Communications, 355, 61-66. Doi:10.1016/j.bbrc.2007.01.098.
- USDA, 2017. Citrus: World Markets and Trade, United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service July 2017.
- Üstüner, Ö. 2001. Değişik Harç Ortamlarında Mikoriza Türlerinin Turunç Bitkisinin Büyüme ve Kök Gelişimine Etkisinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, (Yüksek Lisans Tezi).
- Van Assche, F. and Clijsters, H., 1990, Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant Cell Environ., 13, 195-206.
- Vander Willigen, C., Pammenter, N.W., Mundree S.G. and Farrant J.M., 2001. ‘‘Some physiological comparisons between the resurrection grass, Eragrostis nindensis, and the related desiccation-sensitive species, Eragrostis curvula’’, Plant Growth Regul., 35: 121-129
- Vander Willigen, C., Mundree S.G. and Farrant J.M., 2002. ‘‘Tonoplast intrinsic proteins in the resurrection grass, Eragrostis nindensis’’, Gordon Conference, Oxford, UK
- Vicré, M., Sherwin, H.W, Driouich, A., Jaffer, M., Jauneau, A. and Farrant J.M., ‘‘Cell wall properties of hydrated and dry leaves of the resurrection plant Craterostigma wilmsii’’, J. Plant Physiol., 155: 719-726 (1999)
- Vijayan, K., 2009. Approaches for Enhancing Salt Tolerance in Mulberry (Morus L) -A Review, Plant Omics Journal, 2(1), 41-59.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Oliet, J., Peñuelas-Rubira, JL., Jacobs, DF., González, M. 2004. ‘‘Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (Quercus ilex) seedlings after drought hardening in the nursery’’.
- Villora, G., Pulgar, G., Moreno, D. A. and Romero, L. 1997. Salinity treatments and their effect on nutrient concentration in zucchini plants (Cucurbitia pepo L. var. moschata) Aust. J.Exp. Agric. 37, 605-608.
- Vousta, D., Grimanis, A., Sammara, C., 1996. ‘‘Trace elements in vegetable grown in an industrial areas in relation to soil and air particulate matter’’, Environ. Pollut., 94, 3, 325–335.
- Vu, J.C.V., Yelenosky, G., 1988. Water Deficit and Associated Changes in Some Photosynthetic Parameters in Leaves of ‘Valencia’ Orange (*Citrus sinensis* L.

- Osbeck). Plant Physiol. 88:375-378.
- Weimberg, R., 1986. "Growth and Solute Accumulation in 6-Week Old Seedling of *Agropyron Elongatum* Stressed with Sodium and Potassium Salts", Plant Physiol ,67,229-135.
- Weimberg, R., 1987. "Solute Adjustments in Leaves of Two Species of Wheat at Two Different Stages of Growth in Response to Salinity", Physiol. Plant., 70, 381-388.
- Whittington, J. and Smith, F. A. 1992. Calcium-salinity interactions affect ion transport in *Chara corallina*. Plant Cell ve Environ. 15, 727-733.
- Wu, O. S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology, 163: 417–425.
- Wu, C.L., Buszard, B., Teng, C.H., Chen, W.L., Warr, C.G., Tiganis, T., Meng, T.C. 2011. Dock/Nck facilitates PTP61F/PTP1B regulation of insulin signalling. Biochem. J.439(1): 151--159.
- Wyn Jones, R.G. ve Storey, R. 1978. "Salt Stres and Comparative Physiology in The Gramineae, IV.Comparison of Salt Stres in *Saptina Townsendii* and Three Barley Cultivars", Aust. J. Plant Physiol ,5,839-850.
- Wyn Jones, R.G., 1981. "Salt Tolerance in C.B. Johansan (eds), Physiological Processes Limiting Plant Productivity", Butter Worths, London , 271- 292.
- Xiao, Z., Jiang, W., Yu, H., Wang, M. and Li, P. 2008. Substrate water content and nitrogen interactions in growing media: yield, fruit quality, water consumption and water use efficiency on tomato. In International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics 843 (pp. 57-64).
- Xiong, L., Lee, B., Ishitani, M., Lee, H., Zhang, C. and Zhu, J.K. 2001. FIERY1 encoding an inositol polyphosphate 1 phosphatase is a negative regulator of abscisic acid and stress signaling in Arabidopsis. Genes Develpment, 15, 1971-1984.
- Xu, R., Yamada, M. and Fujiyama, H. 2013. Lipid peroxidation and antioxidative enzymes of two turfgrass species under salinity stress. Pedosphere, 23(2), 213-222.
- Yahyaoğlu, Z., 1987. Orman Ağacı Fidanlarının Kalite Özellikleri. Scholender Tekniği Yardımı İle Su Potansiyelinin Ölçülmesi ve Önemi, K.T.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 10, 1-2, 140-151, Trabzon.
- Yakushiji, H., Morinaga, K., and Nonami, H., 1998. Sugar Accumilation and Partitioning in Satsuma Mandarin Tree Tissues and Fruit in Response to Drought Stres. Jour. Amer. Soc. Hort. Sci. 123(4):719–726.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B. and Wang, J., 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings, Acta Physiol. Plant. 30, 433-440 pp.
- Yaşar, F., 2003. Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin in vitro ve in vivo Olarak İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi

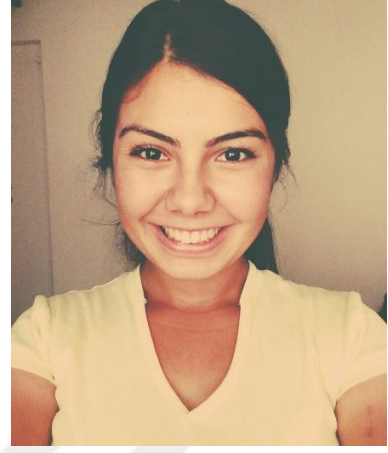
Fen Bilimleri, Doktora Tezi 139 sayfa.

- Yaşar, F., Ellialtıoğlu, S. and Kuşvuran, S. 2006. Determination of anti-oxidant activities in some melon (*Cucumis melo L.*) varieties and cultivars under salt stress. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 81 (4), 627–630
- Yaşar, F., Kuşvuran, Ş. ve Ellialtıoğlu, Ş. 2012. “Tuzluluk ve Kuraklık Stresi Çalışmalarında Antioksidant Enzim Aktiviteleri İle Dayanıklılık Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi”. 9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu, 12-14 Eylül 2012, 472-477, Konya.
- Ye, Z., Rodriguez, R., Tran, A., Hoang, H., Los Santos, D.D., Brown, S. and Vellanoweth, R.L. 2000. “The developmental transition to flowering represses ascorbate peroxidase activity and induced enzymatic lipid peroxidation in leaf tissue in *Arabidopsis thaliana*”. *Plant Sci.*, 158, 115-127.
- Yeo, A.R. ve Flowers, T.J. 1983. “Varietal Differences in The Toxicity of Sodium Ions in Rice Leaves”, *Physiol. Plant*, 59, 189-195.
- Yeşiloğlu T., Yılmaz B., Incesu M. ve Çimen B. 2018. “The Turkish citrus industry”, xxx. International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC), İstanbul, Türkiye, <http://www.ihc2018.org/files/downloads/Vol57-No4.pdf> [Son erişim tarihi: 30.06.2018].
- Yetişir, H. and Uygur, V. 2009. Plant growth and mineral element content of different gourd species and watermelon under salinity stress. *Turk J. Agri. For.*, 33, 65-77.
- Yokoi, S., Ray A. B. ve Paul Mike H. 2002. Salt Stress Tolerance of Plants, JIRCAS Working Report ,25-33
- Zekri, M., 1991. “Effects of NaCl on growth and physiology of sour orange and Cleopatra mandarin seedlings”, *Scientia Hort.*, 47:305-315.
- Zhang H.X., Blumward E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat. Biotechnol.*, 9: 765–768.
- Zhang, C.X., Appel, E. ve Qiao, Q.Q. 2013. “Heavy metal pollution in farmland irrigated with river water near a steel plant-magnetic and geochemical signature”, *Geophysical Journal International*, 192, 3, 963-974.
- Zhong Qun, H., Chao Xing, H., Zhi Bin, Z., Zhi Rong, Z. ve Huai Song, W. 2007. “Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 59(2):128-133.
- Zhou, H.-C., Long, J. R., & Yaghi, O. M. 2012. Introduction to Metal–Organic Frameworks. *Chemical Reviews*, 112(2), 673–674.doi:10.1021/cr300014x
- Zhu, J.K., 2001. Plant salt tolerance. *Plant Sci.* 6 (2), 66-71.
- Zhu, J.K., 2002. “Salt and drought stress signal transduction in plants”, *Annu. Rev.Plant Biol.*, 53: 247-273
- Ziska, L.H., Seemann, J.R. ve DeJong, T.M. 1990. “Salinity Induced Limitations on Photosynthesis in *Prunus Salinica*, a Deciduous Tree Species”, *Plant Physiol.*, 93, 864-870.

ÖZGEÇMİŞ

ZEYNEP ÜNAL

unalzeynp7@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2017-2019	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2013-2017	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya