



**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) OLGUN
EMBRYO KÜLTÜRÜNDE TUZ STRESİNE
KARŞI α -TOKOFEROLÜN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

İsmail Hakkı ARDIÇ

Yüksek Lisans Tezi

**Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı
Yrd. Dr. Murat AYDIN**

2017

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) OLGUN EMBRİYO KÜLTÜRÜNDE
TUZ STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

İsmail Hakkı ARDIÇ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

ERZURUM
2017

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) OLGUN EMBRİYO KÜLTÜRÜNDE TUZ
STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında, İsmail Hakkı ARDIÇ tarafından hazırlanan bu çalışma, 12/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tahıllar ve Yemeklik Baklagiller Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu** (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Emre İLHAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 19.01.2017 tarih ve 03. / . 39 nolu kararı
ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) OLGUN EMBRİYO KÜLTÜRÜNDE TUZ STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

İsmail Hakkı ARDIÇ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

Serin iklim tahıllarından biri olan buğday insanların temel besin kaynağını oluşturması ve ekstrem koşullarda yetişmesinden dolayı hem ülkemiz hem de dünya için vazgeçilmez bir bitkidir. Birçok biyotik ve abiyotik stres şartlarında yetişebilmesine karşın ürün verimi ciddi oranda azalış göstermekte ve hatta ürün alınamamaktadır. Tuzluluk, buğdayın verimini ciddi oranda azaltan abiyotik stres şartlarından biridir.

Bu araştırmada tuzluluğa hassas Kırık buğday çeşidinin olgun embriyoları kullanılarak in vitro şartlarda NaCl (0, 50, 100, 150 ve 200 mM) ile oluşturulan tuz stresine karşı α -tokoferol uygulamasının (0, 50 ve 100 mg/l) etkisi incelenmiştir. Araştırmada kallus nispi su içeriği (%), kallus nispi gelişim oranı (%), embriyogenik kallus oranı (%), cevap veren embriyogenik kallus oranı (%) ve eksplant başına bitki sayısı (adet) ile ilgili veriler elde edilmiştir.

Araştırmanın sonucunda NaCl konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kallus nispi su içeriği, kallus nispi gelişim oranı, embriyogenik kallus oranı, cevap veren embriyogenik kallus oranı ve eksplant başına bitki sayısında önemli derecede azalmış ve 200 mM NaCl konsantrasyonunda ise bitki elde edilememiştir. Ancak α -tokoferol uygulaması ile birlikte tüm bu parametrelerde iyileşmeler meydana gelmiş ve tuz stresinde en iyi sonuçlar 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında gözlenmiştir. Bununla birlikte tokoferol uygulanmış 200 mM tuz konsantrasyonlarındaki kalluslarda bitkiler elde edilmiştir.

2017, 82 sayfa

Anahtar Kelimeler: Olgun embriyo, tuz stresi, α -tokoferol, bitki rejenerasyonu

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF EFFECTS OF α -TOCOPHEROL AGAINST SALT STRESS IN WHEAT (*Triticum aestivum* L.) MATURE EMBRYO CULTURE

İsmail Hakkı ARDIÇ

Ataturk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops
Department of Cereals and Pulse Crops

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Murat AYDIN

Wheat, one of the cool climate cereals, is an indispensable plant for both our country and the world because it forms the basic nutrient source for humans diatery and grows under the extreme conditions. Although wheat can be grown under many biotic and abiotic stress conditions, its yield is seriously reduced and even no yield is obtained under stress. Salinity is one of the abiotic stress conditions that significantly reduce the yield of wheat.

In this study, the effect of α -tocopherol application (0, 50 and 100 mg/l) against saline stress induced by NaCl (0, 50, 100, 150 and 200 mM) was investigated using mature embryos of the Kırık wheat cultivar which is sensitive to salinity in vitro conditions. Data related to callus relative water content (%), callus relative development rate (%), embryogenic callus ratio (%), responsive embryogenic callus ratio (%) and number of plants per explant (number) were obtained in this study.

As a result of the study, callus relative water content, callus relative development rate, embryogenic callus ratio, responsive embryogenic callus ratio and number of plants per explant decreased considerably depending on the increase in NaCl concentration, and no plant was obtained at 200 mM NaCl concentration. With α -tocopherol application, however, all these parameters were improved, and the best results under salt stress were observed with 100 mg/l α -tocopherol application. Also, the plants were obtained in calli at a NaCl concentration of 200 mM applied to α -tocopherol.

2017, 82 pages

Keywords: Mature embryo, salt stress, α -tocopherol, plant regeneration

TEŞEKKÜR

Çalışmamın başından sonuna kadar maddi manevi desteğini esirgemeyen, çalışma azmi ve hırsıyla bana güç veren, gece gündüz demeden değerli vaktini bana ayıran, engin bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan ve sosyal hayatımda dahi tüm sorunlarımla yakından ilgilenen kıymetli Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN'a teşekkürü bir borç bilir sonsuz şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans dönemim sırasınca benimle özel olarak ilgilenen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a, Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU'na ve Sayın Doç. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR'a çok teşekkür ediyor ve saygılarımı sunuyorum.

Ayrıca kardeşim gibi gördüğüm ve öylede kalacak olan hocalarım Sayın Arş. Gör. Selçuk KODAZ'a, Sayın Arş. Gör. Furkan ÇOBAN ve ailelerine, Sayın Arş. Gör. Halil İbrahim SAĞBAŞ'a birlikte aynı laboratuvarında çalışma fırsatı bulduğum ve kendimi bu yüzden şanslı gördüğüm hocam Sayın Arş. Gör. Esra ARSLAN'a, Post Doktorant Sayın Arash HOSSEİN POUR'a, can dostlarım Biyolog Güller ÖZKAN'a, Yük. Zir. Müh. Cemil AYDOĞAN'a, Yük. Zir. Müh. Berat BIYIKLI'ya, Yük. Zir. Müh. Sedat SEVEROĞLU'na, beni evladı gibi seven ve manevi annem olan Yük. Zir. Müh. Alev GÜMÜŞ AYDIN'a ve ev arkadaşlarım Abdurrahim ÖZYANIK, Enis OFLUOĞLU, Eren NEBİOĞLU, Mehmet SİNANOĞLU'na ve ailelerine,

Hayatımın her anında yanımda olan sadece başarılarımda değil başarısızlıklarımda dahi bana güvenlerini biran olsun yitirmeyen her daim maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta babam Kahir ARDIÇ'a, annem Mesude ARDIÇ'a ve tüm aileme canı gönülden teşekkür eder saygı, sevgi ve şükranlarımı bir borç bilirim.

İsmail Hakkı ARDIÇ

Ocak, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER.....	32
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Bitki materyali	32
3.1.2. Kallus Kültürü Ortamlarında Kullanılan Kimyasallar	32
3.1.2.a. Temel besi ortamı	32
3.1.2.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar	33
3.1.3. Bitki rejenerasyonu ortamlarında kullanılan kimyasallar	34
3.1.4. Tuz stresi ve tuz stresine karşı kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları...34	
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Sterilizasyon yöntemleri.....	34
3.2.1.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu	34
3.2.1.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu	35
3.2.1.c. Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu.....	35
3.2.1.d. Sterilizasyonda kullanılan solüsyonların hazırlanışı	35
3.2.2. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanması.....	36
3.2.2.a. Temel besi ortamı için stok solüsyonların hazırlanışı	36
3.2.2.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı	38
3.2.2.c. Kullanılan NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı	39
3.2.2.d. α -Tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı	40
3.2.2.e. Kültür ortamının hazırlanması.....	40

3.2.3. <i>In vitro</i> 'da α -Tokoferol ve NaCl uygulaması.....	41
3.2.4. Araştırmada incelenen karakterler.....	42
3.2.5. Verilerin istatistiksel analizi.....	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	45
4.1. Kallus nisbi su içeriği (%).....	45
4.2. Kallus nisbi gelişim oranı (%).....	47
4.3. Embriyogenik kallus oluşum oranı (%).....	50
4.4. Cevap veren embriyogenik kallus oranı (%).....	54
4.5. Eksplant başına bitki sayısı (Adet).....	59
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	62
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	83

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
μM	Mikromolar
Ca	Kalsiyum
Cl	Klor
cm	Santimetre
g	Gram
K	Potasyum
kg	Kilogram
kPa	Kilo paskal
l	Litre
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mol	Mol
N	Normal
Na	Sodyum
P	Fosfor

Kısaltmalar

2,4-D	2,4-Diklorofenoksi asetik asit
ABA	Absisik asit
BAP	6-Benzil amino pürin
BS	Bitki sayısı
Ca	Kalsiyum

CaN ₂ O ₆	Kalsiyum nitrat
CEKO	Cevap veren embriyogenik kalus oluşum oranı
DİKAMBA	3,6-Diklorobenzoik asit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dSm ⁻¹	Desisiemens/metre
EKO	Embriyogenik kalus oluşum oranı
EKSCE	Embriyogenik kallus sayısına göre cevap veren somatik embriyo sayısı
EKSCEK	Embriyogenik kallus sayısına göre cevap veren embriyogenik kallus oranı
ESCEK	Eksplant sayısına göre cevap veren embriyogenik kallus oranı
ESCSE	Eksplant sayısına göre cevap veren somatik embriyo sayısı
ESEKO	Eksplant sayısına göre embriyogenik kallus oluşum oranı
FAO	Food And Agriculture Organisation
Fe	Demir
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HKO	Hata kareler ortalaması
IAA	İndol-3-asetik asit
K	Potasyum
KBO	Kallus besi ortamı
KO	Kalus oluşum oranı
KSCEK	Kallus sayısına göre cevap veren embriyogenik kallus oranı
KSCSE	Kallus sayısına göre cevap veren somatik embriyo sayısı
KSEKO	Kallus sayısına göre embriyogenik kallus oluşum oranı
LOO [•]	Lipid Peroksil
LPO	Lipid Peroksidasyon
MES	2-(N-morpholino) ethansülfonik asit
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
MPa	1,000.000 Pascal
MS	Temel besi ortamı, Murashige and Skoog (1962)
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat

Na_2SO_4	Sodyum sülfat
NaCl	Sodyum klorür
NaHCO_3	Sodyum bikarbonat
NaNO_3	Sodyum nitrat
NO_3^-	Nitrat
O_2	Oksijen
O_2^-	Süperoksit
OH°	Hidroksil Radikali
pH	Asitlik derecesi
Pikloram	4-amino-3,5,6-trikloro pikolinik asit
ppm	Parts per million (milyonda bir birim)
RE	Rejenerasyon etkinliği
RO	Alkoksi Radikali
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SD	Serbestlik derecesi
TDZ	1-Fenil-3-(1,2,3-thidiazol-5yl) üre (Thidiazuron)
$\text{TOH}^\bullet$	Tocopheroxyl Radical (Tokoferoksil Radikali)
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV-B	Ultraviyole (290-320 nm)
UV-C	Ultraviyole (200-280 nm)
α - tokoferol	E vitamini

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Sterilizasyon sonrası su emdirilmiş tohumun embriyosunun kesim kısımlarının gösterimi.....	41
Şekil 4.1. Tuz stresinde uygulanan α - tokoferolün nisbi su içeriğine etkisi	47
Şekil 4.2. NaCl' nin farklı konsantrasyonlarında meydana gelen kallusların görünümleri	48
Şekil 4.3. Tuz stresinde uygulanan α - tokoferolün nisbi gelişim oranına etkisi.....	50
Şekil 4.4. NaCl' nin farklı konsantrasyonlarında meydana gelen embriyogenik kallusların görünümleri	51
Şekil 4.5. Tuz stresinde uygulanan α - tokoferolün embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi	54
Şekil 4.6. NaCl' nin farklı konsantrasyonlarında meydana gelen cevap veren embriyogenik kallusların görünümleri	56
Şekil 4.7. NaCl tuz konsantrasyonunun kallus gelişimine cevap veren embriyogenik kallus ve bitki sayısı düzeyinde verdiği zararlar	57
Şekil 4.8. Tuz stresinde uygulanan α - tokoferolün cevap veren embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi.....	59
Şekil 4.9. Tuz stresinde uygulanan α - tokoferolün eksplant başına bitki sayısına etkisi	61
Şekil 4.10. (A) 50 mM NaCl + 100 mg E vitamin ve (B) 100 mM NaCl + 100 mg E vitamin de bitkiciklerin magentada görünümleri.....	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	33
Çizelge 3.2. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar.....	33
Çizelge 3.3. Buğday olgun embriyo kültüründe kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları	34
Çizelge 3.4. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar.....	39
Çizelge 3.5. Oksin stok solüsyonunun hazırlanışı	39
Çizelge 3.6. Sitokinin stok solüsyonunun hazırlanışı	39
Çizelge 3.7. NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı	39
Çizelge 4.1. Kallus nisbi su içeriğine (%) ait varyans analiz sonuçları.....	45
Çizelge 4.2. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre kallus nisbi su içeriği (%)....	46
Çizelge 4.3. Kallus nisbi gelişim oranına ait varyans analiz sonuçları.....	47
Çizelge 4.4. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre kallus nisbi gelişim oranı.....	49
Çizelge 4.5. Embriyogenik kallus oluşum oranına ait varyans analiz sonuçları	50
Çizelge 4.6. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre embriyogenik kallus oluşum oranı (%)	53
Çizelge 4.7. Cevap veren embriyogenik kallus oranına ait varyans analiz sonuçları.....	54
Çizelge 4.8. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre cevap veren embriyogenik kallus oranı (%).....	58
Çizelge 4.9. Eksplant başına bitki sayısına ait varyans analiz sonuçları	59
Çizelge 4.10. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre eksplant başına bitki sayısı (adet).....	60

1. GİRİŞ

Tarım, topluma iş olanağı sağlaması, ham madde üretimi, insan beslenmesindeki önemi, büyük çapta ticari değer oluşturmaları gibi nedenlerle ülkemizde ve dünyada önemli bir sektördür. Tarımı oluşturan iki ana unsurdan bitkisel üretim, insanların temel ihtiyaçlarından olan, gıda, giyim yakacak, yapı malzemesi ve estetik gereksinimlerini karşılamak için kullandıkları canlı materyallerdir.

Dünya'nın ve Türkiye'nin hemen her kesiminde üretimi yapılmakta olan buğday tarımı; çok büyük üretici kitlesine sahip olması, insanların temel gıdası olarak tüketilen ekmeğin hammaddesini içermesi bakımından oldukça değerli bir üründür (Kızılaslan 2004).

Poaceae familyasının *Triticeae* takımı buğday ve arpa da dâhil olmak üzere 15'den fazla cins ve 300 tür içeren takımlardan biridir. Kromozom sayılarına göre buğday, diploit ($2n=2x=14$), tetraploit ($2n=4x=28$) ve hekzaploit ($2n=6x=42$) olarak üç gruba ayrılır. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), makarnalık buğday (*Triticum durum* L.) ve topbaş veya bisküvilik buğday (*Triticum compactum* L.) önemli türlerdir (Briggle 1967).

Buğday hem dünya hem de ülkemiz nüfusu için oldukça önemli bir tahıl bitkisidir. Dünya nüfusunun yaklaşık %36'sının temel besin kaynağı olan buğday dünya nüfusu için gerekli olan karbonhidratın %55'ini, kalorisinin ise %20'sini sağlamaktadır (Breiman and Graur 1995).

TÜİK 2015 yılı verilerine göre ülkemizde toplam tarım arazisinin (38,566 milyon hektar) 11,713 milyon ha alanında tahıl üretimi yapılmakta olup, tahıl üretiminde de yaklaşık 7,9 milyon ha'lık alanda buğday üretimi yapılmaktadır. Toplam tahıl alanları içerisinde ise %67.2'lik pay ile buğday ilk sırayı almaktadır (TÜİK 2015).

Buğday üretiminin çok fazla ve geniş alanlara yayılmış olması, stresli şartlarda ve marjinal alanlarda üretiminin yapıyor olması birim alandan elde edilmekte olan üretim miktarını azaltmaktadır. Ülkemizde buğday tarımı, büyük ölçüde stresli (tuzlu ve kuru) şartlarda yapıldığından dolayı verim düşük ve buna bağlı olarak da buğday üretimi yapan çiftçinin geliri de diğer ürün üretimi yapan çiftçilere göre daha az olmaktadır. Diğer taraftan bazı bölgelerimizde buğdaya alternatif bir ürün hemen hemen yoktur. Bu yüzden de bu bölgelerde zorunlu bir şekilde buğday-nadas ekim nöbeti sistemi uygulanmaktadır. Bunun yanı sıra özellikle sulak alanlarda yani polikültür tarımı yapılmakta olan bölgelerimizde buğday veriminin fazla olmasının yanında işçiliğinin daha az ve kolay olması nedeniyle üretici ilk olarak buğday ürününü tercih etmektedir (Kızılaslan 2004).

Yüksek ürün verimi modern tarımın önemli hedeflerinden biridir. Ancak, buğday üretimini etkileyen tuzluluk ve kuraklık gibi stres faktörleri buğday verim ve kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Tuzluluğun olumsuz etkileri daha çok dünyanın ve ülkemizin besin gereksinimini karşılamakta ilk sırada yer alan başta buğday olmak üzere tahıl cinslerinin üretildiği yarı-kurak ve kurak bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Tuzluluğa bağlı olarak, her yıl önemli oranda ürün kayıpları meydana gelmektedir. Biyotik veya abiyotik (tuzluluk, kuraklık, sıcak ve soğuk) stres şartlarının yıllık yaklaşık olarak %25 ürün kaybı oluşturduğu belirtilmektedir (Gill *et al.* 2004).

İklimde ortaya çıkan değişimler de düşünüldüğünde istikrarlı, yüksek verimli, kurağa, yatmaya, zararlı ve hastalıklara dayanıklı ve bunun yanında da kaliteli buğday çeşitlerinin geliştirilmesi ıslah çalışmalarının en önemli amaçlarındanıdır. Bu nedenle, günümüzde yapılmakta olan ıslah çalışmalarında; kalite ve verim unsurları beraber ele alınmakta, bir taraftan birim alandan elde edilen verim miktarlarını artırma olanakları araştırılırken, diğer yandan da farklı tüketici kesimlerinin isteklerini karşılayıp cevap verebilecek kalite özelliklerinin de iyileştirilmesi hedeflenmektedir (Kaya 2006).

Bitkisel üretimi ciddi anlamda kısıtlayan tuzluluk, doğal etkenler (yüksek düzeyde buharlaşma, tuza akraba kayaçların varlığı ve az yağış) ve yanlış yapılan tarımsal

uygulamalar nedeniyle (tuzlu sularla sulama, yanlış yöntemlerle sulama, endüstriyel ürünlerden kalan kimyasalların birikmesi, yüksek miktarda gübreleme) oluşabilmektedir (Kalaji and Pietkiewicz 1993).

Yerkürenin karşılaştığı en büyük çevresel sorun kaynağı olan küresel ısınmada tuzluluğa neden olmaktadır. Küresel ısınma; ilk olarak mevsim normallerini düzensizleştirmekte yüksek buharlaşma ve yetersiz yağış ile toprak tuzluluğunun artmasında önemli rol oynamaktadır. Yine küresel ısınmaya bağlı olarak buzulların eskisine göre 8 kat daha hızlı şekilde erimesinden dolayı deniz seviyesinin yükselmesi ve buna bağlı olarakta taban suyunda yükselme olan topraklarda tuzluluğun ortaya çıkması beklenen önemli bir sorundur (Koyuncu 2008).

Tuzluluk, yetiştiriciliği yapılan kültür bitkileri bakımından çevresel bir strestir ve kimyasal stres grubunda yer almaktadır. Yetiştirme ortamlarının tuz yönünden sorunlu olması birtakım olumsuz etkiyi de beraberinde getirmektedir. Bu olumsuz etkiler; besin dengesizliği, enzim aktivasyon bozukluğu, genel metabolik süreçte aksamalar, membran hasarı, oksidatif stres, su alımında dengesizlik, ozmotik uyumsuzluk ve genel gelişim düzensizliği olarak sıralanabilir (Orcutt and Nilsen 1996).

Abiyotik stres faktörlerinin ilk belirtisi, hücre membranların hasar görmesiyle ortaya çıkar (Holmberg and Bülow 1998). Tuzluluğun yani NaCl'nin membran yapısında neden olduğu değişimlerle ilgili olarak yapılan bir çalışmada, (Gupta 2007) *Dactylis glomerata* L.'da 200 mM NaCl uygulamasının plazma membranında birtakım kıvrımlara ve bozulmalara sebep olduğu bildirilmiştir. Tuz stresinden etkilenen ilk kısım olan plazma membranının geçirgenliği, farklı genotiplere ait hücrelerde değişiklik göstermektedir. Tuzlu ortam şartlarında, tuza duyarlı formlarda hücre zarı hasarının daha çok olduğu tespit edilmiştir (Mansour and Salama 2004).

Tuz stresi tohum çimlenmesini engelleyerek fide tesisini olumsuz yönde etkilemekte ve kültür bitkilerinin üretimini ciddi şekilde azaltmaktadır. Tuz stresi sırasında bitkide fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid sentezi gibi önemli süreçler de

etkilenmektedir. Tuz stresinin ilk dönemlerinde bitkiler yaprak büyümesine engel olan su stresine maruz kalırlar. Tuz stresinin ozmotik etkileri tuz uygulamasından hemen sonra görülmekte ve stres devam ettiği sürece hücre bölünmesinde, hücre büyümesinde azalma görülür ve stomalar kapanır. Uzun süreli tuz stresi büyümeyi destekleyen fotosentetik alanda azalmaya yani yaşlı yaprakların ölümüne neden olur (Parida and Das 2005).

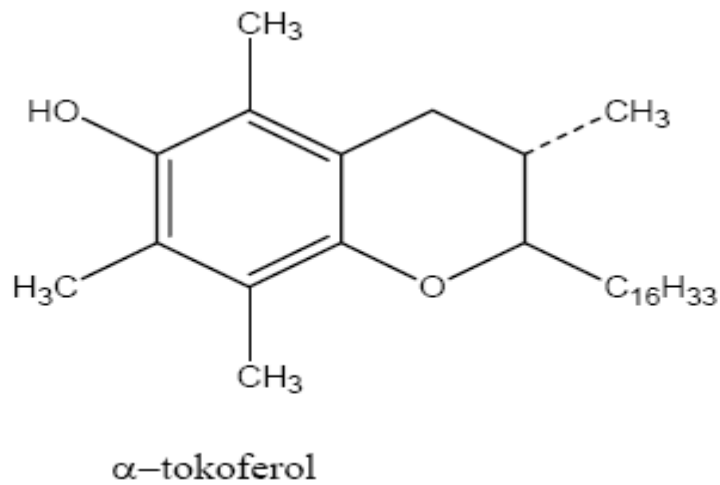
Aşırı sodyum ve daha da önemlisi klorür bitkilerde enerji üretimini azaltan ve diğer fizyolojik olayların etkili değişimine neden olan enzimleri olumsuz yönde etkilemekte ve hücre şişmesine neden olmaktadır (Larcher 1980). İyonik stres yaşlı yapraklarda erken yaşlanmaya, protein sentezinin bozulmasına ve enzim aktivitesini etkileyen yüksek sodyum nedeniyle olgun yapraklarda klorosis ve nekrosise neden olur (R.Munns 2002). Bitkiler kuraklık stresine maruz kaldıkları zaman membran bileşenlerine zarar veren Reaktif Oksijen Türleri (ROT) üretirler (Blokina *et al.* 2003). ROT'lar proteinlere, lipitlere ve DNA'ya etki ederek oksidatif hasara neden olur ve hücrelerin normal fonksiyonlarını bozarlar (Foyer and Fletcher 2001).

Tuzlu toprakları ıslah etmek için kimyasal ve mekanik yöntemler geliştirilmiştir. Sulama suyunun tuzlu olması, toprak geçirgenliğinin az ve taban suyunun yüksek olduğu alanlarda, yapılacak böyle teknik uygulamaların zor olmasının yanında ve yine uygulamaların ekonomik olmaması, son yıllarda tuza toleranslı bitki çeşitlerinin belirlenmesini ve aynı zamanda genetik olarak elde edilmesini hedefleyen çalışmalara önem kazandırmaktadır.

Birçok bitki hücre içerisinde tuzun varlığını tolere ederek ya da hücreden tuzu uzaklaştırarak çeşitli tolerans mekanizmalarına sahiptirler. Vitaminler bitkilerde birçok fizyolojik süreçte etki mekanizmasına sahiptirler. Nispeten düşük konsntrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicisi olarak etkileri vardır. Ayrıca enzimlerin sentezi, ko-enzimlerin aktivasyonu, bitki büyümesi gibi birçok etkiye sahiptir (Reda *et al.* 2005; Nahed *et al.* 2009).

Bu vitaminlerden E vitamini bitkilerde küçük moleküller halinde sentez edilir (Fryer 1992). Tüm yüksek bitkilerde tokoferol genel bileşik olarak görünmektedir (Bafeel and Ibrahim 2008). Bitkilerde tuz stresine tolerans, dona dayanıklılık ve UV-B (kısa dalga) stresi gibi etmenlerin tokoferol içeriği ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Munne'-Bosch and Alegre 2002).

E vitamini fotosistem II evresinde elektronların taşınmasına yardımcı olan güçlü bir antioksidandır (Soltani *et al.* 2012). E vitamini, α -, β -, δ -, γ -tokoferoller ve α , β , γ , δ -tokotrienoller gibi 8 farklı izomerik yapıda bulunmaktadır. α -Tokoferol doğada en çok bulunan ve bu antioksidanlar içerisinde biyolojik aktivitesi en güçlü olan antioksidan çeşittir (Packer and Landvik 1989). Diğer vitaminler enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak yer alırken, E vitamini böyle bir göreve sahip değildir. Bu yüzden tokoferol antioksidan olarak anılmaktadır (Baskin and Salem 1997). E vitamini hücre içerisinde bulunan ve yağda çözünebilen vitaminler sınıfında yer almaktadır. α -Tokoferol, fenolik hidroksil grubu bulunduran aromatik halka sayesinde yapısal olarak güçlü bir antioksidan özelliğine sahiptir (Akkuş 1995). Şekil 1.1'de görüldüğü gibi fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka vitaminin kimyasal yapısındaki aktif kısımdır ve vitaminde antioksidan özelliğin görüldüğü kısımdır (Keskin ve Erkmen 1987).



Şekil 1.1. α -Tokoferolün kimyasal yapısı (Keskin ve Erkmen 1987).

Vitaminlerin temel görevleri membrandaki fosfolipitlerin peroksidasyonunu ve hücre membranının hasar görmesini engeller. Lipofilik özelliği sayesinde E vitamini hücre membranı içerisinde yer alır (Gey *et al.* 1991; McNeil *et al.* 2004). E vitamini hücre membranında yer alan serbest radikal molekülleri ve membran fosfolipitlerinde bulunan doymamış çoklu yağ asitlerinin zararlı etkisini önleyen koruyucu role sahiptir. α -Tokoferol, $\text{HO}^\bullet$, $\text{O}_2^\bullet$, lipid peroksil ($\text{LOO}^\bullet$) gibi bazı radikalleri de temizlemektedir. α -Tokoferol lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarına son verir. Bunu da lipid peroksil radikallerini yok ederek gerçekleştirir.

Lipid peroksidasyonun başlamasını engelleyen mekanizma aşağıdaki gibidir.

$\text{LOO}^\bullet + \alpha\text{-tokoferol-OH} \rightarrow \text{LOOH} + \alpha\text{-tokoferol-O}^\bullet$ dır (Baskin and Salem 1997; Carr *et al.* 2000).

(Lipid peroksil radikali) (tokoferoksil radikali)

Tepkimede oluşan tokoferoksil radikali sabit kalır ve bu nedenle lipid peroksidasyon reaksiyonunu başlatmak için yeterli aktiviteye sahip değildir.

Tokoferoller 50-100 mg/l konsantrasyon aralığında maksimum antioksidan etki gösterirler. Antioksidan etkisiyle E vitamini, kolayca oksitlenen farklı bileşiklerin oksidasyonuna uğramasına engel olmaktadır (Baysal 1990).

Bitki doku kültürü, bitkilerin steril koşullarda yapay besi ortamlarında geliştirilmesi işlemidir. Doku kültürü tekniklerinden yararlanılarak, bitkiden alınan herhangi bir parça (eksplant) ile kısa sürede bitkinin istenen kısımlarının veya tüm bir bitkinin çoğaltımı mümkündür. Ayrıca, *in vitro* şartlarda hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere, düşük sıcaklığa, tuzluluğa ve kuraklığa dayanıklı veya toleranslı hücre seçimleri yapılabilmektedir (Karaca ve Bürün 1999; Babaoğlu *et al.* 2001).

Bitki hücrelerinde *in vitro* kültürü ile uygun ortamlar hazırlanarak doku ve organlar üzerinde istenilen karakterler belirlenip, yeni bitki eldesi sağlanmaktadır. Bu teknik ile aynı zamanda, arzulanan fenotipik büyümelerin ve selektif ajanların kullanılmasıyla da istenilen toleransın uyarılması sağlanmaktadır (Purohit *et al.* 1998).

Genellikle *in vitro* kültürde NaCl (tuza toleranslılık), PEG ve manitol (kurağa toleranslılık), fungal kültür filtratı veya fitotoksinler kullanılan selektif ajanlardır. *In vitro* seleksiyon tekniği bitkilerde seçici olarak tuzun kullanılmasıyla, arzu edilen genotiplerin hayatta kalıp büyümesiyle tuz stresini toleransla genotiplerin belirlenmesinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Kültür ortamındaki nispeten yüksek tuz seviyesini tolere etme kabiliyetlerinde varyasyon gözlenen çok sayıda bitki materyali (kallus, süpansiyon kültürü, somatik embriyo kültürü, sürgün kültürü vb.) bu amaç için kullanılmaktadır. Bu tür çoğu çalışmalarda kimyasal olarak NaCl tuzu başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Woodward and Bennett 2005).

Dünya da ve Türkiye de yetiştiriciliği en fazla yapılan buğday bitkisinde *in vitro* şartlarda ki çalışmalarda önemli bir aşama olan kallus kültürü için eksplant kaynağı olarak sürgün ucu, mezokotil, yaprak segmentleri, apikal meristemler, olgunlaşmamış çiçek durumu, anterler, olgunlaşmamış embriyolar, tohumlar ve olgun embriyoların eksplant olarak kullanıldığı çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Ozias-Akins and Vasil 1982; Yurkova *et al.* 1982; McHughen 1983; Redway *et al.* 1990; Viertel and Hess 1996; Bahieldin *et al.* 2000; Ingram *et al.* 2000; Bohorova *et al.* 2001; Delporte *et al.* 2001; Mendoza and Kaeppler 2002; Li *et al.* 2003; Shah *et al.* 2003; Haliloglu and Baenziger 2003b; Haliloglu and Baenziger 2003a; Patnaik and Khurana 2003; Li *et al.* 2003; Zale *et al.* 2004; Haliloglu and Baenziger 2005; Haliloglu 2006; Filippov *et al.* 2006; Bı *et al.* 2007; Aydın *et al.* 2011). Bu eksplantlardan en fazla kullanılanı olgunlaşmamış embriyolardır.

Olgunlaşmamış embriyoların en önemli sorunu donör bitkiden yalnızca belirli dönemde temin edilişi ve kışlık olan çeşitlerde vernelizasyon ihtiyacının giderilmesi için kontrollü koşullara ve seralara ihtiyaç duyulmasıdır. Bu şartlarda da daha uzun bir

zamana ve daha fazla finans gücüne ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sorunlara karşın, olgun embriyoların kaynağı olan tohumlar, kolay temin edilebilmeleri ve yine kolay depolanabildikleri için yıl içerisinde her dönemde çalışma imkanı sağlamaktadır. Endosperm destekli olgun embriyolar, tohumdan direkt olarak elde edilen olgun embriyolar ve ince embriyo parçaları bitki rejenerasyonu ve kallus oluşturmada eksplant kaynağı olarak başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Endosperm destekli olgun embriyoların bitki rejenerasyonu bakımından daha iyi olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Özgen vd 1998; Delporte *et al.* 2001; Delporte *et al.* 2001; Mendoza and Kaeppler 2002; Patnaik and Khurana 2003; Li *et al.* 2003; Zale *et al.* 2004; Filippov *et al.* 2006; Aydın *et al.* 2011; Aydın *et al.* 2011).

Bu araştırmada, Kırık buğday çeşidinin olgun embriyo kültüründe *in vitro* şartlarda tuz stresine toleransta α - tokoferol uygulamasının etkisi incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya nüfusunun hızla artmasına rağmen, tarım arazilerinin sınırlı olması ve ekilen tarım ürünlerinden yeterli miktarda verim alınamaması insan hayatının beslenmesi açısından temel sorunların başında gelmektedir (Süzer 1992).

Buğday, insan beslenmesinde tarım ürünleri içinde ilk sırada yer almaktadır. Ekmeğin ham maddesi olması, depolamasının kolay olması, besin değerinin ve adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması buğdayın önemini göstermektedir (Kün 1983).

Yüksek ürün verimi modern tarımın önemli hedeflerinden biridir. Ancak, bitkisel ürünleri etkileyen tuzluluk ve kuraklık gibi stres faktörleri ürünlerin verim ve kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir.

Stres, biyotik ve abiyotik çevre faktörlerinin etkisiyle bitkilerde meydana gelen değişimler olarak ifade edilmektedir. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen stres, bitki ve organlarının ölümüne ayrıca ürünün kalitesini ve verimini de etkilemektedir. Genetik adaptasyon derecesine ve çevre şartlarına bağlı olarak stres faktörleri bitkilere farklı düzeyde zarar vermektedir (Dubey 1994). Çeşitli stres faktörlerinin etkisiyle bitkilerde elde edilecek ürün miktarında ortalama olarak %65–87 arasında azalmalar meydana gelmektedir (Levitt 1981).

Tuzluluk ve kuraklık gibi abiyotik stres faktörleri buğday verim ve kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Tuzluluğun olumsuz etkileri daha çok dünyanın ve ülkemizin besin gereksinimini karşılamakta ilk sırada yer alan başta buğday olmak üzere tahıl cinslerinin üretildiği yarı-kurak ve kurak bölgelerde ortaya çıkmaktadır.

Hücre membranları tuzun zarar verdiği ilk bölgelerdir (Mansour 1997). Abiyotik stres faktörlerinin ilk belirtisi, hücre membranların hasar görmesiyle ortaya çıkar (Holmberg and Bülow 1998). Tuz stresinde oluşan bazı reaktif oksijen türleri hücre zarındaki

lipidlere saldırması sonucu zarda lipid oksidasyonu meydana gelir (Parida and Das 2005) ve hücre membranlarının yapısı bozulur. Tuzluluk şartlarında, hücre membran hasarının tuza duyarlı formlarda daha fazla olduğu bildirilmiştir (Mansour and Salama 2004). Nitekim, Wahid *et al.* (2005), MH-97 ekmeklik buğday genotipinde tuz stresinde hücre hasarına bağlı olarak elektrolit sızıntısının arttığını ve hücre membran hasarının strese duyarlılık indeksi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Sairam *et al.* (2002), Tuzluluğa toleranslı (Kharchia 65) ve hassas (HD 2687) genotiplerini uzun süreli NaCl stresine (6.85 dSm^{-1}) bıraktıkları çalışmada NaCl'nin her iki genotipte de hücre membran hasar oranını arttırdığını bu hasarın tuza hassas olan HD 2687 (%44.5) daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Farooq and Azam (2006), buğday genotiplerinin tuzluluğa toleransını belirlemek için yaptıkları çalışmada NaCl'nin 0, 100, 150, 200 ve 250 mM konsantrasyonlarını kullanmışlardır. Hücre membran aktivitesi bakımından genotiplerin farklılık gösterdiğini, hücre membran hasarının tuza toleranslı genotiplerin belirlenmesinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Jamil *et al.* (2012), şeker pancarında yapmış oldukları çalışma NaCl'nin 4 farklı konsantrasyonda (0, 4.7, 9.4 ve 14.1 dSm^{-1}) yapmış oldukları çalışmada, tuz konsantrasyonu artışına bağlı olarak hücre membran hasarında artış olduğu ve nispi su içeriğinde de azalmanın meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Jamali *et al.* (2015), tuza toleranslı (Arg, Bam, Sistani ve Singh) ve hassas (Bahar, Ghods, Marvdasht) ekmeklik buğday genotiplerini kullanarak yapmış oldukları çalışmada, saksıda geliştirdikleri buğday genotiplerini tuzlu su (NaCl) ile sulamışlardır. Araştırmada genotipler arasında nisbi su içeriği bakımından fark olmadığını ancak membran hasar oranının dayanıklı çeşitlerde daha az olduğunu bildirmişlerdir.

El-Bassiouny and Bekheta (2005), Giza 168 ve Gimeza 9 adlı iki buğday genotipini kullanarak yapmış oldukları çalışmada 21 günlük bitkileri 0, 2000, 4000, 8000 ve 12000

mg/l NaCl konsantrasyonlarında tuz stresine maruz bırakmışlardır. Araştırma sonucunda, tuz stresinin her iki genotipte de nisbi su içeriğinde azalmaya neden olduğunu, bu azalışın Giza 168 genotipinde daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Ghogdi *et al.* (2012), Neishabor, Sistani (tuza toleranslı), Bahar ve Tajan (tuza duyarlı) ekmeklik buğday genotiplerinde bazı fizyolojik özellikler üzerine tuzun etkisini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada bitkiler 4-6 yapraklı dönemde 1:10 oranında kalsiyum klorit ve sodyum kloritle oluşturulmuş 4 farklı tuz seviyesinde (1.3, 5, 10, 15 dSm⁻¹) strese maruz bırakılmışlardır. Tuz stresinin tüm genotiplerde nisbi su içeriğinde azalışa neden olduğunu ve bu azalışın duyarlı genotiplerde daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Chahine *et al.* (2013), yedi adet makarnalık buğday genotipi (Azizi, Jenah Khotifa, Hmira, Swebâa Eljia, Karim, Om Rabia ve Oued Zeneti) kullanarak yaptıkları çalışmada bitkileri tek yapraklı dönemde 100 mM NaCl'de tuz stresine maruz bırakmışlardır. Araştırmada tuz stresinde genotiplerin tamamında nisbi su içeriğinde azalışın olduğunu bildirmişlerdir.

Bitki için en temel ve hayati safha tohum çimlenmesidir. Tuzluluğun tohum çimlenmesi üzerine olumsuz etkileri birçok bitki üzerinde yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Essa 2002; Essa 2002; Jabeen *et al.* 2003; Ibrar *et al.* 2003; Ulfat *et al.* 2007; Mutlu ve Buzcuk 2007; Çarpıcı 2009; Xu *et al.* 2011; Khodarahmpour *et al.* 2012). Yine, tuz stresi çok farklı yollarla çimlenmeyi etkilemektedir. Tuzluluk ortamın ozmotik potansiyelini değiştirerek tohumun su alımını engellemektedir (Khan and Weber 2008). Ayrıca, hormonal dengenin bozulmasına (Khan and Rizvi 1994), toksititeye (Gomes-Filho *et al.* 2008) ve protein metabolizmasının değişmesine neden olmaktadır (Yupsanis *et al.* 1994; Dantas *et al.* 2007).

Tuz stresi bitkilerde önemli derecede büyüme ve gelişimi azaltmaktadır. Tuz stresinin ilk etkisi bitki su ilişkisini düzenleyen toprak solüsyonunun ozmotik potansiyeline olan etkisidir. Su stresi ile benzer bir etkiyi yapmaktadır (Munns 2002). Tuzluluğun bitki

büyümesi üzerine olan etkisi bitkilerin maruz kalma sürelerine göre değişmektedir. Munns (2002)'a göre bitkilerin tuza maruz bırakılmasının ilk saniyelerinden ve ilk dakikalarından itibaren hücreler su kaybederek küçülmektedir. İlerleyen saatlerde bitki hücrelerinin tekrar eski halini almasına karşın tuza maruz kalan hücrelerde tuz stresi nedeniyle hücre uzama oranında azalmalar meydana gelmekte ve bu durum yaprak ve kök büyümesinde azalmalara neden olmaktadır. Takip eden günlerde hücrenin bölünme safhaları etkilenmektedir. Ayrıca haftalar sonra vejetatif gelişmeyi, aylar sonra ise bitkide üreme döneminde değişimlere neden olur. Munns (2005), tuz stresinin bitkiler üzerine olan etkisini hızlı ve yavaş olmak üzere iki farklı evrede etkili olduğunu bildirmiştir. İlk olarak ozmotik etkiye bağlı olarak (ozmotik stres) ortaya çıkan hızlı evre ve ikinci olarak yapraklarda tuz birikimi (tuz toksisitesi) nedeniyle oluşan yavaş evredir (tuza spesifik stres). Bu evreler sonunda toplam fotosentetik yeşil alan azalmasına neden olan yaprak ölümleri ortaya çıkmakta ve sonuç olarak verimde düşüş meydana gelmektedir (Munns 2002).

Yapılan birçok çalışmada bitkilerin özellikle çimlenme ve erken gelişme dönemlerinin tuz stresine çok daha hassas olduğu bildirilmiştir (Munns 2002a, 2005). Mozafar and Goodin (1986), TAM W-101 ve Sturdy ekmeklik buğday çeşitlerini kullanarak yapmış oldukları çalışmada farklı tuz çeşitleri (NaCl , NaNO_3 , Na_2SO_4 , NaHCO_3 , Na_2CO_3 , ve $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) ve konsantrasyonlarını (0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, ve 0.32 mol/l) kullanmışlardır. 0.02 ve 0.04 mol/l tuz konsantrasyonlarının her iki çeşitte de çimlenmeyi teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada TAM W-101 çeşidinin kök gelişimi ve çimlenmesi açısından tuz stresine de daha dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda, kök ve sürgün kısımlarının farklı tuz çeşitlerine göre değişik hassasiyette olduğunu ve NaHCO_3 ve Na_2CO_3 , NaCl 'ye göre tohum çimlenmesi için daha fazla toksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Hampson and Simpson (1990), yazlık Katepwa ekmeklik buğday çeşidinde yapmış olduğu çalışmada NaCl ve Na_2SO_4 ile oluşturmuş olduğu -0,3 MPa'dan düşük ozmotik potansiyellerde çimlenmenin ertelendiğini ve daha yavaş olduğunu ve üzerindeki

ozmotik potansiyelerde ise engellediğini bildirmişlerdir. Yine bu etkinin yüksek sıcaklıkta daha da fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Prakash and Sastry (1992), yaptıkları çalışmada tuz stresinin 22 buğday çeşidinin çimlenmesi ve gelişimlerine olan etkilerini araştırmak için farklı miktarlarda (0, 5, 10 ve 15 g/l) NaCl bulunan Hoagland besi solüsyonu ile 1 ve 5. günlerde petrilere sulamışlar ve 4 gün boyunca (20 °C) karanlıkta tutup daha sonra 6 gün aydınlık ortamda tutmuşlardır. 5. günde çimlenme yüzdesini; yaş ve kuru ağırlıkları ile koleoptil uzunluğunu 10. günde belirlemişlerdir. Tuz konsantrasyonları ve genotipler arasında önemli bulunan interaksiyonlarda, koleoptil uzunluğunda artan tuz konsantrasyonu ile azalma olduğunu ancak çimlenme yüzdesinde ise önemli bir düşüşün olmadığını belirlemişlerdir. Tuz konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak yaş ağırlığındaki azalmanın yanı sıra yaş ve kuru ağırlığında yüksek tuz konsantrasyonlarında önemli ölçüde azaldığını, bu durumun nedeni olarak da tuzun besin maddesi alımını ve kök gelişimini engelleyici rolünün neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Khan *et al.* (1997), yerel varyetelerden seçilmiş 9 çeltik çeşidinin tohumlarını 0, 50, 100, 150 ve 200 mM seviyesinde 5 değişik tuz solüsyonu hazırlayarak filtre kağıtları bulunan petrilere çimlendirme testine tabi tutmuşlardır. *In vitro* şartlarda 24 saat arayla 9 gün boyunca tüm petrilere eşit miktarda solüsyon uygulanarak çimlenen tohum sayıları alınmıştır. Kontrol (0 mM)'de çimlenme 2. günde başlarken tuzun çimlenmeyi geciktirici etkisinden dolayı artan tuz dozlarına bağlı olarak çimlenmelerin 3, 4 ve 6. günlere sarktığı gözlemlenmiştir. Çimlenme yüzdesi ile artan tuz dozları arasında ters orantının olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada tuz seviyesi ile kuru ağırlık arasında negatif korelasyon belirlenmiştir.

Rodriguez *et al.* (1997), 50, 100 ve 150 mM yoğunluğunda filtre kağıtları arasında çimlendirilen hibrit mısır tohumlarına tuz uygulamışlardır. Fidelerin köklerinde aniden (şok) veya alıştırarak (dereceli) ortama verilen tuza olan tepkiyi incelemişlerdir. İki gruba ayrılan çalışmada bir gruba istenen tuz direkt olarak verilirken diğer gruba her gün 25 mM tuz ilave edilerek istenen konsantrasyona kademeli olarak gelinmiştir.

Ortama aniden verilen tuz dozu büyümeyi hemen durdururken kademeli olarak verilen tuz dozlarında kök uzaması 100 mM düzeyine kadar kontrol uygulamalarına göre pek bir farklılık göstermemiştir. Gelişme ve büyümenin olduğu daha çok apikal kısımlarda gerçekleştirilen incelemelerde tuz şokunun organik (fruktoz, sukroz, glukoz ve prolin), inorganik (Cl, K, Na) çözelti potansiyelinde ve su seviyesinde önemli düzeyde azalışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Shigong *et al.* (1999), seçilen tuza hassas ve tuza dayanıklı farklı 4 buğday çeşidinde %1.2 seviyesindeki (NaCl) tuzluluğa, 0.2 g/l aspirin veya 0.1 g/l salisilik asit eklenerek ortama vermiş oldukları tepkileri incelenmiştir. Tohumlara çimlendirme testi uygulanmış ve çeşitlere göre tuzun değişen düzeylerde çimlenmeyi azalttığını ancak tuzlu ortama eklenen aspirin ya da salisik asitin enzim faaliyetini ve çimlenme oranını arttırdığını belirtmişlerdir.

Konak vd (1999), ekmeklik ve makarnalık buğday genotiplerini değişik tuz konsantrasyonları içeren (0, 8, 16, 24 mmhos/cm) Hoagland besin solüsyonunda strese maruz bırakmışlardır. Çalışmada fide boyu, kök boyu, sürme gücü, kuru fide ağırlığı, kuru kök ağırlığı, toplam kuru ağırlık ve tuz stresine tolerans indeksi gibi bazı özellikleri belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda Basribey-95, Cumhuriyet-75 ve Seri-82 çeşitlerinin tuza dayanıklı bulunduğu, Kaşifbey, Gönen ve Kaklıç çeşitlerinin de tuza duyarlı olduklarını belirtmişlerdir.

Akbari *et al.* (2007), artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak NaCl'nin 3 farklı ekmeklik buğday genotipinde (Mahdavi, Pishtaz ve Shiraz) çimlenme oranı, kök uzunluğu, hipokotil uzunluğu ile sürgünlerin taze ve kuru ağırlığında azalışa neden olduğunu ve genotipler arasında bu özellikler bakımından farklılık olduğunu tespit etmişlerdir.

Arfan and Muhammad (2007), buğdaya uygulanan 150 mM NaCl konsantrasyonunun tohum çimlenmesinden bitki gelişimine kadar olan fizyolojik süreçte yaş ağırlık, kuru ağırlık ve yaprak miktarında azalmaya sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Sayar *et al.* (2010), makarnalık buğday üzerine NaCl ile oluşturulan farklı ozmotik potansiyellerin (-0.2, -0.4, -0.6 ve -0.8 MPa) çimlenme, çimlenme gücü ve çim gelişimi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. NaCl'nin, çimlenmeyi olumsuz yönde etkilediğini rapor etmişlerdir.

Almansouri *et al.* (2001), iki farklı makarnalık buğday çeşidinde yapmış olduğu çalışmada (Belikh ve Cando) düşük ve orta konsantrasyondaki NaCl'nin çimlenmeyi geciktirdiğini, yüksek konsantrasyonlarının ise çimlenme yüzdesini azalttığını bildirmişlerdir.

Kumar *et al.* (2012), tuzluluğun buğdayda çimlenme, büyüme, verim ve verim özellikleri üzerine olan etkisini çalışmışlardır. Bu çalışmada 8 buğday genotipinin (KRL1-4, K8434, K88, K9644, K9465, K9006, HD 2733 ve HD 2329) tuza tolerans (3, 6, 9 ve 12 dSm⁻¹) düzeyleri incelenmiştir. En düşük tuz konsantrasyonun (3 dSm⁻¹), çimlenme, büyüme ve verim parametrelerini etkilemediğini, daha yüksek tuz konsantrasyonların ise çimlenme, büyüme ve verimi azalttığını belirlemişlerdir. Yine aynı çalışmada, K9644 ve K9465 genotipleri tüm bu özelliklerde maksimum düşüş gösterdiği, K9006, K8434, KRL1-4, K88 ve HD2733 genotiplerinin ise daha yüksek tuz konsantrasyonlarına karşı dayanıklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Tuz stresinin bitki üzerindeki en önemli etkilerinden biri de büyüme hızını azaltmasıdır. Moud and Maghsoudi (2008) ekmeklik buğdayda yaptıkları bir çalışmada iki farklı tuz konsantrasyonunun (9 ve 15 dSm⁻¹ NaCl) koleoptil ve kök gelişimi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda tuz stresinin koleoptil ve kök gelişimini azalttığını belirlemişlerdir.

Akhtar *et al.* (2015), tuz stresi altında buğdayın (*Triticum aestivum*) verim, fizyolojik özellikler ve büyüme gelişimi üzerine olan etkisini incelemek için yürüttükleri bir çalışmada bitkiler 3 farklı tuz konsantrasyonuna (0, 25, 50 mM NaCl) maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda en yüksek tuz konsantrasyonu ile (50 mM NaCl) sulaması yapılan tüm bitkilerin öldüğü görülmüştür.

Kaydan ve Yagmur (2006), buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkisine uyguladıkları 8 dSm⁻¹ tuz dozunun fidelerin çıkış oranı, fotosentetik pigment içerikleri, toprak altı ve toprak üstü kuru ağırlıklarını azalttığını bulmuşlardır.

El-lethy and Reda (2013), tuzluluk stresi altında makarnalık buğday çeşitlerine potasyum uygulamasının etkisini incelemek için 3 farklı konsantrasyonda NaCl (40, 80, 120 mM NaCl) ve 2 dozda potasyum (25, 150 mg K₂O/kg) uygulamışlardır. Çalışma sonunda elde edilen verilere göre 120 mM NaCl uygulaması yapılan bitkilerde kuru ve yaş ağırlık ve bitki boyu özelliklerinde önemli azalışlar görülmüştür.

Kök ortamındaki tuz miktarının artışı yaprak su potansiyelinde azalışa neden olmakta ve bu yüzden bitkide birçok süreç etkilenmektedir (Romero-Aranda *et al.* 2001).

Tuz stresinin fotosentezde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Fisarakis *et al.* 2001). Tuzluluğun bitki üzerindeki etkisi tuz konsantrasyonuna, bitki türüne ve genotipe bağlıdır. Tuz şartları altındaki bitkilerin fotosentezindeki azalma su potansiyeli azalmasından kaynaklanmaktadır. Fotosentez, kloroplastlarda yüksek Na⁺ ve Cl⁻ birikimiyle kısıtlanır.

Fotosentetik elektron taşınımı, tuz stresine nispeten duyarsız olduğu için ya karbon metabolizması ya da fotofosforilasyon tuzluluk stresinden daha fazla etkilenebilmektedir (Sudhir and Murthy 2004). Fotosentez ve verim arasında pozitif bir ilişki vardır (Pettigrew and Meredity 1994).

Tuz stresi şartları altındaki stoma iletkenliğindeki azalma karboksilasyon döngüsü için kullanılabilir ve CO₂ kısıtlamasıyla sonuçlanır (Brugnoli and Björkman 1992). Bu da stomal kapanmayla sonuçlanır ve terleme boyunca atılması gereken su atılamaz ve kloroplast aktivitesi değişir. Bitkilerdeki yüksek stoma kapanması, yapraklarda CO₂ tutulumu artışına sebep olur ve bu da fotosentetik döngüyü zorlaştırır (Maxwell and Johnson 2000).

Tuz stresi altında fotosentezdeki azalma sadece stoma kaynaklı değil aynı zamanda stoma dışı faktörlerden etkilenmektedir. Tuz stresi fotosentetik enzimlere, klorofile ve karotenoidleri de etkilemektedir (Stepien and Klobus 2006).

Güneş vd (1997), Ülkemizde genel olarak üretilen altı farklı buğday çeşidinin (Kıraç-66, Bezostaja-1, Gerek-79, Kızıltan-91, Çakmak-79 ve Bolal-2973) tuza toleranslarını incelemişlerdir. Bu nedenle toprağa 68 mmol/kg tuz (NaCl) uygulamışlardır. Farklı bitkisel parametreler kullanılarak tuz uygulanan ve uygulanmayan topraklarda yetiştirilmiş olan buğday varyetelerinin duyarlılıklarını kıyaslamışlardır. Elde edilen araştırma verilerine göre Gerek-79, Bolal-2973 ve Bezostaja-1 çeşitleri diğerlerine göre tuza daha toleranslı bulunmuş ve stres sonucunda Cl ve Na içerikleri diğer varyetelere nazaran daha düşük, klorofil, potasyum ve prolin içeriklerinin de daha yüksek bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Gupta *et al.* (1999), beş farklı buğday genotipinde tuz stresinin etkilerini inceledikleri çalışmada toleranslı çeşitler dışında tüm genotiplerde klorofil a'nın klorofil b'ye oranla daha fazla azaldığını belirlemişlerdir.

Çeltikte (*Oryza sativa*) yapılan bir çalışmada (Amirjani 2011) tuzun (200 mM NaCl) yapraklardaki Klorofil b içeriğini %41, Klorofil a içeriğini ise %33 azalttığı belirlenmiştir. Yine çeltik üzerinde yapılan başka bir çalışmaya göre 100 mM NaCl uygulaması yapılan bitkilerde kontrole karşılaştırıldığında Klorofil a, b ve Karotenoid içeriklerinde sırasıyla %30, %45 ve %36 azalma gözlenmiştir (Chutipaijit *et al.* 2011).

Tuzluluk, bitkilerde besin elementi dengesizliğine yol açmaktadır. Besin elementi dengesizliğinin muhtemel sebebi tuz stresinin besin elementlerinin alımına, elverişliliğine ve bitki içerisindeki taşınımına ve dağılımı üzerine olan olumsuz etkisinden kaynaklanmaktadır. Çalışmalar tuzluluğun, bitkide N birikiminde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Tuzluluk şartları altında N alımındaki azalma Cl^- ve NO_3^- ve/veya Na^+ ve NH_4^+ arasındaki etkileşim yoluyla ürün verim ve büyümesinde azalmaya sebep olur. Özellikle NO_3^- ve Cl^- arasında antagonistik bir etki olup tuzlu

koşullar altında su alımını da azaltmaktadır (Rozeff 1995). PO_4O_3^- 'ün aktivitesini azaltan iyonik kuvvet etkisi, toprak solüsyonundaki sorbsiyon tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmesi ve Ca-P minerallerinin düşük çözünürlüğü nedeniyle tuzlu topraklarda fosfor yarayırlılığı azalmaktadır (Qadir and Schubert 2002). Farklı bitki türlerinde yapılan çalışmalar ekstra Na^+ 'nın yüksek seviyesinin hem K^+ hemde Ca^{+2} 'un bitki dokularında konsantrasyonunda azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Hu and Schmidhalter 1997, 2005; Asch *et al.* 2000). Bitki dokularındaki K konsantrasyonundaki azalmanın ana nedeni köklerin alım bölgelerindeki Na^+ ve K^+ 'nın antagonistik etkisi nedeniyle meydana gelmektedir. Yine Hu and Schmidhalter (1997) *Triticum aestivum* yapraklarında tuz stresinin Mg^{+2} konsantrasyonunda azalmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. Tuzlu topraklarda mikro elementlerin yarayırlılığı mikro elementlerin çözünebilirliğine, toprak solüsyonun redoks potansiyeline ve organik ve inorganik parçacık yüzeylerindeki bağlanma bölgelerinin doğasına bağlıdır. Ayrıca bitki türüne ve tuz stresinin seviyesine bağlı olarak tuz stresi mikro element konsantrasyonunu farklı bir şekilde etkileyebilir (Oertli 1991). Mikro besin elementi eksikliği yüksek pH nedeniyle tuz stresi altında çok yaygındır (Zhu *et al.* 2004).

Alpaslan vd (1998), altı çeltik çeşidi (Kros 424, Baldo, Ribe, Serhat 92, Rocca ve Tri-445) ve yoğun olarak ülkemizde üretimi yapılan altı buğdayda (Bolal, Çakmak-79, Kızıltan, Gerek-79, Kırac-66 ve Bezostaya-1) tuz stresinde Fe, P, Ca, Zn, Cu ve Mn içeriklerindeki meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Tuz stresinin bitkilerde gelişimi sınırlandırdığı, bu bağlamda Kros 424 ve Tri-445 çeltik çeşitlerinde P içeriğinde artışa neden olduğu, Kızıltan buğday çeşidinde ise P içeriğinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Tuzluluğa bağlı olarak çeltik çeşitlerinden Rocca ve Tri-445'de, buğday çeşitlerinden Bolal, Kırac-66 ve Gerek-79 da Fe içeriği azalırken, Serhat 92, Ribe, Baldo ve Kros 424 çeltik çeşitleri ile Bezostaya-1 ve Çakmak-79 buğday çeşitlerinde ise arttığını gözlemlemişlerdir.

Almansouri *et al.* (1999), üç makarnalık buğday varyetesinde kademeli dozlarda ve ani olarak tuz uygulaması yaparak çimlenme dönemine olan etkilerini araştırmışlardır. Steril edilen tohumlar filtre kağıtlarında çimlendirilip 7 gün sonunda havalandırılmış ve

homojen sıvı ortamlarda büyütmüşlerdir. 21 gün sonra başlanan tuz uygulamasını tek dozda ya da kademeli olarak günlük 25 mmol/l artışla (0, 50, 100 ve 150 mmol/l NaCl) başlamışlardır. Her iki uygulama sonunda örneklerde yapılan kök ve sürgün incelemelerinde stres nedeniyle K oranı, yaprak ozmotik potansiyeli ve büyüme hızında azalma olduğu, çözünebilir şeker miktarı, prolin ve Na^+ oranının arttığını bildirmişlerdir. Ortaya çıkan bu etkilerin tek doz olarak verilen ani tuz uygulamasında daha fazla olduğu ve bu uygulamanın diğer tuz uygulaması olan kademeliye göre daha fazla zarar verici olduğunu tespit etmişlerdir. Tuz uygulamaları arasındaki ölçülebilir farklılıklar dikkate alınarak, genotiplerde adaptasyon mekanizmasını kademeli tuz uygulamasının geliştirdiğini düşünmüşler, fakat bu durumun belirlenen kriterlere, stres düzeyinin büyüklüğüne ve en önemlisi de genotiplere bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Eker *et al.* (2006), tuz stresinin hibrit mısır (*Zea mays* L.) çeşitlerinde kuru madde üretimi ve iyon birikimi üzerine etkisini incelemek için yürüttükleri bir çalışmada toplam 19 adet hibrit mısır çeşidini büyümenin erken döneminde tuz stresine maruz bırakmışlardır. Besin çözeltisine 250 mM NaCl uygulanmıştır ve bu uygulama hasattan 6 gün önce yapılmıştır. Ardından 17 gün yetiştirmeden sonra yeşil aksam ve kuru kök madde verimi, yaprak zarar oranı, yeşil aksam ve kökte potasyum, sodyum ve kalsiyum konsantrasyonları belirlenmiştir. Yaprak zarar şiddetine göre Maverik en toleranslı, C.7993 ise en duyarlı çeşitler olmuştur. Toleransı en düşük olan C.7993 çeşidi, en dayanıklı olan Maverik çeşidine göre yeşil aksamında 4 kat daha fazla Na konsantrasyonuna sahip olmuştur.

Ghogdi *et al.* (2012), ekmeklik buğdayda tuzluluğun bazı fizyolojik özelliklerine olan etkisini incelemek için yürüttükleri bir çalışmada tuzluluk bitkiye, kalsiyum klorid ve sodyum kalsiyum (1:10) yoluyla, 4 dozda (kontrol 1,3 dSm⁻¹ ve 5, 10, 15 dSm⁻¹) uygulanmıştır. Tuza toleranslı Sistani ve Neishabour çeşitleri ve tuza hassas olan Tajan ve Bahar çeşitleri kullanılmıştır. Klorofil (b) içeriği, yaprak su içeriği, sodyum ve potasyum içerikleri ve K^+/Na^+ oranı, toplam tane verimi ve tanelerin kimyasal içerikleri belirlenmiştir. Tuz stresi su içeriği, K^+ içeriği, K^+/Na^+ oranı ve tane verimini azaltmış ancak Na^+ içeriğini tüm genotiplerde ve filizlenme ve çiçeklenme safhalarının her

ikisinde de artırmıştır. Çiçeklenme oranı düşüş göstermesine rağmen klorofil içeriği artış göstermiştir. Sistani ve Neishabour çeşitlerinde tuz şartları altında K^+ içeriği, K^+/Na^+ oranı ve su içeriği daha fazla bulunmuştur. Bahar ve Tajan çeşitlerinde ise her iki safhada da klorofil b ve sodyum içerikleri daha fazla gözlenmiştir.

Akram and Ashraf (2011), ayçiçeğinde yaptıkları bir çalışmada yüksek tuz (NaCl) konsantrasyonunun iyon toksisitesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Yine, Tufail *et al.* (2013) yaptıkları bir çalışmada mısır (*Zea mays*) bitkisine uygulanan 120 mM'lık tuz (NaCl) konsantrasyonunun bitkilerin besin alımında azalmaya sebep olarak iyon toksisitesini arttırdığını belirlemişlerdir.

Fotosentez ve verim arasında pozitif bir ilişki vardır (Pettigrew and Meredith 1994). Dolayısıyla tuz stresi ürün verimini etkileyen önemli stres kaynaklarından biridir.

Tuz toleransı, elektriksel iletkenlik eşik değeri ile bu değerin üzerindeki her elektrik iletkenlik değeri için verimdeki yüzde azalışla belirlenir. Yapılan çalışmalar verimdeki çeşitliliğin tolerans derecesi ve tuz konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir (Mass 1986).

Yüksek tuz konsantrasyonuna bağlı olarak uzun süre tuz stresine maruz kalan bitki yapraklarında Na^+ ve Cl^- birikimine ve yaprak ölümlerine neden olmaktadır. Vakuollerde biriken tuz miktarının üstündeki tuz dozlarına bağlı olarak yaprak hasarı ve ölüme yol açmaktadır. Tuzluluğa (10 mM NaCl) maruz bırakılan çeltik (*O. sativa*) bitkisinde yapılan bir çalışmada (Khatun and Flowers, 1995) %38 oranında tohum tutmada azalma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, Dolatabadian *et al.* (2011) tarafından *Glycine max* bitkisinde yapılan çalışmada tuz stresinin yaprak alanını etkilemediği fakat bitki boyu, kök ağırlığı, yaprak sayısı ve sürgün gelişimini önemli derece olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir.

Akram *et al.* (2002), farklı tuz konsantrasyonlarının (2, 5, 10, 15, 20 dSm⁻¹) buğdayda verim ve verim öğeleri üzerine olan etkisini incelemek için yürüttükleri bir çalışmada

tuzluluğun başak boyunu, başaktaki çiçek sayısını, tane sayısını, bin tane ağırlığını ve tane verimini azalttığını belirlemişlerdir. Bu azalma oranının tuz konsantrasyonu ve genotipe göre farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Shamsi *et al.* (2013), üç buğday çeşidinin (Chamran, Marvdasht ve Shakryar) tuz stresine karşı verdiği biyokimyasal ve fizyolojik tepkiyi çalışmışlardır. Üç konsantrasyonda yürütülen (0, 6, 8 ve 16 dSm⁻¹) tuz stresi faktörlerine karşı alınan sonuçlara göre tuz konsantrasyonundaki artış, başaktaki yüzde tane oranını, bitkideki yüzde tane oranını, döl veren bitki sayısını ve kardeşlenme sayısını, bin tane ağırlığını, bitki boyunu, tane verimini, biyolojik verimi, ürün indeksini ve bitkideki su içeriğini azaltmıştır. Fakat prolin ve suda çözünen karbonhidrat oranını arttırmıştır. Yine aynı çalışmada, tuzluluğun bitkideki olumsuz etkilerinden biri olarak ise Na⁺ içeriğindeki artışa karşı yapraklardaki K⁺ bileşenlerinin azaldığı belirlenmiştir.

Amira and Qados (2009), tarafından yapılan bir çalışmada tuz stresi şartlarında Sakha61 buğday genotipinin kimyasal bileşeni ve verimi üzerine Arjinin uygulamasının etkisi incelenmiştir. Bitkiler 4 farklı tuz konsantrasyonu (2000, 4000, 6000 ve 8000 ppm) içeren su ile sulanmıştır. Araştırmada 6000 ve 8000 ppm'lik konsantrasyonlarla uygulama yapılan bitkilerin tüm verim öğelerinde kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında önemli azalmalar olduğu görülmüştür.

Zheng *et al.* (2009), tarafından ekmeklik buğdayda tuza toleranslı (DK961) ve tuza hassas (JN17) çeşitlerini kullanarak yapılan bir çalışmada, tuz stresinin (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl) tane verimine ve kaliteye olan etkisi incelenmiştir. Araştırma sonunda, JN17 genotipinin tane verimi ve bin tane ağırlığı kontrol uygulamasına göre 150 mM NaCl'de tane veriminde %79,6, bin tane ağırlığında %28,3 azalış belirlenirken, DK961 genotipinde 150 mM NaCl'de tane veriminde %40,0, bin tane ağırlığında ise %11,96 azalış olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada, kalitenin tuz stresinden etkilendiği bildirilmiştir.

Turki *et al.* (2012), 39 tane yazlık, 16 tane kışlık olmak üzere toplam 55 adet makarnalık buğday genotipi kullanarak tuz stresinin tane verimine ve kaliteye olan etkisini incelemiştir. Araştırma sonunda tuz stresine bağlı olarak 45 genotipin veriminde ve kalitesinde önemli oranda azalışlar gözlemlenirken, 10 tanesinin ise tuz stresine toleranslı olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada, kışlık çeşitlerin yazlık çeşitlere göre tuz stresine daha toleranslı olduğu rapor edilmiştir.

Nia *et al.* (2012), tuzlu (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ve 0.6 mol/l) ve tuzsuz topraklarda tuzluluğun etkisinin buğday verim ve verim öğeleri üzerine olan etkisini incelemek için yaptıkları bir çalışmada tuz stresinin bitkilerin saman ağırlığı, tane verimi, bitki ve başak boyu, kök ve kardeşlenme sayısı, başak ağırlığı, tohum sayısı ve bin tane ağırlığı gibi özellikleri azalttığını gözlemlemişlerdir.

Doku kültürü tekniği son yıllarda strese toleranslı bitkiler geliştirmek için uygun ve düşük maliyetli bir alternatif araç olarak ortaya çıkmıştır. Bu teknik sınırlı alan ve zamanda kontrollü koşullarda çalışılabilir ve düşük maliyette, hızlı ve güvenilir bir şekilde strese toleranslı varyantların seleksiyonunda kullanılabilir (Sakhanokho and Kelley 2009).

Karadimova and Djambova (1993), bir ekmeklik ve üç makarnalık buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarını eksplant olarak kullandıkları *in vitro* tuz stresi çalışmalarında meydana gelen kallusları farklı tuz konsantrasyonları içeren besi ortamlarına aktarmışlardır. Artan tuz konsantrasyonları ile (% 0, 0.3, 0.5, 0.7) iki alt kültür uygulaması yaparak kallusların gelişme düzeyini, kallusların ağırlıklarını karşılaştırarak belirlemişlerdir. Uyguladıkları tüm tuz konsantrasyonlarında elde edilen rejenere bitkileri tuz bulunmayan ortamlarda yetiştirip tohuma gitmelerini sağlamışlardır. Çalışmaya alınan buğday bitkilerinin tohumlarını tuz içeren sıvı besin ortamlarında yetiştirerek %0.5 ve 0.7 tuz konsantrasyonlarında dayanıklı bulunan buğday çeşitlerinin yeni jenerasyonlarının da tuz stresine dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir.

Winicov (1996), yapmış olduğu çalışmada tuza toleranslı ve tuza hassas olduğu daha önceden belirlenmiş olan beş çeltik çeşidinde hücrese düzeyde tuza toleransı kallus kültürü ile araştırmışlardır. Çeşitlere ait olgun embriyo kaynaklı kallusları 1 ay sonunda %1 (10 g/l) seviyesinde tuz içeren besi ortamlarına aktarmıştır. 1, 4 ve 5 ay olarak alt kültür süreleri uygulamıştır. Tuz kullanımını rejenerasyon aşamasında yapmışlardır. Kallusların rejenerasyonunda uygulanmış olan bu seleksiyon yönteminin olumsuz bir etkisinin olmadığını başaklanabilen güçlü bitkiler olduğunu ve genel olarak da fertil olduklarını gözlemlemiştir. Toprağa aktardığı rejenere bitkileri sera ortamında büyütüp tohum tutmalarını sağlamıştır.

Kintzios *et al.* (1997), ekmeklik buğday çeşidi ‘Vergina’ da *in vitro* şartlarda olgun embriyo kültürü ile tuz stresinin bitki rejenerasyon kapasitesi ve kallus oluşum düzeyine etkisini incelemiştir. Sterilize edilen tohumlar filtre kağıtları içinde 48 saat bekletmişlerdir. Bu tohumlardan alınan olgun embriyolar 0, 3, 6 ve 9 g/l tuz konsantrasyonlarında ve farklı oranlarda büyüme düzenleyici içeren besi ortamlarında kallus meydana getirmişlerdir. Elde edilen kallusları 3 ayrı gruba ayırarak kök oluşumu, sürgün gelişimi ve kallus oluşum parametrelerini incelemiştir. Kullanılan tüm besi ortamlarında %100’e yakın kallus oluşmuş ancak yüksek seviyede tuz içeren ortamlarda kallus oluşumlarında gecikmeler görülmüştür. Yüksek dozlardaki tuzun kallus oluşumu başta olmak üzere sürgün gelişimi ve kök oluşumunu azalttığını ancak morfolojik olarak kallusların görünümüne bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. En iyi bitkinin 2,4-D (2 mg/l) ile kallus oluşumu ve 3g/l NaCl, 1mg/l NAA alt kültüründe olduğunu belirtmişlerdir. *In vitro* şartlarda tuza dayanıklı genotiplerin seçimi kallus gelişim düzeyinde 3-5 g/l tuz dozlarında yapılırken, bitki rejenerasyonu evresinde tuzun sürgün oluşumunu azaltıcı etkisi nedeniyle 6 g/l ve daha yüksek dozlardan genotip seçiminin yapılmasını öngörmüşlerdir.

Basu *et al.* (1997), 43, 85 ve 128 mM tuz dozlarında hassas olduğu bilinen 370 Basmati çeltik varyetelerinden alınan olgun embriyolar kullanılarak geliştirdikleri kallusları seleksiyona almışlardır. Elektron mikroskobu ile gerekli morfolojik incelemeler gerçekleştirilmiş, sürgün ya da kalluslarda prolin kapsamı belirlenmiştir. Mikroskop ile

yapılan inceleme sonucunda sürgün ve kallus oluşumları tuza adapte olanlarda, adapte olmayanlara göre yavaş olduğu ve bu durumun ortamdaki yüksek tuz konsantrasyonundan dolayı gerçekleşen hücre ölümlerinden kaynaklandığını tespit etmişler ve prolin içeriklerini karşılaştırdıklarında kontrol düzeyindeki kalluslardan, tuza adapte olan kallusların dört kat daha fazla bulunduğunu belirlemişlerdir.

Arzani and Mirodjagh (1999), olgunlaşmamış embriyoları kullanarak makarnalık 28 buğday çeşidinde yapılan çalışmada, yüksek kalitede embriyonik kallus oluşumu, kısa zamanda yüksek seviyede rejenerasyon ve *in vitro* tuz (NaCl) tolerans potansiyelini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Olgunlaşmamış embriyolardan geliştirilen kallusları 8 farklı konsantrasyondaki (% 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1) ortamlara 16 gün sonunda aktarmışlardır. Dörder haftalık iki alt kültür evresiyle ortamlarda bekletilen kalluslar tekrar tartılmış ve tuzlu ortam sonundaki yeni ağırlıklarının hesaplandığını belirtmişlerdir. Çeşitler için kallus oluşturma kapasiteleri hesaplanırken kallus ağırlığı ve kallus oluşum yüzdesi değerlerini dikkate almışlardır. Kallusların sararma yüzdeslerini ve taze kallus ağırlıklarını tuza toleransta dikkate almışlardır. Tuzlu ortamlara alınmış olan kalluslardaki sararmaların yüzdesini, ortaya çıkan nekrozları dikkate alarak tespit etmişlerdir. Tuz konsantrasyonlarındaki artış ile oluşan kalluslardaki gelişmelerde azalmaların meydana geldiği ve %1-1.5 tuz konsantrasyonlarında kalluslarda kahverengileşmeler olduğu, nekrozların oluştuğu ve son olarakta rejenerasyon kabiliyetlerini yitirdiğini tespit etmişlerdir.

Zair *et al.* (2003), bir ekmeklik ve 7 makarnalık buğday çeşitlerine ait olgunlaşmamış embriyolarda, embriyoları uzunlamasına ikiye bölüp *in vitro* tuz etkilerini incelemeyi amaçlamışlardır. Kallus oluşturma aşamasında tuz konsantrasyonlarını (0, 2.5, 5, 10, 15 g/l) uygulamaya başlamışlar ve rejenerasyon evresinde tuz uygulaması yapmamışlardır. 5 hafta boyunca tuz stresine maruz kalan kallusları rejenerasyon ortamlarına aktarmışlar ve daha sonra yeni bitki elde etmişler. Oluşan rejenere bitkileri başak uzunluğu, başaktaki tane sayısı ve bitki boyu bakımından kontrol bitkileriyle kıyaslamışlardır. Aynı şekilde kontrol tohumlarıyla elde edilen tohumları çimlendirme testine alıp, 0, 5, 10, 20 ve 30 g/l miktarlarında tuz kullanmışlardır. Genel olarak tuz miktarındaki artışa

(2.5 g/l'den sonrası) bağı olarak kallus oluşumunda azalma olduğu ancak bunun yanı sıra bazı çeşitlerde artan tuz miktarına (10-15 g/l) rağmen yüksek oranda kallus oluştuğu gözlenmiştir. Tuz stresi bütün genotiplerde genel olarak rejenerasyonu büyük oranda azaltmıştır. Rejenere bitkiler kontrol bitkileriyle kıyaslanmış ve karşılaştırılan özellikler bakımından bir farklılığın olmadığı ayrıca çimlendirme testleriyle rejene bitki tohumlarının kontrol bitki tohumlarından daha iyi değerlere sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ilk olarak tuzluluğa toleransın genotipe bağlı olduğunu, ayrıca tuzluluğa dayanıklılığı geliştirmede embriyonun parçalanarak kullanılmasının etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Machlab *et al.* (2003), 28 ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin farklı dozlarda ki (% 0.25, 0.5, 0.75, 1 ve 1.5) NaCl stresi altında *in vitro* koşullar altında kallus oluşturma yeteneklerini araştırmışlardır. En dayanıklı genotipi belirlemek üzere yapılan bu çalışmada ekmeklik buğday genotiplerinin makarnalık buğday genotiplerine göre tuzluluğa karşı daha fazla tolerans oluşturdıkları belirlenmiştir. ACSAD 921 ve 949 genotipleri en yüksek NaCl dozunda %41 ve %51 düzeyinde kallus oluşturmuşlardır.

Benderradji *et al.* (2007), Mahon Demias ve Hidhab buğday genotiplerinin olgun embriyolarını kallus oluşumu için 10 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre almışlardır. 4 hafta sonra meydana gelen kallusları seleksiyon için 0, 5, 10 ve 15 g/l NaCl içeren MS ortamına aktarmışlardır. Rejenerasyon etkinliği bakımından her iki çeşit arasında farklılık olduğunu ve Mahon Demias genotipinin Hidhab'tan daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada Hidhab genotipinin 5 g/l NaCl içeren ortamda olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir.

Akhtar *et al.* (2007), Arz, Pak-81, Lu-26 ve Pavon genotiplerinin tohumlarından 2 mg/l 2,4-D içeren MS ortamından elde ettikleri kallusları 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl₂ ve CaCl₂'den oluşturulan tuz stresinde kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda rejenerasyon oranı bakımından en toleranslı çeşit olarak Lu-26 genotipini belirlemişlerdir.

Ayolié *et al.* (2011), olgunlaşmamış embriyolardan elde ettikleri kallusları 0, 4, 8, 12 ve 16 g/l NaCl içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Tuz stresinin kalluslarda rejenerasyon oranında ve sürgün sayısında azalmaya neden olduğunu bu azalmanın en fazla 12 ve 16 g/l NaCl’de meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Koyuncu (2012), onüç makarnalık genotipinin olgunlaşmamış embriyolarını kallus aşamasında 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 g/l NaCl ve 8 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre almıştır. Araştırmada, kallus oluşumu, kallus ağırlığı ve rejenere kallus bakımından çeşitler arasında önemli farklılıklar bulmuştur. Araştırmada, Mirzabey-2000 ve Selçuk-97 çeşitlerini toleranslı genotipler olarak belirlemiştir.

Fazali-Nasab *et al.* (2012), Tabasi, Roshan ve Nik-nezhad genotiplerinin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarından elde etmiş oldukları kallusları 0, 70, 140, 210, 280 mg/l NaCl ve 0, 3, 6, 9, 12, mg/l ABA içeren ortamda kültüre almışlardır. Kalluslarda nispi gelişim ve nispi taze ağırlığın sodyumun etkisiyle azaldığını bildirmişlerdir. Yine ABA’nın kallus kültüründe tuz stresine karşı dayanıklılığı arttırdığını bildirmişlerdir.

Tuzluluğa dayanıklı buğday genotiplerinin yetiştirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada (Sehrawat *et al.* 2012) dişi birey olarak seçilen Kharchia 375 ve Kharchia 65 genotipleri ile oluşturan 9 farklı F₁ döllerinden elde edilen olgunlaşmamış embriyolar kültüre alınmıştır. Farklı tuz konsantrasyonlarında (4, 12, 20, 28 ve 36 dSm⁻¹) büyümeye bırakılmıştır. Artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak sürgün oluşumu azalmıştır. Toplam 147 başak oluşmuş, başak uzunluğu, başaktaki tane sayısı ve başakçık sayısı çaprazlamalarda farklılık göstermiştir. Kharchia 375 x HD 2009 melezinin tuzluluğa toleranslı iken, Kharchia 375 x WH 147 melezinin ise en düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Al-Ashkar (2013), beş buğday genotipinde yapmış olduğu çalışmada 0.5 mg/l NAA ve 0.5 mg/l kinetin içeren MS ortamında anterleri kültüre almıştır. Bu ortamda meydana gelen 1 cm uzunluğundaki sürgünleri 2 mg/l BAP içeren ortamda 3 hafta bekletdikten

sonra 0, 100 ve 200 mM/L NaCl ile 2 mg/l BAP içeren MS ortamına aktarmıştır. Tuz tolerans indeksi bakımından genotipler arasında farklılıklar olduğunu tespit etmiştir.

Forooghian and Esfarayeni (2013), 3 farklı patates genotipinde tuz stresini çalışmışlar ve steril şartlarda elde etmiş oldukları sürgünleri 5 mg/l 2,4-D ve 2 mg/l Kinetin içeren MS ortamında kültüre alarak kallus elde etmişlerdir. Elde etmiş oldukları kallusları 0, 5, 75 ve 100 mM NaCl içeren MS ortamında kültüre almışlardır. 4 hafta sonunda kallus kuru ağırlığı, kallus yaş ağırlığı ve kallus nispi su içeriği bakımından incelemişlerdir. Tuz stresinin artışına bağlı olarak kallus kuru ve yaş ağırlığında azalma meydana gelmiş yine kalluslarda kararmalar görülmüştür. Yine aynı çalışmada, Agria çeşidi diğer çeşitlerle karşılaştırıldığında en yüksek toleransa sahip olmuştur.

Nawaz *et al.* (2013), Faisalabad-2008 buğday genotipinin olgunlaşmamış embriyolarından elde ettikleri kallusları 0, 5, 10 ve 15 g/l NaCl içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Faisalabad-2008 genotipinin tuz stresi şartları altında iyi bir rejenerasyon yeteneğine sahip olduğunu 15 g/l tuz konsantrasyonunun kalluslarda nekrotik dokular oluşturduğunu ve bu konsantrasyonun rejenerasyon oranında önemli oranda azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Siddique *et al.* (2014), 3 çeltik çeşidini kullanarak yapmış oldukları çalışmada olgun embriyolardan elde etmiş oldukları 5 haftalık kallusları 2.9, 5.9, 8.8 ve 11.7 g/l NaCl içeren MS ortamında tuz stresine maruz bırakmışlardır. Genotiplerin kallus canlılığı, nispi gelişme oranı, tolerans indeksi ve nispi su içeriği bakımından farklılık gösterdiğini ve bu özellikler bakımından BRRI dhan47 genotipinin en yüksek performansa sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Ayed-Slama *et al.* (2015), iki makarnalık (Razzek, Jenah Khotifa (JK)) buğday çeşidinde yapmış olduğu çalışmada olgun embriyolardan elde etmiş oldukları kallusları 100 mM NaCl içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Jenah Khotifa çeşidinin kallus ağırlığı, rejenere olan kallus yüzdesi ve kallus başına sürgün sayısı bakımından tuz stresine toleranslı olduğunu belirlemişlerdir.

Al Hattab *et al.* (2015), Tamo2 ve Iraq genotiplerinin olgun embriyolarından elde ettikleri kallusları 6, 8, 12 ve 14 dSm⁻¹ NaCl içeren MS ortamında tuz stresine maruz bırakmışlardır. Kallus taze ve kuru ağırlığı bakımından genotipler arasında önemli derecede farklılık olduğunu Tamo2 genotipinin Iraq genotipinden daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir.

Reaktif oksijen türleri (ROT) bitkilerde redoks sinyal iletim yolunda sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır. Ancak, stres şartları altında ROT'ların aşırı üretimi DNA, protein ve membran lipidlerine zarar vermektedir (Silva *et al.* 2010). Yağların oksidasyonunu yavaşlatan maddeler antioksidanlar (yükseltme önleyici) olarak bilinmektedir (Keskin ve Erkmen 1987). Devam eden canlı bünyesindeki kimyasal oluşumların özellikle de stres koşullarında serbest radikallerin kontrolsüz ve etkisiz bir biçimde çoğalmasına ve bunun sonucunda da oksitlenmeler meydana gelmektedir. Yüksek seviyede reaktif olan serbest radikaller değişik moleküllerle reaksiyona girmekte ve hücreye bu nedenle de canlıya önemli derecede zararlar vermektedir. Bu durumda serbest radikallerle bağ kuran antioksidanlar savunma mekanizması olarak görev yapar ve hücrenin yani canlının zarar görmesini engellerler (Shahidi 1997).

Membranlarda ROT ve yağ radikallerini temizleyen α -tokoferoller faydalı lipofil antioksidan sınıfındadır ve koruyucu olarak görev yapan temel bileşenleri oluşturmaktadır. α -Tokoferol, E vitaminleri içinde yer alan farklı dört (α -, β -, γ -, δ -) izomer içinde antioksidan kapasitesi en yüksek olan antioksidandır. Tokoferollerin sentezi yalnızca fotosentetik organizmalar tarafından olmaktadır. Bu durumda suyun sadece bitkilerdeki yeşil dokularda olmasına neden olmaktadır. γ -tocopherol ; γ -tokoferol-metil-transferaz (γ -TMT kodlu VTE4) enzimiyle sentezlenir. Tokoferoller bilinen yapısal ve işlevsel iki yeteneğe sahiptirler. Kloroplastlardaki yağlar ve membran bileşenlerini, serbest oksijen ve su stresine karşı korur. Stres şartlarına bağlı olarak oluşan fazla enerjiye karşıda fotosistemII sistemini korumaktadır. Ayrıca LPO döngüsünde kararsız zincir çoğalmasını engellemekte ve etkin serbest radikalleri de tokoferoller yakalamaktadır. Membran-su arayüzünde ki yağ radikallerini α -tokoferol (ROO $\cdot$, RO ve RO $\cdot$) azaltmakta ve TOH $\cdot$ dönüştürmektedir. TOH $\cdot$ radikali AA

(askorbat) ve düşük form GSH (İndirgenmiş glutatyon) ile etkileşime girerek geri dönüşüme uğramaktadır (Das and Roychoudhury 2014).

Tokoferoller bitki büyümesi ve gelişmesi, lipid peroksidasyonunun önlenmesi, yaşlanma, abiyotik ve biyotik sinyalleri iletmek üzerine ve sinyalleri katlayarak etkileşimi artırmak gibi farklı fizyolojik olaylarda rol oynamaktadır. (Sattler *et al.* 2004; Bafeel and Ibrahim 2008).

Munne'-Bosch *et al.* (2001), kuraklığın neden olduğu yaşlanma ve kloroplast kaybı ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Kuraklık, oksidatif stres ve yaprak yaşlanması arasındaki ilişki adaçayı (*Salvia officinalis* L.) bitkisinde değerlendirilmiştir. Araştırmada, kloroplast mezofil hücrelerinin plazma zarında, kuraklık ve dolayısıyla oksidatif stres şartlarında H₂O₂ ve ROT birikimine karşı β -karoten ve α -tokoferol uygulamasının ROT türleri birikimini azalttığı ve böylece oksidatif stres kaynaklı bitki zararlanmasını önlediğini bildirmiştir.

Havaux *et al.* (2005), çalışmalarda UV-C uygulaması ile gerçekleşen stres şartlarının bitkilerin α -tokoferol düzeylerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmada, α -tokoferol antioksidanının çoklu doymamış yağ asitlerindeki zincir reaksiyonu ile lipid oksidasyon kaynaklı serbest radikal moleküllerinin sonlandırma özelliğinin olduğu ve bu görevi ile zincir kırıcı etkili bir antioksidan çeşidi olduğu anlaşılmıştır. Dolayısı ile UV-C stres şartlarında artan bu α -tokoferol oranının, aynı zamanda deney materyalini stres şartlarından korunmasında etkili olduğu belirlenmiştir.

Rivero and Orcutt (1991), su stresi altında yerfıstığında (*Arachis hypogea* L., cv. NC-17) mutasyon bir mantar ilacı olan dinikonazol (DINI) ile muamele karşısında α -tokoferol, glutatyon ve askorbat tepkileri araştırılmıştır. Kontrol ve DINI uygulamaları bitkilerde α -tokoferol düzeyleri arasında belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Ancak, α -tokoferol düzeyinde %14 oranında bir artış su stresi altında DINI uygulanan bitkilerde belirlenmiştir.

Szarka *et al.* (2012), askorbat, glutasyon ve α -tokoferol uygulamalarını yapmış ve bunların abiyotik stres koşullarına verdikleri tepkileri incelemiştir. Sonuç olarak üç uygulamanın da bitkilerde zararlanma oranını düşürdüğünü ve ROT oluşumunu engellediğini belirtmişlerdir.

Soltani *et al.* (2012), pridoksin ile α -tokoferolün bitki gelişim üzerine etkisini araştırmışlardır. Tarla koşullarında İran da gerçekleştirilen çalışmada *Calendula officinalis* L. bitkilerine farklı dozlarda 0-50 ve 100 ppm α -tokoferol uygulayarak bitkilerdeki büyüme ve gelişme sonuçlarını incelemişlerdir. Bitki gelişimi için 100 ppm α -tokoferol uygulamasını önermişlerdir. Yaprak alanı, klorofil b, kök ağırlığı, hiperoside ve indirgen şeker miktarlarının azaltılmasıyla da en yüksek tohum veriminin alınacağını belirtmişlerdir.

El-Bassiouny *et al.* (2005), bakla bitkisinde yapraklara sprey yardımı ile vitamin E uygulamışlar, büyüme parametrelerinde, verim ve verim bileşenlerinde, Klorofil a, Klorofil b ve karotenoid içeriklerinde artış olduğunu bildirmişlerdir.

Abbasi *et al.* (2007), yaptığı çalışmada stres koşullarında transgenik tütün (*Nicotinia tabacum*) bitkisinde α -tokoferol antioksidanın etkisini konu almışlardır. Çalışma sonucunda stres koşullarında α -tokoferolün membran hasarı, elektrolit sızıntısı ve lipid oranı gibi fizyolojik parametrelerinin azaldığını belirtmişlerdir.

Mayank *et al.* (2011), gerçekleştirmiş olduğu çalışma ile tokoferol kompozisyonu ve içeriğinin bitkilerdeki stres toleransı üzerine etkisini incelemek için; temel olarak susturulmuş homogentisat fitiltransferaz ve γ -tokoferol methiltransferaz içeren transgenik patates (*Solanum tuberosum*) bitkisinde yapmıştır. Yapılan analizler ve bulunan sonuçlara göre stres tolerans mekanizmasını tokoferol aktivitesindeki artışın olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Sadak and Dawood (2014), stres faktörlerinden tuzluluğun etkisini keten bitkisi (*Linum usitatissimum* L.) kullanılarak yapılan çalışma stres etkilerinin hafifletilmesi için absisik

asit ile birlikte α -tokoferolün işlevini araştırmışlardır. Kuraklık stresi altındaki bitkide α -tokoferolün klorofil kayıplarını en aza indirdiğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak α -tokoferol uygulanan keten bitkisinde protein sentezi ve hücre ölümünde azalma olduğu ve toplam karbonhidrat miktarında artış olduğunu belirlemişlerdir.

Sadak (2014), keten bitkisinde 2010-2011 ve 2011-2012 yıllarında yapmış olduğu çalışmada, 3 farklı keten genotipinde (Sakha 3, Giza 8, Ariane) askorbik asit (Vitamin C) ve α -tokoferolün (Vitamin E) 2 farklı dozunu kullanarak (askorbik asit; 1.13, 2.27, α -tokoferol; 0.46, 0.93), 4 farklı tuz stresi (0, 3.08, 6.16, 9.23) altında keten yapraklarında toplam fotosentetik pigment değerine, toplam karbonhidrat ve protein oranına, mineral madde içeriğini incelemiştir. Çalışma sonucunda toplam fotosentetik pigment değerinin Giza 8 genotipinde 0 dSm^{-1} tuz stresinde uygulanan 2.27 mM askorbik asit dozundan elde edilmiştir. Protein oranının ise %6.81 ile 18.0 arasında değiştiğini gözlemlemiş en yüksek protein oranının kontrol tuz stresi altında 2.27 mM askorbik asit dozundan elde ettiğini bildirmiştir. Doymamış yağ oranları bakımında en yüksek değerin %88.94 olduğu ve Giza 8 genotipinde 0 dSm^{-1} tuz stresinde uygulanan 2.27 mM askorbik asit dozunda elde etmiştir. Çalışma sonucunda askorbik asit ve α -tokoferolün yapraktan uygulanması, tohum verim ve miktar olarak yansıyan 3 keten çeşidinin çoğu metabolik ve fizyolojik sürecinde tuz stresinin zararlı etkisini azaltma üzerine olumlu rol oynadığını belirtmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmada bitki materyali olarak Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Kırık ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi kullanılmıştır. Kırık, uzun ince saplı bir bitki olup, vejetatif devre ile generatif devrenin başlarında bayrak yaprağı ayasının sap ile dar bir açı meydana getiren morfolojik karaktere sahiptir. Başak uzunluğu ortalama 9 cm civarında, kılçıksız, kavuz rengi kırmızımsı ve tüylüdür. Tane iri, dolgun ve beyazdır. Kardeşlenme kapasitesi düşüktür. Ayrıca Krik, olgun embriyo kültürüne oldukça iyi cevap veren (Aydın *et al.* 2011) ve tuza hassas (Şenay *et al.* 2005) bir ekmeklik buğday çeşididir.

3.1.2. Kallus Kültürü Ortamlarında Kullanılan Kimyasallar

3.1.2.a. Temel besi ortamı

Kallus oluşumu ve somatik embriyogenesis çalışmalarında Murashige and Skoog (1962) tuzları kullanılmıştır. MS ortamının içerdiği kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASAL BİLEŞİMİ	Miktarı (mg/l)
İnorganikler	
Makro elementler	
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂	332.2
MgSO ₄	180.7
KH ₂ PO ₄	170
Mikro elementler	
Na ₂ EDTA	37.26
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
MnSO ₄ .H ₂ O	16.9
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Organikler	
Glisin	2
Myo-inositol	100
Nikotonik asit	0.5
Pridoksin-HCl	0.5
Tiamin-HCl	0.1

3.1.2.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak çalışmada kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2 verilmiştir.

Çizelge 3.2. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı
Askorbik Asit	100 mg/l
MES hidrate	1.95 g/l
Pyhtagel	2 g/l
Sakkaroz	20 g/l
Dikamba	12 mg/l
IAA	0,5 mg/l
TDZ	0,5 mg/l

3.1.3. Bitki rejenerasyonu ortamlarında kullanılan kimyasallar

Bitki rejenerasyon çalışmalarında oksinsiz kallus oluşum ortamına ilave olarak 0.5 mg/l TDZ ilave edilmiştir.

3.1.4. Tuz stresi ve tuz stresine karşı kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

Tuz stresini oluşturmak için sodyum klorür (NaCl) ve tuz stresine karşı α - tokoferol kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasalların konsantrasyonları Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Buğday olgun embriyo kültüründe kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

Kullanılan Kimyasallar	Konsantrasyonlar
Sodyum Klorür (NaCl)	0 mM, 50 mM, 100 mM, 150 mM ve 200 mM
α -Tokoferol	0 mg/l, 50 mg/l ve 100 mg/l

3.2. Yöntem

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır.

3.2.1. Sterilizasyon yöntemleri

3.2.1.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu

Steril çalışma alanında kullanılan yüzeyler (steril kabin içi) kullanımdan en az 10–15 dakika önce %70’lik etil alkolle silinmiş ve UV lambası açılmıştır. Kültüre alma işlemi başlamadan önce UV lambası kapatılmıştır. Kullanılan aletler (bisturi, pens vb.) kullanımdan önce etil alkol içine batırıldıktan sonra alev lambasında alevle yüzey

sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Eksplantların kesimi alüminyum folyo içine sarılarak otoklav edilmiş 10 x15 cm boyutlarındaki kurutma kağıtları üzerinde yapılmıştır.

3.2.1.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu

Tohumlar musluk suyunda yıkandıktan sonra %70'lik etil alkolde 5 dakika karıştırılarak steril kabin içersinde 3 defa steril saf suyla çalkalanıp daha sonra %1'lik sodyumhipokloritte (%20'lik ticari çamaşır suyu) 35 dakika karıştırılmış ve 3 kez steril saf su ile durulanmıştır.

3.2.1.c. Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu

Besi ortamları 105 kPa basınçta 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sıcakta bozulan vitaminler, bitki büyüme düzenleyicileri ve memeli cinsiyet hormonlarını sterilize etmek için 0,22 µM poroziteli selüloz nitrat filtreler (milipor®) kullanılmıştır.

3.2.1.d. Sterilizasyonda kullanılan solüsyonların hazırlanışı

%70'lik Etil alkolün hazırlanışı: %96'lık etil alkolden 700 ml alınarak hacim saf su ile 960 ml'ye tamamlanmıştır.

%1'lik Sodyum hipoklorit solusyonunun hazırlanışı: %5 NaOCl (sodyum hipoklorit) içeren ticari ACE® marka çamaşır suyundan 200 ml alınarak hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış, amber renkli şişeye doldurulmuş ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanması

3.2.2.a. Temel besi ortamı için stok solüsyonların hazırlanışı

MS makro (20X), mikro (100X) elementler ile demir şelelat (100X) ve vitaminler (100X) için stok solüsyon hazırlanmıştır.

- MS makro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS makro elementler (20X) için stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.1’de verilen, bir litrede bulunması gereken makro element miktarlarının 20’şer katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.

b) 2 litrelik bir erlenmayer kabına yaklaşık olarak 700 ml saf su konulmuş içerisine manyetik balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan makro elementler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen makro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile bir litreye tamamlanmış ve amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine stoğun adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS mikro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS mikro elementler (100X) için stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.1’de mikro elementler başlığında belirtilen $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ haricindeki diğer bileşiklerin 100’er katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.

b) 2 litrelik bir erlenmayer kabına yaklaşık olarak 700 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan mikro elementler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen mikro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile bir litreye tamamlanmış ve amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine stoğun adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS demir şelelat stok solüsyonunun hazırlanışı

MS demir şelat (100X) stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.1’de mikro elementler başlığında belirtilen $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ miktarlarının 100 katı hassas terazide tartılmıştır.

b) Yarım litrelik cam erlenmayer içerisine 300 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine oturtulmuş, ısıtıcı ve karıştırıcı açılmıştır. Tartılan 3.726 gram $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ilave edilmiş ve tamamen erimesi sağlanmıştır. Erime işlemi tamamlanır tamamlanmaz ısıtıcı kapatılmış karıştırma işlemi devam ederken hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 400 ml’ye tamamlanmıştır.

c) Farklı cam bir erlenmayere 300 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine oturtulmuş, ısıtıcı ve karıştırıcı açılmıştır. Tartılan 2.78 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ilave edilmiş ve tamamen erimesi sağlanmıştır. Erime işlemi tamamlanır tamamlanmaz ısıtıcı kapatılmış karıştırma işlemi devam ederken hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 400 ml’ye tamamlanmıştır.

d) Bu iki ayrı çözelti birleştirilerek toplam hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Bu birleştirme işleminden sonra açık sarı rengi alan stok amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine stoğun adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS vitamin stok solüsyonlarının hazırlanışı

MS vitamin stok (100X) solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.1’de organikler başlığında belirtilen bileşiklerin 100 katı tartılmıştır.

b) Hacmi 1000 ml olan bir erlenmayere 700 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan vitaminler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen vitaminler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile 1000 ml’ye tamamlanmış ve amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine vitamin stoğunun adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

3.2.2.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı

MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak çalışmada kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.3’de verilmiştir. Bu kimyasalların miktarı direkt tartılarak ortama eklenmiştir. Çalışmada kullanılan oksin hormonlarının stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.4’de ve sitokin stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı
Askorbik Asit	100 mg/l
MES hidrate	1.95 g/l
Pyhtagel	2 g/l
Sakkaroz	20 g/l

Çizelge 3.5. Oksin stok solüsyonunun hazırlanışı

Oksin Tipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama koşulu	Çalışma konsantrasyonu
Dikamba	Su/etil alkol	Su	+4°C	1 mg/ml
IAA	Etil alkol	Su	-20°C	1 mg/ml

Çizelge 3.6. Sitokinin stok solüsyonunun hazırlanışı

Sitokinin Tipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama koşulu	Çalışma konsantrasyonu
TDZ	Dimetil Sülfoksit	Su	+4°C	1 mg/ml

3.2.2.c. Kullanılan NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı

- *In vitro* şartlarda tuz stresi oluşturmak için 1 M NaCl (1 litrede 58,4 g NaCl) stok solüsyonu hazırlanmış ve deneme planına göre aşağıdaki miktarlarda ısıda bozulmayan kimyasallarla birlikte otoklav strelizasyonu öncesinde *in vitro* kültür ortamına eklenmiştir. Çalışmada kullanılan NaCl stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.7. NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı

Konsantrasyon (mM)	1 M NaCl (mg/l)
0	0
50	50
100	100
150	150
200	200

3.2.2.d. α -Tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı

1 ml’de 5 mg α -tokoferol olacak şekilde absölü alkolde hazırlanan stok solüsyondan gerekli miktarda alınmış ve saf su ile toplam hacim 50 ml’ye tamamlanmıştır. Deneme planına göre şşğıdaki miktarlarda sıcakta bozulan maddelerle birlikte filtre strelizasyonu yapıldıktan sonra *in vitro* ortama eklenmiştir. Çalışmada kullanılan α -Tokoferol stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.8’de verilmiştir.

Çizelge 3.8. α -Tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı

Kullanılan α -tokoferol (mg/l)	α -Tokoferol stok solüsyon (5 mg/ml)
0	0
50	10
100	20

3.2.2.e. Kültür ortamının hazırlaması

Aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanmıştır.

1. 1 litrelik behere 600 ml bidistile su konulmuş ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılmaya başlanmıştır.
2. MS makro element stok solüsyonundan (20X) 50 ml, mikro element stok solüsyonundan ve demir şelattan (100X) 10’ar ml eklenmiştir.
3. Bunun üzerine 20 g sakaroz ve 1.95 g MES tartılıp eklenmiş ve eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Hacim 950 ml tamamlanmış ve 1N NaOH gerektiğinde de 0.1 N HCl çözeltisinden faydalanılarak pH=5.8’e ayarlanmıştır.
4. Son hacim saf su ile 985 ml tamamlanmıştır.

5. İçerisinde 2 g jel yapıcı madde (Phytigel) bulunan karışım erlen içerisine aktarılmış ve ağız alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra sterilizasyon işlemleri için otoklavda 20 dakika boyunca 105 kPa basınçta 121°C’de tabi tutulmuştur.

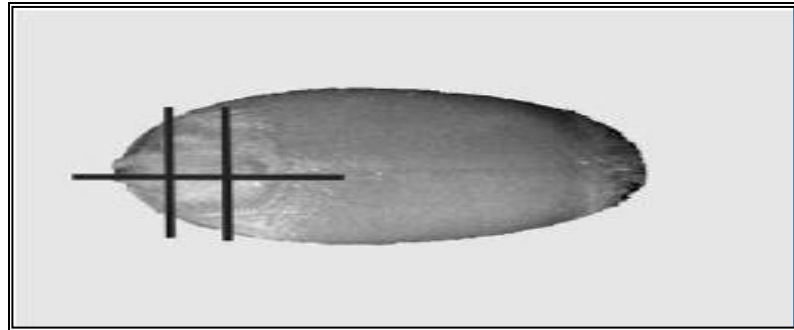
6. Isı ile bozulabilen vitamin ve hormonlar otoklavdan sonra ilave edilmiştir. Bunun için 50 ml beher içersine MS vitamin stok solüsyonundan (10X) 10 ml, askorbik asit (50 mg/l) solüsyonundan 1 ml ilave edilmiş ve son hacim saf su yardımı ile 15 ml’ye ayarlanmıştır.

7. Otoklavlanan besi yerinin sıcaklığı 40-45 °C’ye düşünce 0.22 µM porotizeteli selüloz nitrat filtrelerden geçirilerek steril edilen vitamin ve hormonlar besiyerine ilave edilmiştir.

3.2.3. *İn vitro*’da α-Tokoferol ve NaCl uygulaması

Araştırmada endosperm destekli olgun embriyo kültürü için aşağıda belirtilen kültür aşamaları uygulanmıştır (Aydın *et al.* 2011).

a. Yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumların olgun embriyolar tohum üzerinden ayrılmadan 6 parçaya bölünmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Sterilizasyon sonrası su emdirilmiş tohumun embriyosunun kesim kısımlarının gösterimi

b. Kallus oluşumu için MS (Murashige and Skoog 1962) ortamına ilave olarak 12 mg/l dikamba (3,6-Dikolorobenzoik asit), 0.5 mg/l IAA (İndol-3-asetik asit), 20 g/l sakkaroz, 2 g/l phytagel ve 1.95 g/l MES [(2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid)] içeren kallus oluşum ortamında karanlıkta $25\pm1^{\circ}\text{C}$ de 10 gün süreyle tutulmuştur. 10. günün sonunda oluşan olgun embriyo kaynaklı kalluslar tohumlardan ayrılarak deneme planına göre NaCl (0, 50, 100, 150, 200 mM) ve α - tokoferol (0, 50 ve 100 mg/l) içeren ortamda alt kültüre alınmıştır. Toplam kallus kültür süresi 30 güne tamamlanmıştır.

c. Meydana gelen kalluslar bitki rejenrasyonu için MS ortamına ilave olarak 20 g/l sakkaroz, 2 g/l phytagel ve 1.95 g/l MES [(2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid)] içeren ortamda iki hafta süreyle $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 16:8 saat ışık : karanlık fotoperyotta bu işlemin ardından kalluslar bu ortama ilave olarak 0.5 mg/l TDZ, 2 mg/l phytagel ve 20 g/l sakkaroz içeren ortamda ve aynı kültür şartlarında 21 gün süreyle alt kültüre alınmıştır. Rejenerasyon ortamında aydınlatma kaynağı olarak floresan lambası kullanılmış ve ışık yoğunluğu $62\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ olarak ayarlanmıştır.

d. Rejenerasyon sonunda meydana gelen bitkiler yaklaşık 10-12 cm oluncaya kadar MS tuzlarına ve vitaminlerine ilave olarak 20 g/l sakkaroz ve 2 g/l phtagel içeren meganta kutularında $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 16:8 saat ışık: karanlık fotoperyotta büyütülmüştür.

3.2.4. Araştırmada incelenen karakterler

1) Embriyogenik kallus oluşum oranı (EKO) (%) Embriyogenik kallus, sert dokulu, dağılabilir özellikte, sıkı (pütürlü) yapılı ve embriyo oluşturma kapasitesine sahip kalluslardır (Aydın 2010). Kallus kültür süresi sonunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Aydın 2010).

$$\text{EKO oranı (\%)} = (\text{embriyogenik kallus sayısı} / \text{eksplant sayısı}) \times 100$$

2) Cevap veren embriyogenik kallus oranı (CEK) (%):

Rejenerasyon kültür süresi sonunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Aydın 2010).

$$\text{CEK oranı (\%)} = (\text{cevap veren embriyogenik kallus sayısı}^* / \text{eksplant sayısı}) \times 100$$

*: Bitkicik oluşturan embriyogenik kallus

3) Eksplant başına bitki sayısı (EBBS) (Adet)

Rejenerasyon kültür süresi sonunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır.

$$\text{EBBS} = \text{Toplam bitki sayısı} / \text{eksplant sayısı}$$

4) Kallus nisbi su içeriği (NSİ) (%)

Kallus kültür süresinin sonunda (30. günde) belirlenmiştir. Kallus kültürü süresinin sonunda ortamdan alınan kalluslar toplam olarak hassas terazide yaş ağırlığı belirlenmiş ve daha sonra etüv içerisinde 70°C’de 48 saat bekletildikten sonra hassas terazide tartılarak kuru ağırlığı bulunmuştur.

Aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Forooghian and Esfarayeni 2013).

$$\text{NSİ (\%)} = (\text{Kallus yaş ağırlığı} - \text{Kallus kuru ağırlığı} / \text{Kallus kuru ağırlığı}) \times 100$$

5) Kallus Nisbi Gelişim Oranı (NGO) (%)

Aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Siddique *et al.* 2014).

NGO = Son kallus taze ağırlığı – Başlangıç kallus taze ağırlığı / Başlangıç kallus taze ağırlığı

Başlangıç kallus ağırlığı tuz ve α -tokoferol içermeyen kallus ortamında meydana gelen 10. gündeki kallusların ağırlığıdır. Son kallus ağırlığı ise kallus kültür süresinin sonundaki kallusun ağırlığıdır.

3.2.5. Verilerin istatistiksel analizi

Bu çalışmada kallus nispi su içeriğine, kallus nispi gelişim oranına, embriyogenik kallus oluşumun oranına, cevap veren embriyogenik kallus oranına ve eksplant başına bitki sayısı üzerine 5 farklı NaCl konsantrasyonunun (0, 50, 100, 150, 200 mM) ve 3 farklı α -tokoferol (0, 50 ve 100 mg/l) uygulamasının etkileri tam şansa bağlı deneme planına göre 5 (NaCl) x 3 (α -tokoferol) faktöriyel düzende varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Denemede her petri bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve her petride 10 adet endosperm destekli olgun embriyo kullanılmıştır. Her uygulama için 8 adet petri kullanılmış bu petrilerden 4 tanesi kallus nisbi su içeriği için kullanılmış, diğer 4 petride ise diğer karakterler belirlenmiştir. NaCl ve α -tokoferol uygulamaları ve bunların ikili interaksiyonuna ait ortalamaları arasındaki farklar %5 önem seviyesinde LSD (Least Significant Difference) çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. İstatistik analizler SAS (2002), Windows 8.0 bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada endosperm destekli olgun embriyo kültüründe NaCl ile oluşturulan tuz stresi ve tuz stresine karşı α -tokoferol uygulamasının kallus nisbi su içeriği (%), kallus nisbi gelişim oranı (%), embriyogenik kallus oluşum oranı (%), cevap veren embriyogenik kallus oranı (%) ve eksplant başına bitki sayısı (adet) üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bu özelliklere ait veriler aşağıda sırasıyla verilmiştir.

4.1. Kallus nisbi su içeriği (%)

Çizelge 4.1 incelendiğinde kallus nisbi su içeriği üzerine tuz stresinin, α -tokoferol uygulamasının ana etkileri ve bunların (NxT) interaksiyonlarının etkisinin çok önemli ($p<0,01$) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1. Kallus nisbi su içeriğine (%) ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
NaCl (N)	4	503,267	1327,882	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	118,774	313,389	0,000**
NxT	8	30,175	79,618	0,000**
Hata	45	0,379		

** : Çok önemli ($p<0,01$)

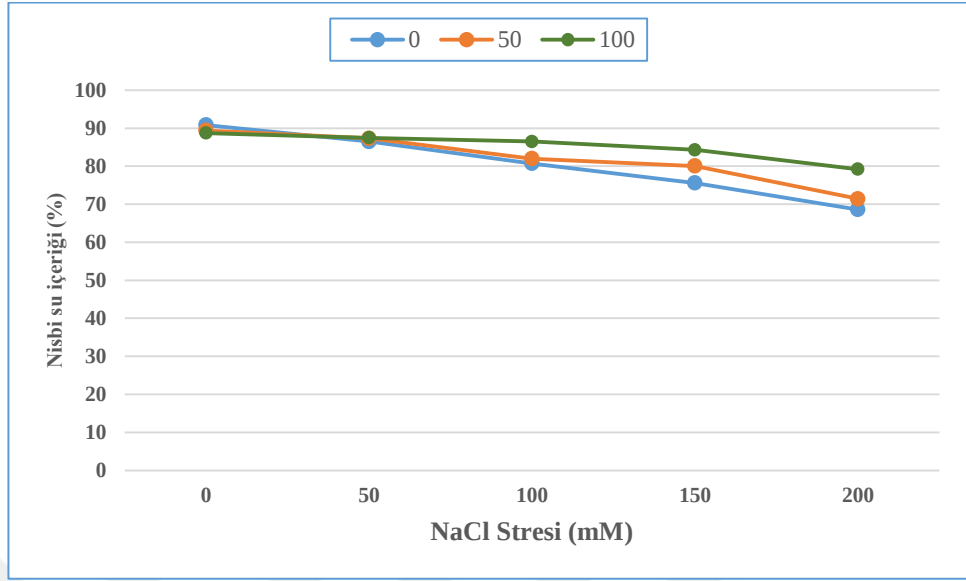
Tuz stresinin ana etkisi karşılaştırıldığında tuz stresinin şiddetindeki artışa bağlı olarak kallus nisbi su içeriğinde azalış meydana gelmiştir. Stressiz şartlarda (0 mM) nisbi su içeriği %89,7, iken 50 mM'da %87,1, 100 mM'da %83,1, 150 mM'da %80,0 ve 200 mM'da %73,1 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2)

α -Tokoferol uygulamasının ana etkisi karşılaştırıldığında ise en yüksek nisbi su içeriği %85,2 ile 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında, en düşük ise %80,5 ile 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında görülmüştür. Bu oran 50 mg/l'de %82,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Kallusun tuz stresindeki nispi su içeriği α -tokoferol uygulamasına göre farklılık göstermiştir. 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında, 0 mM'da %90,9, 50 mM'da %86,5, 100 mM'da %80,8, 150 mM'da %75,6 ve 200 mM'da %68,6; 50 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da %89,4, 50mM'da %87,3, 100 mM'da %82,0, 150 mM'da %80,1 ve 200 mM'da %71,4; 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da %88,7, 50 mM'da %87,5, 100 mM'da %86,5, 150 mM'da %84,3 ve 200 mM'da %79,2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1).

Çizelge 4.2. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre kallus nisbi su içeriği (%)

NaCl (mM)	α -Tokoferol (mg/l)	Kallus Nisbi Su içeriği (%)
0	0	90,9
	50	89,4
	100	88,7
	Ortalama	89,7
50	0	86,5
	50	87,3
	100	87,5
	Ortalama	87,1
100	0	80,8
	50	82,0
	100	86,5
	Ortalama	83,1
150	0	75,6
	50	80,1
	100	84,3
	Ortalama	80,0
200	0	68,6
	50	71,4
	100	79,2
	Ortalama	73,1
NaCl Ortalaması	0	80,5
	50	82,0
	100	85,2
ORTALAMA		82,6
LSD _(0,05) (NaCl Stresi) (N)		0,5
LSD _(0,05) (α -Tokoferol) (T)		0,4
LSD _(0,05) (N×T)		0,9
Varyasyon Katsayısı (%)		0,75



Şekil 4.1. Tuz stresinde uygulanan α -tokoferolün nisbi su içeriğine etkisi

4.2. Kallus nisbi gelişim oranı (%)

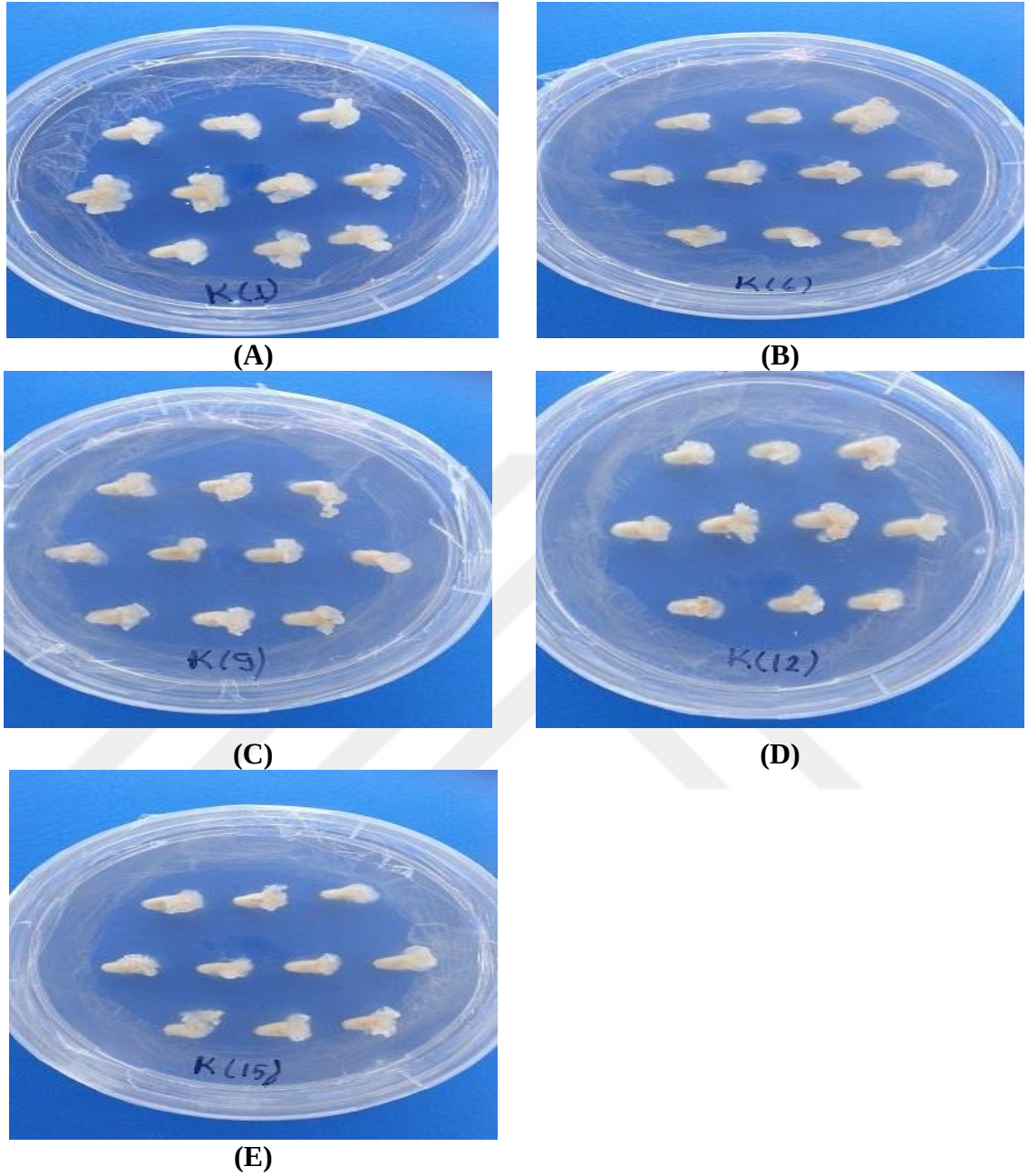
Kallus nisbi gelişim oranı üzerine tuz stresinin, α -tokoferol uygulamasının ana etkileri ve bunların interaksiyonlarının (NxT) etkileri çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2)

Çizelge 4.3. Kallus nisbi gelişim oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
NaCl (N)	4	7,404	439,977	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	3,151	187,253	0,000**
NxT	8	0,258	15,306	0,000**
Hata	45	0,017		

** : Çok önemli ($p < 0,01$)

Kallus nisbi gelişim oranı tuz stresine göre farklılık göstermiştir. Tuz stresindeki artışa bağlı olarak kallus nisbi gelişim oranında azalma görülmüştür. Kallus nisbi gelişim oranı stressiz şartlarda 0 mM’da 4,2 iken 50 mM’da 3,8, 100mM’da 3,4, 150mM’da 2,8 ve 200 mM’da 2,2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4).



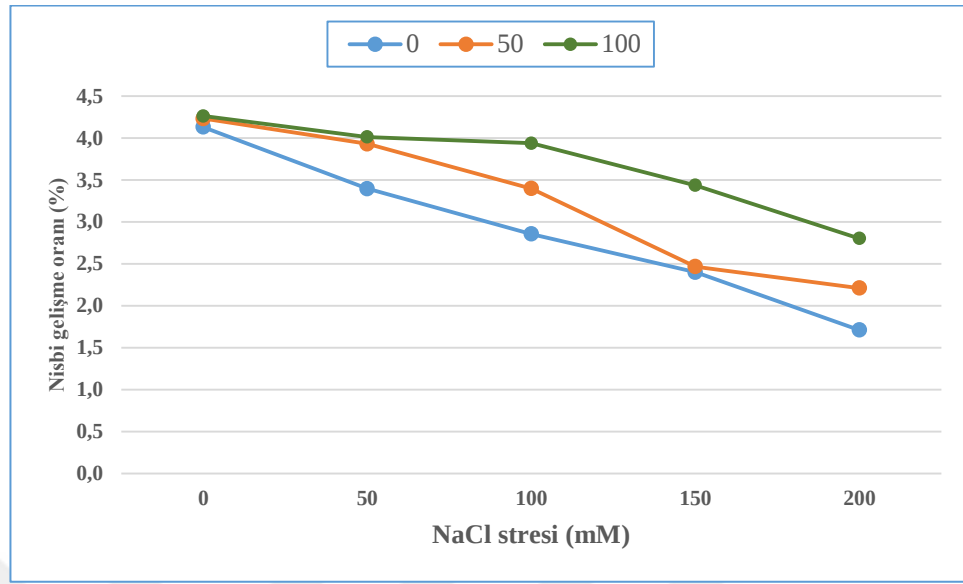
Şekil 4.2. NaCl'nin farklı konsantrasyonlarında meydana gelen kallusların görünüşleri
 *(A) kontrol, (B) 50 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (C) 100 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (D) 150 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (E) 200 mM NaCl + 100 mg E vitamin konsantrasyonlarda kallusların görünüşleri

Kallusların gelişim oranları α -tokoferol uygulamasına göre farklılık göstermiştir. Uygulanan α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kallus nisbi gelişim oranında artış gözlenmiştir. 0 mg/l α -tokoferol'de 2,9, 50 mg/l'de 3,2 ve 100 mg/l'de ise 3,7 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Tuz stresinin kallusun nisbi gelişim oranına etkisi α -tokoferol uygulamasına göre farklılık göstermiştir. Tuz stresinin olmadığı 0 mM'da uygulanan α -tokoferol kallus nisbi gelişim oranı üzerine etkisi olmamıştır. Fakat, bunun dışındaki dört tuz stresinde (50, 100, 150 ve 200 mM) 0 mg/l α -tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/l α -tokoferol uygulamaları kallus nisbi gelişim oranında artışa neden olmuştur. 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında, 0 mM'da 4,1, 50mM'da 3,4 100 mM'da 2,9, 150 mM'da 2,4 ve 200 mM'da 1,7; 50 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da 4,2, 50mM'da 3,9, 100 mM'da 3,4, 150 mM'da 2,5 ve 200 mM'da 2,2; 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da 4,3, 50mM'da 4,0, 100 mM'da 3,9, 150 mM'da 3,4 ve 200 mM'da 2,8 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3).

Çizelge 4.4. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre kallus nisbi gelişim oranı

NaCl (mM)	α -Tokoferol (mg/l)	Kallus Nisbi Gelişim Oranı
0	0	4,1
	50	4,2
	100	4,3
	Ortalama	4,2
50	0	3,4
	50	3,9
	100	4,0
	Ortalama	3,8
100	0	2,9
	50	3,4
	100	3,9
	Ortalama	3,4
150	0	2,4
	50	2,5
	100	3,4
	Ortalama	2,8
200	0	1,7
	50	2,2
	100	2,8
	Ortalama	2,2
NaCl Ortalaması	0	2,9
	50	3,2
	100	3,7
ORTALAMA		3,3
LSD _(0,05) (NaCl Stresi) (N)		0,1
LSD _(0,05) (α -Tokoferol) (T)		0,1
LSD _(0,05) (NxT)		0,2
Varyasyon Katsayısı (%)		3,95



Şekil 4.3. Tuz stresinde uygulanan α -tokoferolün nisbi gelişim oranına etkisi

4.3. Embriyogenik kallus oluşum oranı (%)

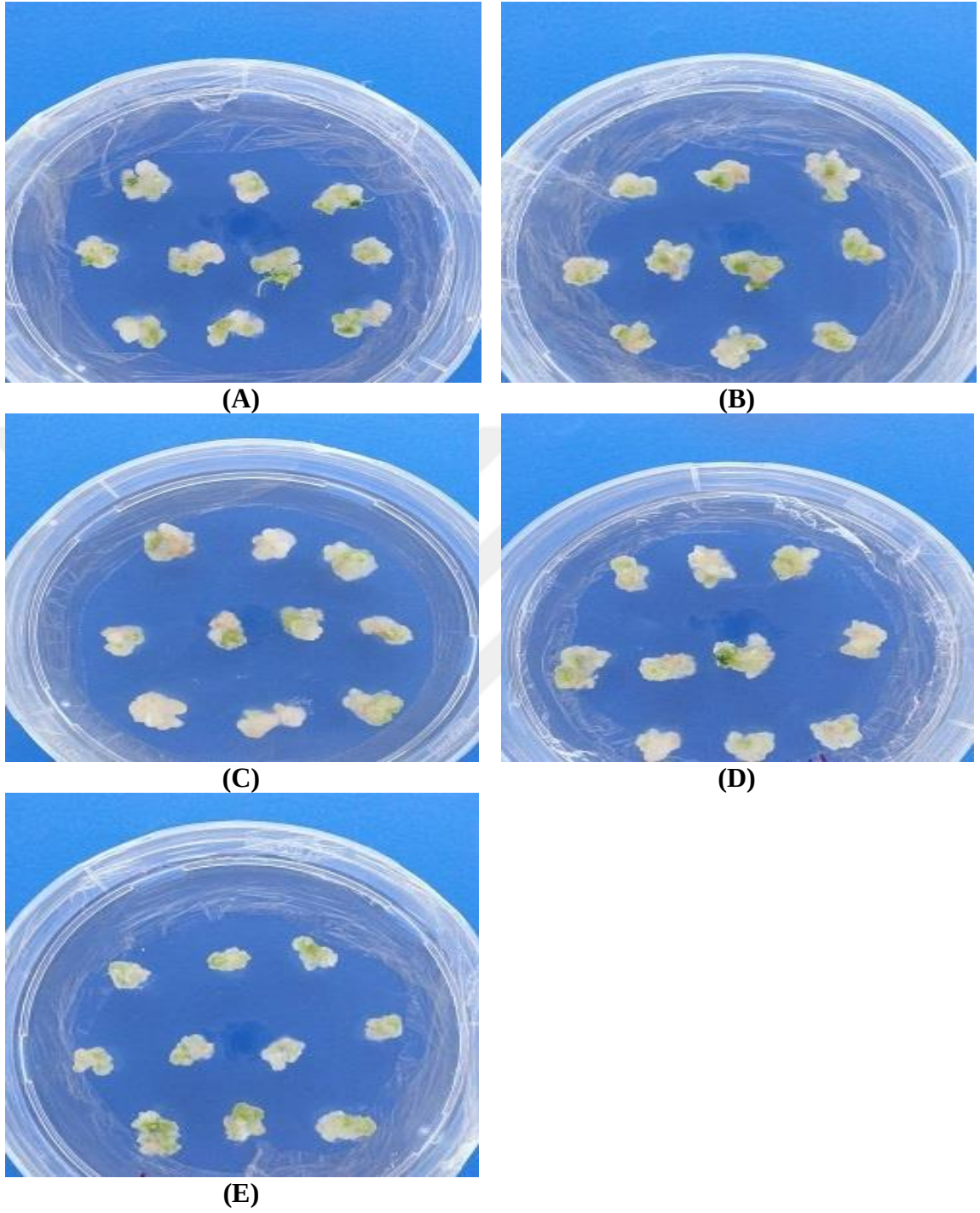
Embriyogenik kallus oluşum oranı üzerine tuz stresinin ve α -tokoferol uygulamasının ana etkileri ve bunların (NxT) interaksiyonlarının etkisinin çok önemli ($p < 0,01$) olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4).

Çizelge 4.5. Embriyogenik kallus oluşum oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
NaCl (N)	4	7345,833	221,297	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	246,667	7,431	0,002**
NxT	8	118,021	3,555	0,003**
Hata	45	33,194		

** : Çok önemli ($p < 0,01$)

Tuz stresi altında embriyogenik kallus oluşum oranında tuzdaki artışa bağlı olarak azalma meydana gelmiştir. Stressiz şartlarda 0 mM'da embriyogenik kallus oluşum oranı %92,1 iken 50 mM'da %75, 100 mM'da %68,3, 150 mM'da %52,5 ve 200 mM'da %26,7 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).



Şekil 4.4. NaCl'nin farklı konsantrasyonlarında meydana gelen embriyogenik kallusların görünüşleri

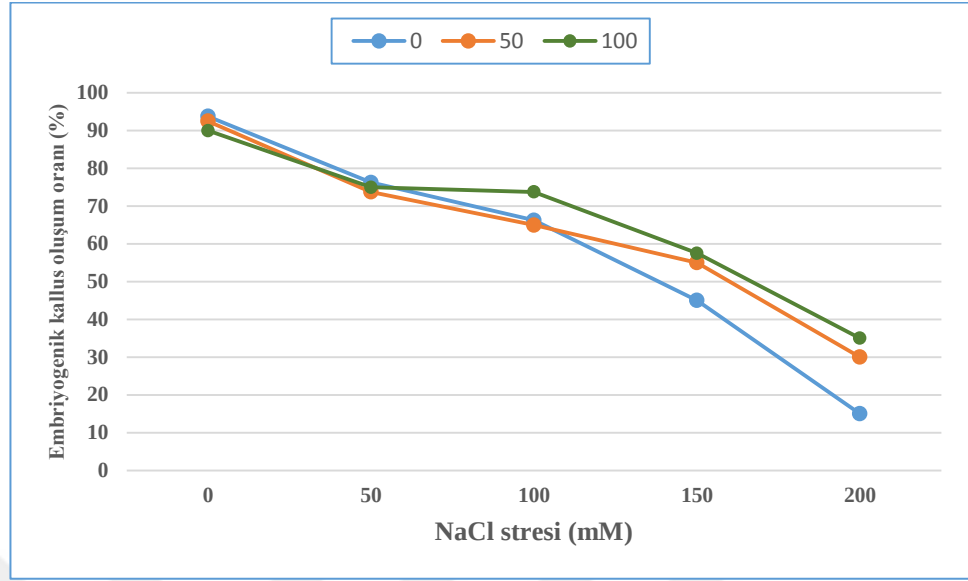
*(A) kontrol, (B) 50 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (C) 100 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (D) 150 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (E) 200 mM NaCl + 100 mg E vitamin konsantrasyonların da kallusların görünüşleri

Embriyogenik kallus oluşum oranı, artan α -tokoferol konsantrasyonlarına bağlı olarak artış göstermiştir ve en yüksek kallus oluşum oranı %66,3 ile 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında, en düşük ise %59,3 ile 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında g r lm ştir. Bu oran 50 mg/l'de %63,3 olarak belirlenmiştir ( izelge 4.6).

Tuz stresinin embriyogenik kallus oluşum oranı üzerine etkisi α -tokoferol konsantrasyonlarına göre değişiklik göstermektedir. Tuz stresinin olmadığı 0 mM'da uygulanan α -tokoferol embriyogenik kallus oluşum oranı üzerine etkisi olmamıştır. Fakat, bunun dışındaki dört tuz stresinde (50, 100, 150 ve 200 mM) 0 mg/l α -tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/l α -tokoferol uygulamaları embriyogenik kallus oluşum oranında artışa neden olmuştur (şekil 4.5). 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında, 0 mM'da %93,8, 50mM'da %76,3, 100 mM'da %66,3, 150 mM'da %45, ve 200 mM'da %15; 50 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da %92,5, 50mM'da %73,8, 100 mM'da %65, 150 mM'da %55 ve 200 mM'da %30; 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da %90, 50mM'da %75, 100 mM'da %73,8, 150 mM'da %57,5 ve 200 mM'da %35 olarak bulunmuştur ( izelge 4.6 ve şekil 4.5).

Çizelge 4.6. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre embriyogenik kallus oluşum oranı (%)

NaCl (mM)	α -Tokoferol (mg/l)	Embriyogenik kallus oluşum oranı (%)
0	0	93,8
	50	92,5
	100	90,0
	Ortalama	92,1
50	0	76,3
	50	73,8
	100	75,0
	Ortalama	75,0
100	0	66,3
	50	65,0
	100	73,8
	Ortalama	68,3
150	0	45,0
	50	55,0
	100	57,5
	Ortalama	52,5
200	0	15,0
	50	30,0
	100	35,0
	Ortalama	26,7
NaCl Ortalaması	0	59,3
	50	63,3
	100	66,3
ORTALAMA		62,9
LSD _(0,05) (NaCl Stresi) (N)		4,7
LSD _(0,05) (α -Tokoferol) (T)		3,7
LSD _(0,05) (NxT)		8,2
Varyasyon Katsayısı (%)		9,16



Şekil 4.5. Tuz stresinde uygulanan α -tokoferolün embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi

4.4. Cevap veren embriyogenik kallus oranı (%)

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi cevap veren embriyogenik kallus oranı üzerine tuz stresinin, α -tokoferol uygulamasının ana etkileri çok önemli ($p<0,01$) ve bunların interaksiyonlarının (NxT) etkisi ise önemli ($p<0,05$) olmuştur (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6 ve 4.7).

Çizelge 4.7. Cevap veren embriyogenik kallus oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
NaCl (N)	4	7334,792	145,084	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	341,250	6,750	0,003**
NxT	8	142,292	2,815	0,013*
Hata	45	50,556		

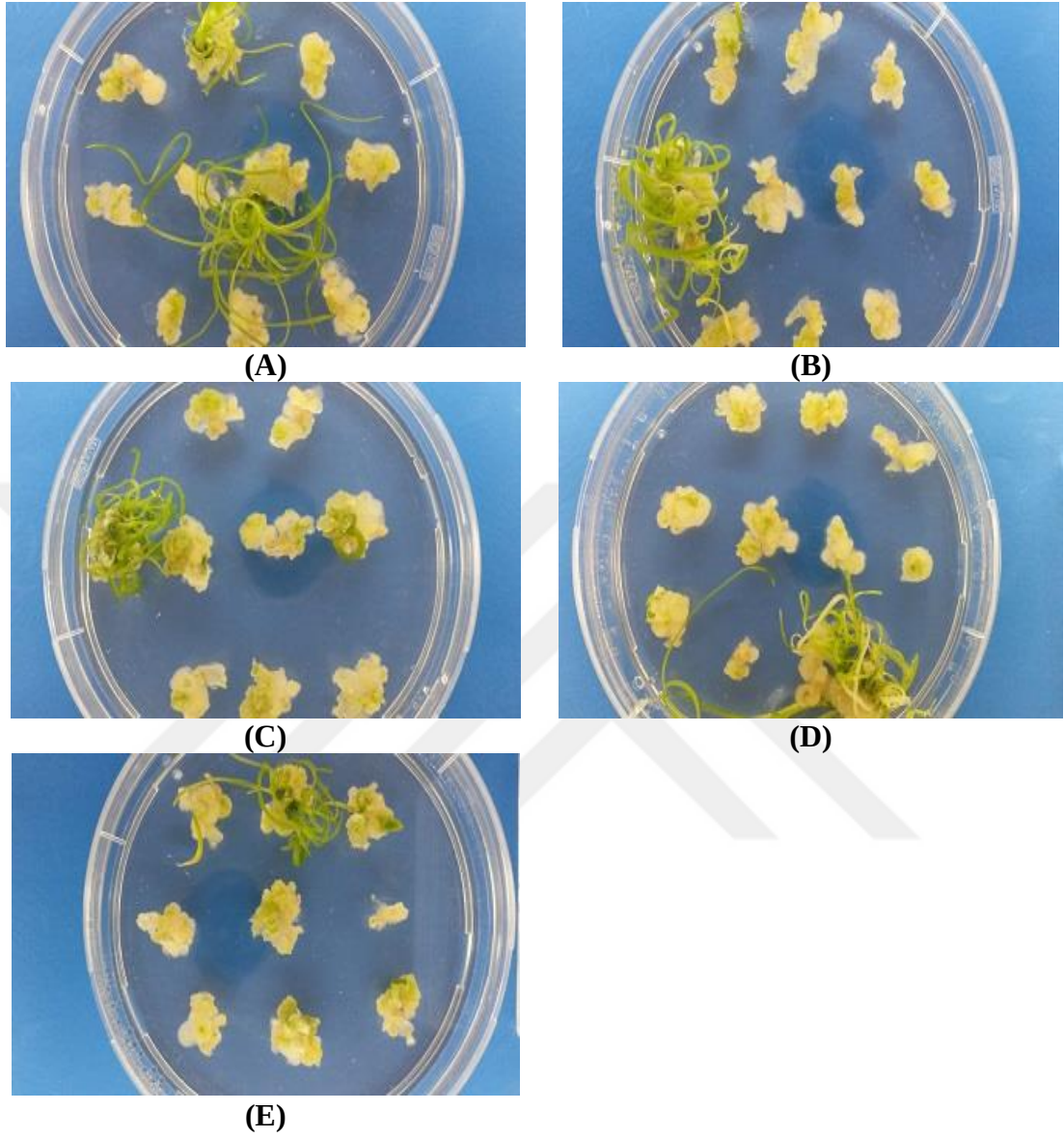
*:Önemli ($p<0,05$) ve **: Çok önemli ($p<0,01$)

Cevap veren embriyogenik kallus oranı tuz stresine göre farklılık göstermiştir. Tuz stresindeki artışa bağlı olarak cevap veren embriyogenik kallus oranında azalma görülmüştür. Cevap veren embriyogenik kallus oranı stressiz şartlarda 0 mM’da %70

iken 50 mM'da %60, 100mM'da %52,9, 150mM'da %31,3 ve 200 mM'da %8,3 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8).

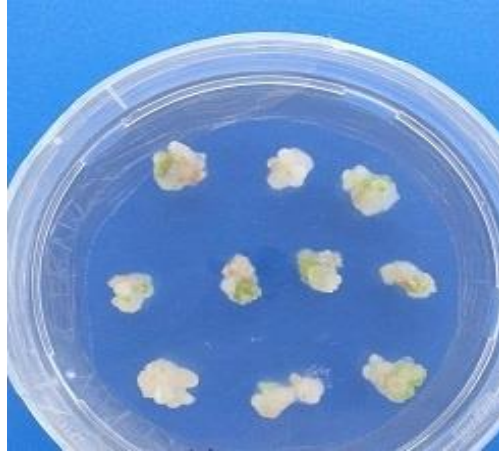
Cevap veren embriyogenik kallus oranı, artan α - tokoferol konsantrasyonlarına bağı olarak artış göstermiştir ve cevap veren embriyogenik kallus oranı %48,8 ile 100 mg/l α - tokoferol uygulamasında, en düşük ise %40,5 ile 0 mg/l α - tokoferol uygulamasında görülmüştür. Bu oran 50 mg/l'de %44,3 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Cevap veren embriyogenik kallus oranı üzerine tuz stresinin etkisi α - tokoferol konsantrasyonlarına göre değişiklik göstermektedir. Tuz stresinin olmadığı 0 mM'da uygulanan α - tokoferol cevap veren embriyogenik kallus oranı üzerine etkisi olmamıştır. Ancak bunun dışındaki dört tuz stresinde (50, 100, 150 ve 200 mM) 0 mg/l α - tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/l α - tokoferol uygulamaları cevap veren embriyogenik kallus oluşum oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.8). 0 mg/l α - tokoferol uygulamasında, 0 mM'da %72,5, 50mM'da %58,8, 100 mM'da %53,8, 150 mM'da %17,5, ve 200 mM'da %0; 50 mg/l α - tokoferol uygulamasında 0 mM'da %67,5, 50mM'da %57,5, 100 mM'da %50, 150 mM'da %36,3 ve 200 mM'da %10; 100 mg/l α - tokoferol uygulamasında 0 mM'da %70, 50mM'da %63,8, 100 mM'da %55, 150 mM'da %40 ve 200 mM'da %15 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8).

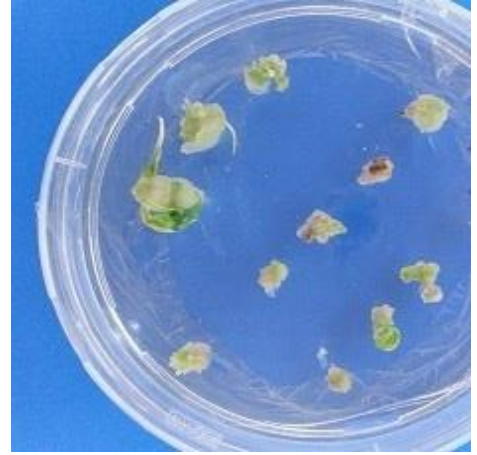


Şekil 4.6. NaCl'nin farklı konsantrasyonlarında meydana gelen cevap veren embriyogenik kallusların görünüşleri

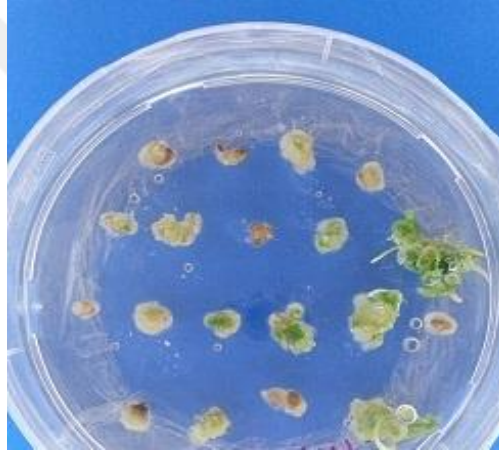
*(A) kontrol, (B) 50 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (C) 100 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (D) 150 mM NaCl + 100 mg E vitamin, (E) 200 mM NaCl + 100 mg E vitamin konsantrasyonların da kallusların görünüşleri



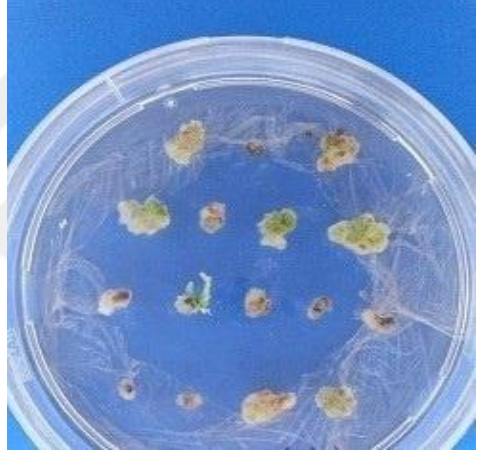
(A)



(B)



(C)



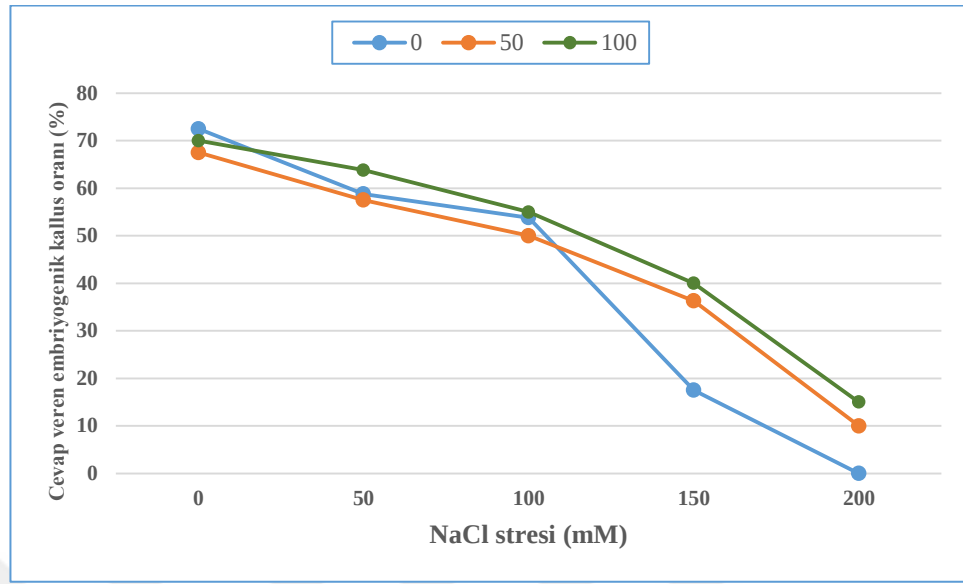
(D)

Şekil 4.7. NaCl tuz konsantrasyonunun kallus gelişimine cevap veren embriyogenik kallus ve bitki sayısı düzeyinde verdiği zararlar

*(A) 50 mM NaCl + 0 mg α -Tokoferol (B) 100 mM NaCl + 0 mg α -Tokoferol (C) 150 mM NaCl + 0mg α -Tokoferol (D) 200 mM NaCl + 0 mg α -Tokoferol

Çizelge 4.8. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre cevap veren embriyogenik kallus oranı (%)

NaCl (mM)	α -Tokoferol (mg/l)	Cevap embriyogenik kallus oranı (%)
0	0	72,5
	50	67,5
	100	70,0
	Ortalama	70,0
50	0	58,8
	50	57,5
	100	63,8
	Ortalama	60,0
100	0	53,8
	50	50,0
	100	55,0
	Ortalama	52,9
150	0	17,5
	50	36,3
	100	40,0
	Ortalama	31,3
200	0	0,0
	50	10,0
	100	15,0
	Ortalama	8,3
NaCl Ortalaması	0	40,5
	50	44,3
	100	48,8
ORTALAMA		44,5
LSD_(0,05) (NaCl Stresi) (N)		5,8
LSD_(0,05) (α-Tokoferol) (T)		4,5
LSD_(0,05) (NxT)		10,1
Varyasyon Katsayısı (%)		15,97



Şekil 4.8. Tuz stresinde uygulanan α -tokoferolün cevap veren embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi

4.5. Eksplant başına bitki sayısı (Adet)

Eksplant başına bitki sayısı üzerine tuz stresinin ana etkisi çok önemli ($p < 0,01$) olmuş buna karşın, α -tokoferolün ana etkisi ve NxT interaksyonunun etkileri önemsiz olmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Eksplant başına bitki sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
NaCl (N)	4	3,016	198,148	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	0,045	2,967	0,062 ^{öd}
NxT	8	0,019	1,256	0,290 ^{öd}
Hata	45	0,015		

*:Önemli ($p < 0,05$) ve **: Çok önemli ($p < 0,01$)

Tuz stresinin ana etkisine bakıldığında, tuz stresinin şiddetindeki artışa bağlı olarak eksplant başına bitki sayısında azalış meydana gelmiştir. Stressiz şartlarda (0 mM) eksplant başına bitki sayısı 1,38, iken 50 mM’da 0,83, 100 mM’da 0,58, 150 mM’da 0,28 ve 200 mM’da 0,10 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9).

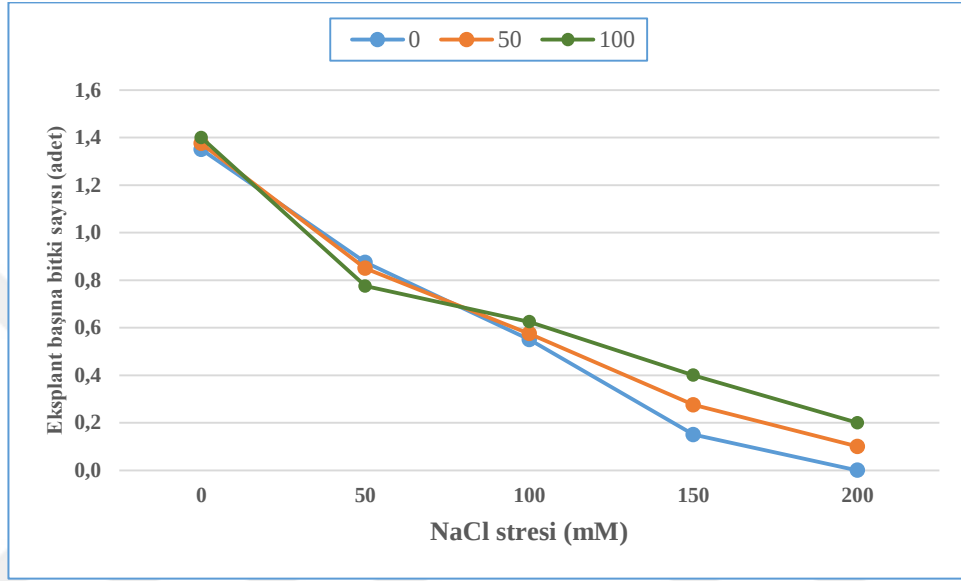
Eksplant başına bitki sayısında uygulanan α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak artmasına rağmen aralarındaki fark önemli olmamıştır. 0 mg/l α -Tokoferol'de 0,59, 50 mg/l'de 0,64 ve 100 mg/l'de ise 0,68 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. NaCl stresinde uygulanan α -tokoferole göre eksplant başına bitki sayısı (adet)

NaCl (mM)	α -Tokoferol (mg/L)	Eksplant başına bitki sayısı (Adet)
0	0	1,35
	50	1,38
	100	1,40
	Ortalama	1,38
50	0	0,88
	50	0,85
	100	0,78
	Ortalama	0,83
100	0	0,55
	50	0,58
	100	0,63
	Ortalama	0,58
150	0	0,15
	50	0,28
	100	0,40
	Ortalama	0,28
200	0	0,00
	50	0,10
	100	0,20
	Ortalama	0,10
NaCl Ortalaması	0	0,59
	50	0,64
	100	0,68
ORTALAMA		0,63
LSD_(0,05) (NaCl Stresi) (N)		0,10
LSD_(0,05) (α-Tokoferol) (T)		-
LSD_(0,05) (NxT)		-
Varyasyon Katsayısı (%)		19,48

Her NaCl konsantrasyonu için α -tokoferol uygulaması değerlendirildiğinde NaCl'nin her konsantrasyonunda genelde α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak eksplant başına bitki sayısında artış olmuş ancak bu artış istatistiksel olarak önemli olmamıştır. 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında, 0 mM'da 1,35, 50 mM'da 0,88, 100 mM'da 0,55, 150 mM'da 0,15 ve 200 mM'da 0; 50 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0

mM'da 1,38, 50 mM'da 0,85, 100 mM'da 0,58, 150 mM'da 0,28 ve 200 mM'da 0,10; 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında 0 mM'da 1,4, 50mM'da 0,78, 100 mM'da 0,63, 150 mM'da 0,40 ve 200 mM'da 0,20 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9 ve 4.10).



Şekil 4.9. Tuz stresinde uygulanan α -tokoferolün eksplant başına bitki sayısına etkisi



(A)



(B)

Şekil 4.10. (A) 50 mM NaCl + 100 mg E vitamin ve (B) 100 mM NaCl + 100 mg E vitamin de bitkiciklerin magentada görünüşleri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Buğday, insan beslenmesinde tarım ürünleri içinde ilk sırada yer almaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık %36'sının temel besin kaynağı olan buğday dünya nüfusu için gerekli olan karbonhidratın %55'ini, kalorisinin ise %20'sini sağlamaktadır (Breiman and Graur 1995).

Bitkiler büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyen farklı biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Tarımda önemli ölçüde üretimi etkileyen ve ürün kayıplarına yol açan en önemli abiyotik stres faktörlerinden biri toprak tuzluluğudur.

Tuz stresi ilk etkisini osmotik ve iyon stresi oluşturarak gösterirken, DNA, protein, klorofil ve zar fonksiyonuna zarar veren reaktif oksijen türlerinin sentezi, fotosentezin ve K^+ alımının engellenmesi, metabolik toksisite, ve hücre ölümü tuz stresinin neden olduğu ikincil etkilerdir (Botella *et al.* 2005; Hong *et al.* 2009).

Nisbi su içeriğindeki azalış turgor kaybının bir göstergesidir (Katerji *et al.* 1997). Araştırmamızda tuz stresine bağlı olarak kallus nisbi su içeriğinde azalma olduğu belirlenmiştir. Domates bitkisinde çalışan Rus *et al.* (2000) tuz içermeyen ortamdaki kalluslara oranla tuz içeren ortamdaki kallusların nisbi su içeriğinde azalışın meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu azalış hücre membranında meydana gelen hasardan kaynaklanmış olabilir. Tuz stresi ilk etkisini osmotik ve iyon stresi olarak gösterir (Parida and Das 2005). Singh *et al.* (1992) NaCl'ye benzer olarak osmotik strese neden olan PEG 6000 ile oluşturdukları osmotik stresin hücre membran hasarına etkisinin buğday genotiplerine göre önemli derecede farklılık gösterdiğini, membran hasarının yüksek olduğu genotiplerde yaprak su potansiyelinde azalmanın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan tuz stresi iyon dengesizliğine neden olarak hücre membranlarının yapısal bütünlüğünü bozmaktadır. Tuz stresi K^+ , Ca^{+2} ve azotu azaltmaktadır. Bu iyonlardan Ca^{+2} hücre membranlarının yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında, hücre duvarı yapısının stabilitesinde, iyon taşımının düzenlenmesinde ve de hücre duvar enzimleri aktivitelerinde önemli bir role sahiptir

(Tuna *et al.* 2007). Yine, tuz stresi oksidatif strese neden olarak DNA, protein ve membran lipidlerine zarar veren reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır (Silva *et al.* 2010). Ayrıca, Ghoulam *et al.* (2002) hücre içerisinde biriken sodyum ve klor iyonlarının hücre içindeki su miktarını azalttığını bildirmişlerdir.

Araştırmamızda tuz stresindeki artışa bağlı olarak kallus nisbi gelişim oranında azalma belirlenmiştir. Benzer sonuçlar buğdayda (Oudija and Ismaili 2002; Alvarez *et al.* 2003) domateste (Saleem *et al.* 2005), çeltikte (Khalea *et al.* 2007; Nwe *et al.* 2011), tütünde (Niknam *et al.* 2004), çemende (Niknam *et al.* 2006) ve patateste (Javed 2002) bulunmuştur. Koyuncu (2012) düşük tuz konsantrasyonlarında kallusların daha yüksek ağırlığa sahip olduğunu, tuz stresinin şiddetindeki artışa bağlı olarak kallus çaplarında ve kallus ağırlığında azalma meydana geldiğini belirlemiştir. Buğdayda tuz toleransının göstergesi olarak kallus ağırlığını kullanan Sudyova *et al.* (2002) ve Barakat and Abdel-Latif (1996) ortamdaki tuz konsantrasyonunun artışına bağlı olarak kallusların ağırlığında azalma meydana geldiğini, yine Kintzios *et al.* (1997) yüksek tuz konsantrasyonlarının sürgün gelişimi ve kök oluşumu yanı sıra kallus gelişimini azalttığını tespit etmişlerdir. Al-Hattab *et al.* (2015) iki yerel buğday çeşidinde (Tamo2 ve Iraq) hücre içerisindeki iyon dengesizliğinden dolayı kalluslarda kuru ve yaş ağırlığın azaldığını rapor etmişlerdir. Abebe *et al.* (2003) buğdayda 100 mM NaCl stresi altında kallus büyüme oranında %37'lik bir düşüşün olduğunu rapor etmişlerdir. Farooghian and Esfarayeni (2013) patates bitkisinde tuz sresi şiddetindeki artışa bağlı olarak kallusların kuru ve yaş ağırlıklarında azalma meydana geldiğini belirlemiştir. Domateste çalışan Rus *et al.* (2000) tuz stresine bağlı olarak kallusların nisbi gelişim oranında bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Tuz stresinin kallus nisbi gelişim oranı üzerine olan bu olumsuz etkisinin nedeni olarak Errabii *et al.* (2007), sodyum ve klor iyonlarının hücreye alınması ile meydana gelen iyon dengesizliğinin kallus büyümesini azaltabileceğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Rhodes and Samara (1994) ise ozmotik koşullar altında meydana gelen gelişim engellenmesinin nedeninin sitoplazma hacminin ve hücre turgorunun azalması olduğunu bildirmişlerdir. Rains *et al.* (1980) ise tuz stresinde su absorpsiyonu ve iyon alımı için hücrelerin daha fazla enerji harcadığını ve buna bağlı olarak hücre bölünmesinin ve kallus gelişiminin azaldığını bildirmişlerdir.

Araştırmamızda bu fizyolojik özelliklerin dışında embriyogenik kallus oluşum oranı (%), cevap veren embriyogenik kallus oranı (%) ve bitki sayısı (adet) üzerine tuzun etkisi önemli olmuştur. Tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak bu özelliklerde azalma olduğu ve en yüksek tuz konsantrasyonu olan 200 mM tuzda bitki oluşmadığı tespit edilmiştir. Nawaz *et al.* (2013) Faisalabad-2008 buğday genotipinde uyguladıkları tuz stresinin kallus rejenerasyon kapasitesini %56'dan 0'a düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar yüksek tuz ve kuraklık konsantrasyonlarında kallus ağırlığında, kök ve sürgün gelişiminde azalmanın olduğunu nekrozların (kahverengi leke) oluştuğunu bulmuşlardır. Ayolié *et al.* (2011), 8 buğday genotipinde (Anovar, Ourgh, Tomouh, Sebou, Marzak, Tarek, Amjad ve Massa) uyguladıkları NaCl stresinde artan konsantrasyona bağlı olarak rejenerasyon oranının azaldığını tespit etmişlerdir. Yine buğdayda Alvarez *et al.* (2003), Oudija *et al.* (2002) ve Oudija (2002a) tarafından yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Benzer sonuçlar domatestede (Saleem *et al.* 2005) ve çeltikte de (Khaleda *et al.* 2007; Nwe *et al.* 2011) tespit edilmiştir. Araştırmamızda tuz stresine bağlı olarak embriyogenik kallus oranındaki azalmanın nedeni somatik embriyoların oluşmamasından kaynaklanmış olabilir. Embriyoların oluşmama nedeni hücrelerin ölmesi veya hücre bölünmesinin engellenmesi olabilir. Kranner *et al.* (2002), hücredeki su kayıplarının %20-50'den daha fazla olması durumunda pek çok bitki hücresinin öldüğünü rapor etmişlerdir. Yine, Rains *et al.* (1980) tuz stresinde hücre bölünmesinin azaldığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda yine bitki rejenerasyonunda tuz stresindeki artışa bağlı olarak azalma görülmüştür. Bu bulgumuza benzer olarak buğdayda çalışan Ayolié *et al.* (2011), tuzluluğun sürgün sayısında da azalışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Çeltik bitkisinde çalışan Nwe *et al.* (2011), tuz stresinde rejenerasyon oranının %70'ten daha fazla azaldığını bulmuşlardır. Yine çeltik bitkisinde çalışan Raveendar *et al.* (2008), kallus kültüründe yüksek konsantrasyondaki tuzun kallusun rejenerasyon kapasitesini azaltarak yıkıcı etkiye yol açtığını vurgulamışlardır. Tuz stresinin kalluslarda sebep olduğu sürgün sayısındaki azalış ya embriyogenik kökenli ya da somaklonal varyasyon kaynaklı olabilir (Hassanein, 2004; Bekheet *et al.* 2006). Somatik embriyoların bitki oluşturma yeteneği embriyonun olgunlaşmasına, depo bileşiklerinin sentezine ve depolanmasına ve de kuruma toleransının gelişimine bağlıdır (Xu *et al.* 1990; Blackman *et al.* 1992). Siddique *et al.* (2014) kurumaya toleranslı genotiplerin tuz stresindeki

rejenerasyon etkinliklerinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan somatik embriyolardan bitki oluşumu için gerekli olan depo bileşiklerinin sentezi ve depolanması dikkate alındığında tuz stresi iyon dengesizliğine yol açarak bitki oluşumunu engellemiş olabilir. Yine tuz stresi altında oluşan reaktif oksijen türleri *in vitro* şartlarda DNA seviyesinde baz delesyonuna ve eklenmesine, kromozom seviyesinde kromozom sayısında (poliploidi ve aneuploidi) ve yapısında değişikliklere (Czene and Harms-Ringdahl 1995) ve DNA'nın hiper veya hipometilasyonuna sebep olarak somaklonal varyasyona neden olurlar (Wacksman 1997).

Araştırmamızda özellikle 150 ve 200 mM NaCl konsantrasyonlarında kalluslarda kararma görülmüştür. Bunun nedeni kalluslarda ROT'ların artması, antioksidant kapasitenin azalması olabilir. Nitekim, buğdayda çalışan Oudija *et al.* (2002), yüksek tuz konsantrasyonunun kahverengimsi kalluslara sebep olmasını peroksidaz aktivitesinin artmasına, katalaz aktivitesinin azalmasına bağlamışlardır.

Birçok bitki hücre içerisindeki tuzun varlığını tolere ederek ya da hücreden tuzu uzaklaştırarak çeşitli tolerans mekanizmalarına sahiptirler. Strese toleranslı bitkilerde genellikle tokoferol miktarında artışın olduğu gözlenmiştir (Szarka et al. 2012). Tokoferol sinyal iletim yollarında ve bitki savunması ve fotoasimatların taşınımı gibi farklı süreçlerde gen ifadesinin düzenlenmesinde anahtar bir role sahiptir (Falk and Munne'-Bosch 2010). Tokoferol bitkilerde yaygın olarak bulunan bir antioksidandır. Özellikle tekli oksijen türlerini ve diğer ROT'ları ortadan kaldırır (Foyer et al. 2005). Tokoferol şiddetli stres şartlarında önemli bir göreve sahipken, diğer antioksidantlar orta şiddetli stres şartlarında görev almaktadır (Havaux et al. 2005). Tokoferol antioksidant aktivitesi serbest radikallere fenolik hidrojen verme yeteneğine bağlıdır. Tokoferol izomerlerinde α -tokoferol en yüksek antioksidant aktiviteye, δ -tokoferol ise en az antioksidant aktiviteye sahiptir. Diğer β - ve γ -tokoferoller orta seviyede antioksidant kapasiteye sahiptirler (Kamal-Eldin and Appelqvist 1996; Evans et al. 2002). Tokoferol lipidperoksil radikallerini ortamdan uzaklaştırarak hücre membranlarının yapısının stabilitesini sağlamaktadır (Libler 1993).

Araştırmamızda, α -tokoferolün incelenen fizyolojik ve doku kültürü özellikleri üzerine tuzun olumsuz etkisini azalttığı belirlenmiştir. Munne'-Bosch *et al.* (1999) α -tokoferolün stres faktörlerini minimize ettiğini tespit etmişlerdir. α -Tokoferolün bu etkisi iyon dengesini ve hücre membran stabilitesini sağlaması ve de DNA, protein ve membran lipidlerine zarar veren reaktif oksijen türlerine karşı göstermiş olduğu antioksidant özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farouk (2011) tuz stresinde uygulanan α -tokoferolün bitkilerdeki Na^+ ve Cl^- iyon birikimini azalttığını, buna karşın hücre membranlarının yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında önemli bir role sahip olan Ca^{+2} ile K^+ ve Mg^{+2} iyonlarında artışa neden olduğunu bildirmiştir. Tüm canlı organizmaları kendileri için zararlı olan serbest radikallerin olumsuz etkilerini önlemek için hücrelerinin içindeki antioksidan sistemlere sahiptirler. Antioksidanlar, enzimatik kaynaklı [Superoksit dizmutaz (SOD), katalaz (CAT); glutatyon peroksidaz (GPx)] ve enzimatik olmayan [Alfa (α) – tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C), karotenoidler ve fenolik bileşikler] antioksidanlar olarak iki gruba ayrılır. Bu çeşitler içerisinde, α -tokoferol en önemli antioksidanlardan biridir (Noga and Schmitz 1998). α -Tokoferolün lipid peroksidasyonunu engellediğine dair çok sayıda çalışma mevcuttur (Kapoor *et al.* 2015). Abbasi *et al.* (2009) transgenik tütün yapraklarında tokoferol eksikliğinin lipid peroksidasyonunu arttırdığını belirlemişlerdir. Yine, α -Tokoferol, glutatyon, askorbat, karotenoid gibi diğer antioksidantlar ile işbirliği içinde, fotosentetik zarlarda ROT seviyelerinin azaltılmasında rol oynar ve ilgili hidroperoksitlerin lipid peroksil radikallerini azaltarak lipid peroksidasyonunun büyük ölçüde sınırlandırılır (Munne' -Bosch 2005). Diğer taraftan Sattler *et al* (2006) tokoferolün lipid peroksidasyonunda görev alan genlerin ifadesini düzenlediğini de bildirmişlerdir.

Bitki hücrelerinde *in vitro* kültürü ile uygun ortamlar hazırlanarak doku ve organlar üzerinde istenilen karakterler belirlenip, yeni bitki eldesi sağlanmaktadır. Ayrıca, *in vitro* şartlarda hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere, düşük sıcaklığa, tuzluluğa ve kuraklığa dayanıklı veya toleranslı hücre seçimleri yapılabilmektedir (Karaca ve Bürün 1999; Babaoğlu *et al.* 2001). *In vitro* seleksiyon tekniği bitkilerde seçici olarak tuzun kullanılmasıyla, arzu edilen genotiplerin hayatta kalıp büyümesiyle tuz stresine

toleranslı genotiplerin belirlenmesinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Bu tür çoğu çalışmalarda kimyasal olarak (NaCl) tuzu kullanılmaktadır (Woodward and Bennett 2005).

Araştırmamızda elde edilen sonuçlara göre buğdayda tuza toleranslı genotiplerin belirlenmesinde doku kültürü yönteminin başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir. Oudija and Ismaili (2002) and Benderradji *et al.* (2012) tahıllarda tuza toleranslı genotiplerin seçiminde *in vitro* kültürün en iyi tekniklerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan Winicov (1996) *in vitro* kültür şartlarında meydana gelen somoklonal varyasyon aracılığı ile tuza toleranslı genotiplerin oluşturulmasında güçlü bir yöntem olduğunu bildirmiştir. Yine, araştırmamızda *in vitro* seleksiyon çalışmalarda tuza toleranslı genotip seçiminde 200 mM NaCl konsantrasyonunun kullanılabileceğini ve Kırık genotipinin tuza hassas bir genotip olduğunu göstermiştir. Nitekim, 200 mM'ın altındaki tuz konsantrasyonunda zarar gören bitkiler halofit olmayan bitkilerdir ve bu bitkilerin bir kısmı 200 mM NaCl konsantrasyonunda büyümeye devam edebilir ve tuza toleranslı olarak kabul edilmektedirler (Greenway and Munns 1980).

Sonuç ve öneriler

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar ve daha sonra yapılacak çalışmalara yönelik öneriler şu şekilde sıralanabilir.

1. Tuz stresinin kallus nisbi su içeriğini (%), kallus gelişim oranını (%), embriyogenik kallus oluşum oranını (%), cevap veren embriyogenik kallus oranını (%) ve eksplant başına bitki sayısını (adet) azalttığı belirlenmiştir.
2. Araştırmada incelenen tüm özelliklerde tuz stresine bağlı olarak meydana gelen bu olumsuzluklar α - tokoferol uygulamasıyla iyileşme göstermiştir.

3. α -Tokoferolün 100 mg/l dozunun tuz stresi altında yetiştirilen bitkiler için adaptif bir etkiye sahip olduğu belirlenmiş ve tuzun olumsuz etkilerini önlemek amacıyla kullanılması önerilebilir.
4. Buğdayda tuza toleranslı genotiplerin belirlenmesinde geleneksel yöntemlere alternatif olarak *in vitro* yöntemlerin başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.
5. *In vitro* şartlarda tuz stresinin ve α -tokoferolün biyokimyasal ve moleküler seviyedeki etkilerinin daha sonra yapılacak çalışmalarla belirlenmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbasi, A.R., Hajirezaei, M., Hofius, D., Sonnewald, U. and Voll, L.M., 2007. Specific roles of α - and γ -tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. *Plant Physiology*, 143(4), 1720-1738.
- Abbasi, A. R., Saur, A., Hennig, P., Tschiersch, H., Hajirezaei, M., Hofius, D. and Voll, L. M., 2009. Tocopherol deficiency in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants leads to accelerated senescence. *Plant, cell and environment*, 32(2), 144-157.
- Abebe, T., Guenzi, A.C., Martin, B. and Cushman, J.C., 2003. Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity. *Plant physiology*, 131(4), 1748-1755.
- Akbari, G., Sanavy, S.A., Yousefzadeh, S., 2007. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan journal of biological sciences*, 10(15), 2557-2561.
- Akhtar, N., Chughtai, S.U.R., Chudhry, Z., Munawwar, M.H. and Hussain, M., 2007. Callus induction and regeneration in wheat cultivars under sodium and calcium chlorides salt stress. *Sarhad Journal Of Agriculture*, 23(3), 649.
- Akhtar, S.S., Andersen, M.N. and Liu, F., 2015. Residual effects of biochar on improving growth, physiology and yield of wheat under salt stress. *Agricultural Water Management*, 158, 61-68.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- Akram, M., Hussain, M., Akhtar, S. and Rasul, E., 2002. Impact of NaCl salinity on yield components of some wheat accessions/varieties. *Int J Agric Biol*, 1, 156-158.
- Akram, N.A. and Ashraf, M., 2011. Improvement in growth, chlorophyll pigments and photosynthetic performance in salt-stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of 5-aminolevulinic acid. *Agrochimica*, 55(2), 94-104.
- Al Hattab, Z.N., Hamdalla, M.S. and Mohammed, M.A., 2015. Salinity effect on wheat *Triticum aestivum* L. callus growth and development. *Int. J. of Multidisciplinary and Current research*, 3.
- Al-Ashkar, I.M., 2013. Anther culture response and salt tolerance in some wheat genotypes. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2), 139-145.
- Almansouri, M., Kinet, J.M. and Lutts, S., 1999. Compared effects of sudden and progressive impositions of salt stress in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Journal of plant physiology*, 154(5), 743-752.
- Almansouri, M., Kinet, J.M. and Lutts, S., 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil*, 231(2), 243-254.
- Alpaslan, M., Güneş, A., Taban, S., Erdal, İ. ve Tarakcioglu, C., 1998. Tuz stresinde çeltik ve buğday çeşitlerinin kalsiyum, fosfor, demir, bakır, çinko ve mangan içeriklerinde değişimler. *Tr. J. of Agriculture and Fprestry*, 22-227.

- Alvarez, I., Tomaro, M. L. and Benavides, M. P., 2003. Changes in polyamines, proline and ethylene in sunflower calluses treated with NaCl. *Plant cell, tissue and organ culture*, 74(1), 51-59.
- Amira, M.S. and Qados, A., 2009. Effect of arginine on growth, yield and chemical constituents of wheat grown under salinity condition. *Academic Journal of Plant Sciences*, 2(4), 267-278.
- Amirjani, M.R. 2011. Pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany*, 7(1), 73-81.
- Arfan, M. and Muhammad A., 2007. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 164(6), 685-694.
- Arzani, A. and Mirodjagh, S.S. 1999. Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus induction and in vitro salt stress. *Plant cell, tissue and organ culture*, 58(1), 67-72.
- Asch, F., Dingkuhn, M., Dörffling, K. and Miezian, K., 2000. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. *Euphytica*, 113(2), 109-118.
- Aydin, M., 2010. Bazı ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin olgun embriyo kültürüne tepkilerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Aydin, M., Sagsöz, S., Haliloglu, K. ve Tosun, M., 2011. Buğdayda Olgun Embriyo Kültürünü Etkileyen Faktörler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42 (1), 1-10.
- Aydin, M., Tosun, M. and Haliloglu, K., 2011. Plant regeneration in wheat mature embryo culture. *African Journal of Biotechnology*, 10 (70), 15749-15755.
- Ayed-Slama, O., Ayed, S. and Slim-Amara, H., 2015. Selection of tolerant lines to salinity derived from durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in vitro culture. *Agricultural Sciences*, 6(7), 699.
- Ayolié K., El Yacoubi, H., Kouakou, T.H. and Atmane, R., 2011. responses of some wheat genotypes to callus regeneration under *in vitro* salt stress. *International Journal of Research in Biotechnology and Biochemistry* 2011, 1(1), 11-17.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M. and Akbudak, M., 2001. Doku kültürü: Temel laboratuvar teknikleri (Plant tissue culture: Basic laboratory techniques). *Bitki Biyoteknolojisi: Doku kültürü ve uygulamaları (Biotechnology of Plant: Plant tissue culture and application)*. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları-Konya-pp, 1-35.
- Bafeel, S.O. and Ibrahim, M.M., 2008. Antioxidants and accumulation of α -tocopherol induce chilling tolerance in *Medicago sativa*. *Int J Agric Biol*, 10(6), 593-598.
- Bahieldin, A., Dyer, W.E. and Qu, R., 2000. Concentration effects of dikamba on shoot regeneration in wheat. *Plant Breeding*, 119(5), 437-439.
- Barakat, M.N. and Abdel-Latif, T.H., 1996. In vitro selection of wheat callus tolerant to high levels of salt and plant regeneration. *Euphytica*, 91(2), 127-140.
- Baskin, S.I. and Salem, H., 1997. Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis, pp 79-120.
- Basu, S., Gangopadhyay, G., Mukherjee, B.B. and Gupta, S., 1997. Plant regeneration of salt adapted callus of indica rice (var. Basmati 370) in saline conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 50(3), 153-159.

- Baysal, A., 1990. Beslenme, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 481 s., Ankara.
- Bekheet, S.A., Taha, H.S. and Solliman M.E., 2006. Salt tolerance in tissue culture of onion (*Allium cepa* L.). Arab J. Biotechnol, 9(3), 467-476.
- Benderradji, L., Bouzerzou, H., Djekoun, A., Yekhllef, N. and Benmahammed, A., 2007. Effects of NaCl stress on callus proliferation and plant regeneration from mature embryos of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars Mahon Demias and Hidhab. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 17(1), 19-27.
- Benderradji, L., Brini, F., Kellou, K., Yekhllef, N., Djekoun, A., Masmoudi, K. and Bouzerzour, H., 2012. Callus induction, proliferation, and plantlets regeneration of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under saline and heat stress conditions. International Scholarly Research Network ISRN Agronomy, 367851, 8p.
- Bi, R.M., Kou, M., Chen, L.G., Mao, S.R., Wang, H.G., 2007. Plant regeneration through callus initiation from mature embryo of *Triticum*. *Plant Breeding*, 126(1), 9-12.
- Blackman, S.A., Obendorf, R.L. and Leopold, A.C., 1992. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. *Plant Physiol*, 100(1), 225-230.
- Blokhina, O., Eija, V. and Kurt, V., 2003. Fagerstedt. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91(2), 179-194.
- Bohorova, N.E., Pfeiffer, W.H., Mergoum, M., Crossa, J., Pacheco, M. and Estanol, P., 2001. Regeneration potential of CIMMYT durum wheat and triticale varieties from immature embryos. *Plant Breeding*, 120(4), 291-295.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M., 2005. Plant adaptive responses to salinity stress. *Plant Abiotic Stress*, 37-70.
- Breiman, A. and Graur, D., 1995. Wheat evolution. *Israel Journal of Plant Sciences* 43(2), 85-98.
- Briggle, L.W., 1967. Morphology of the wheat plant, wheat and wheat improvement. *Agronomy Monograph*, 13, 89-116.
- Brugnoli, E. and Björkman, O., 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress: Influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*, 187(3), 35-347.
- Carr, A.C., Zhu, B.Z., and Frei, B., 2000. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E). *Circulation research*, 87(5), 349-354.
- Chahine, K., Sourour, A., Youssef, T. And Hajer, S.A., 2013. Salinity effect on plant growth at the seedling stage of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 5(2), 20-25.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K., 2011. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1191.
- Czene, M. and Harms-Ringdahl, M., 1995. Detection of single-strand breaks and formamidopyrimidine-DNA glycosylase-sensitive sites in DNA of cultured human fibroblasts. *Mutation Research/DNA Repair*, 336(3), 235-242.
- Çarpıcı, E.B., 2009. Evaluation of the effects of plant densities and nitrogen rates on stress physiology traits in silage corn (*Zea mays* L.) production. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

- Dantas, B.F., De Sá Ribeiro, L. and Aragão, C.A., 2007. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Rev Bras de Sementes* 29(2), 106–110.
- Das, K. and Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Delporte, F., Mostade, O. and Jacquemin, J.M., 2001. Plant regeneration through callus initiation from thin mature embryo fragments of wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67(1), 73-80.
- Dolatabadian, A., Modarressanavy, S.A. M. and Ghanati, F., 2011. Effect of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(1), 41.
- Dubey, R.S., 1994. Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. *Photosynthetica (Czech Republic)*.
- Eker, S., Cömertpay, G., Konuşkan, Ö., Ülger, A. C., Öztürk, L. and Çakmak, İ., 2006. Effect of salinity stress on dry matter production and ion accumulation in hybrid maize varieties. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(5), 365-373.
- El-Bassiouny, H.M. and Bekheta, M.A., 2005. Effect of salt stress on relative water content, lipid peroxidation, polyamines, amino acids and ethylene of two wheat cultivars. *International Journal Of Agriculture and Biology*, 7(3), 363-368.
- El-Bassiouny, H.M.S., Gobarah, M.E. and Ramadan, A.A., 2005. Effect of antioxidants on growth, yield, savism causative agents in seeds of *Vicia faba* L. plants grown under reclaimed sandy soils. *J. Agr. Pak.*, 7(4), 653-659.
- El-Lethy, S. R., Abdelhamid, M. T. and Reda, F. 2013. Effect of potassium application on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown under salinity stress. *World Appl Sci J*, 26(7), 840-850.
- Errabii, T., Gandonou, C. B., Essalmani, H., Abrini, J., Idaomar, M. and Senhaji, N. S. 2007. Effects of NaCl and mannitol induced stress on sugarcane (*Saccharum* sp.) callus cultures. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(2), 95-102.
- Essa, T.A., 2002. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(2), 86-93.
- Evans, J., Kodali, D. and Addis, P., 2002. Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(1), 47-51.
- Falk, J., and Munne-Bosch, S., 2010. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond. *Journal of Experimental Botany*, 61(6), 1549-1566.
- Farooq, S. and Azam, F., 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of Plant Physiology*, 163(6), 629-637.
- Farouk, S., 2011. Ascorbic acid and a-Tocopherol minimize salt-induced wheat leaf senescence. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7(3).
- Fazali-nasab, B., Omid, M. and Amiritokaldani, M., 2012. Callus induction and plant regeneration of wheat mature embryos under abscisic acid treatment. *Int J Agric Crop Sci*, 4, 17-23.

- Filippov, M., Miroshnichenko, D., Vernikovskaya, D. and Dolgov, S., 2006. The effect of auxin and exposure to auxin and genotypes on somatic embryogenesis from mature embryos of wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84(2), 213-222.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. and Stavrakas, D., 2001. Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management*, 51(1), 13-27.
- Forooghian, S., and Esfarayeni, S., 2013. An Evaluation of Effect of Salt Stress on Callus Induction in Different Potato Cultivars. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 13(8), 1135-1140.
- Foyer, C.H. and Fletcher, J.M., 2001. Plant antioxidants: colour me healthy. *Biologist*, London, England, 48(3), 115.
- Foyer, C. H., Trebst, A. and Noctor, G., 2005. Protective and signalling functions of ascorbate, glutathione and tocopherol in chloroplasts. *Advances in photosynthesis and respiration: photoprotection, photoinhibition, gene regulation, and environment*, 19, 241-268.
- Fryer, M.J., 1992. The antioxidant effects of thylakoid vitamin E (α -tocopherol). *Plant, Cell and Environment*, 15(4), 381-392.
- Gey, K.F., Paska, P., Jordan, P. and Moser, U.K., 1991. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *The American journal of clinical nutrition*, 53(1), 326-334.
- Ghogdi, E.A., Izadi-Darbandi, A. and Borzouei, A., 2012. Effects of salinity on some physiological traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Indian Journal of Science and Technology*, 5(1), 1901-1906.
- Ghoulam, C., Foursy, A. and Fares, K., 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and experimental Botany*, 47(1), 39-50.
- Gill, B.S., Appels, R., Botha-Oberholster, A.M., Buell, C.R., Bennetzen, J.L., Chalhoub, B., Chumley, F., Dvorak, J., Iwanaga, M., Keller, B., Li, W., McCombie, W.R., Ogihara, Y., Quetier, F. and Sasaki, T., 2004. A workshop report on wheat genome sequencing: International genome research on wheat consortium. *Genetics*, 168(2), 1087-1096.
- Gomes-Filho, E., Machado, Lima, C.R.F., Costa, J.H., Da Silva, A.C., Da Guia, Silva, Lima, M., De Lacerda, C.F. and Prisco, J.T., 2008. Cowpea ribonuclease: properties and effect of NaCl-salinity on its activation during seed germination and seedling establishment. *Plant cell reports*, 27(1), 147-157.
- Greenway, H. and Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31(1), 149-190.
- Gupta, N.K., Sunita, G., Sharma, N.K., Arvind, K., Gupta, S. and Kumar, A., 1999. Morpho-physiological responses of germinating wheat genotypes to sodium chloride salinity. *Journal of Eco Physiology*, 2(1), 1924.
- Gupta, S.D., 2007. Plasma membrane ultrastructure in embryogenic cultures of orchardgrass during NaCl stress. *Biologia Plantarum*, 51(4), 759-763.
- Güneş, A., Alpaslan, M., Taban, S. and Hatipoğlu, F., 1997. Salinity resistance of various wheat varieties. *Turkish Journal Agriculture and Forestry*, 21(2), 165-169.

- Haliloglu, K. and Baenzinger, P.S., 2003a. *Agrobacterium tumefaciens* mediated wheat transformation. Cereal Research Communications, 31(1-2), 9-16.
- Haliloglu, K. and Baenzinger, P.S., 2003b. The effect of age and size of wheat anther culture-driven embryos on regeneration of green and albino plantlets. Israel Journal of Plant Sciences, 51(1), 207-212.
- Haliloglu, K. and Baenzinger, P.S., 2005. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from immature embryos cultures. J. Plant Biochemistry and Biotechnology, 14(2), 77-82.
- Haliloglu, K., 2006. Efficient regeneration system from wheat leaf base segments. Biologia Plantarum, 50 (3), 326-330.
- Hampson, C.R. and Simpson, G.M., 1990. Effects of temperature, salt, and osmotic potential on early growth of wheat (*Triticum aestivum*). I. Germination. Canadian Journal of Botany, 68(3), 524-528.
- Hassanein, A.M., 2004. Effect of relatively high concentrations of mannitol and sodium chloride on regeneration and gene expression of stress tolerant (*Alhagi Graecorum*) and stress sensitive (*Lycopersicon Esculentum* L.) plant species. Bulg. J. Plant Physiol. 30(3-4), 19-36.
- Havaux, M., Françoise, E., Svetlana, P., Pascal R. and Peter, D., 2005. Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Cell, 17 (2), 3451-3469.
- Holmberg, N. and Bülow, L., 1998. Improving stress tolerance in plants by gene transfer. Trends in Plant Science, 3(2), 61-6.
- Hong, C.Y., Chao, Y.Y., Yang, M.Y., Cho, S.C. and Kao, C.H., 2009. Na⁺ but not clor osmotic stress is involved in NaCl induced expression of glutathione reductase in roots of rice seedlings. Journal of Plant Physiology, 166(15), 1598-1606.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U., 1997. Interactive effects of salinity and macronutrient level on wheat. II. Composition. Journal of Plant Nutrition, 20(9), 1169-1182.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U., 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 168(4), 541-549.
- Ibrar, M., Jabeen, M., Tabassum, J., Hussain, F. and Ilahi, I., 2003. Salt tolerance potential of Brassica juncea Linn. Journal of Science and Technology (Peshawar), 27(1-2), 79-84.
- Ingram, H.M., Power, J.B., Lowe, K.C. and Davey, M.R., 2000. Microspore-derived embryo induction from cultured anthers of wheat. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 60(3), 235-238.
- Jabeen, M., Ibrar, M., Azim, F., Hussain, F. and Ilahi, I., 2003. The effect of sodium chloride salinity on germination and productivity of Mung bean (*Vigna mungo* Linn.). Journal of Science and Technology (Pakistan), 27, 1-5.
- Jamali, S.S., Borzouei, A., Aghamirzaei, M., Khosronejad, H.R. and Fathi, M., 2015. Cell membrane stability and biochemical response of seven wheat cultivars under salinity stress. Brazilian Journal of Botany, 38(1), 63-69.
- Jamil, M., Ashraf, M., Rehman, S., Ahmad, M. and Rha, E. S., 2012. Salinity induced changes in cell membrane stability, protein and RNA contents. African Journal of Biotechnology, 11(24), 6476-6483.
- Javed, F., 2002. *In vitro* salt tolerance in wheat. I. Growth and ions accumulation. Int J. Agri. Biol. 4(4), 459-461.

- Kalaji, M.H. and Pietkiewicz, S., 1993. Salinity effects on plant growth and other physiological processes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 15(2), 89-124.
- Kamal-Eldin, A. and Appelqvist, L.A., 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31(7), 671-701.
- Kapoor, D., Sharma, R., Handa, N., Kaur, H., Rattan, A., Yadav, P. and Bhardwaj, R., 2015. Redox homeostasis in plants under abiotic stress: role of electron carriers, energy metabolism mediators and proteinaceous thiols. *Frontiers in Environmental Science*, 3, 13.
- Karaca, Ö. ve Bürün, B., 1999. Buğdayda embriyo kültüründen kallus oluşumu. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23 (2), 269-274.
- Karadimova, M. and Djambova, G., 1993. Increased NaCl-tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf.) through in vitro selection. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 29(4), 180-182.
- Katerji, N., Van Hoorn, J.W., Hamdy, A., Mastroilli, M. and Moukarzel, E., 1997. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*, 34(1), 57-69.
- Kaya, A., 2006. Çukurovanın taban ve kıraç koşullarında bazı ekmeklik buğday genotiplerinin morfolojik ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kaydan, D. ve Yagmur, M., 2006. Farklı Salisilik Asit Dozları ve Uygulama Şekillerinin Buğday (*Triticum aestivum* L.) ve mercimekte (*Lens culinaris* Medik) verim ve verim öğeleri üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 12(3), 285-293.
- Keskin, H. ve Erkmen, G., 1987. Besin Kimyası. Güryay Matbaacılık İstanbul, Beşinci basım, 25-35.
- Khaleda, L., Ahmed, A., Marzan, L.W. and Al-Forkan, M., 2007. Identification of callus induction and plant regeneration responsiveness in presence of NaCl in vitro culture of some deepwater Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6, 36-41.
- Khan, M.A. and Rizvi, Y., 1994. Effect of salinity, temperature and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *Canadian Journal of Botany*, 72(4), 475-479.
- Khan, M.A. and Weber, D.J., 2008. *Ecophysiology of high salinity tolerant plants (tasks for vegetation science)*, 1st edn. Springer, Amsterdam.
- Khan, M.S.A., Hamid, A. and Karim, M.A., 1997. Effect of sodium chloride on germination and seedling characters of different types of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 179(3), 163-169.
- Khatun, S. and Flowers, T.J., 1995. Effects of salinity on seed set in rice. *Plant, Cell and Environment* 18(1), 61-67.
- Khodarahmpour, Z., Ifar, M. and Motamedi, M., 2012. Effects of NaCl salinity on maize (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stage. *African Journal of Biotechnology* 11(2), 298-304.
- Kızılaslan, H., 2004. Dünya’da ve Türkiye’de Buğday Üretimi ve Uygulanan Politikaların Karşılaştırılması. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 23-38.
- Kintzios, S.E., Barberaki, M., Aivalakis, G., Drossopoulos, J. and Holevas, C.D., 1997. In vitro morphogenetic responses of mature wheat embryos to different NaCl

- concentrations and growth regulator treatments. *Plant Breeding*, 116(2), 113-118.
- Konak, C., Yılmaz, R. ve Arabaci, O., 1999. Ege bölgesi buğdaylarında tuza tolerans. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(5), 1223-1229.
- Koyuncu, N., 2008. Bazı makarnalık buğday (*T. durum* desf.) çeşitlerinin *in vitro* koşullarda yüksek tuz dozlarına toleransının belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 21(2).
- Koyuncu, N., 2012. Bazı makarnalık buğday (*T. durum* desf.) çeşitlerinin *in vitro* koşullarda yüksek tuz dozlarına toleransının belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 21(2).
- Kranner, I., Beckett, R.P., Wornik, S., Zorn, M. and Pfeifhofer, H.W., 2002. Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *The Plant Journal*, 31(1), 13-24.
- Kumar, R.A.J.E.E.V., Singh, M.P. and Kumar, S., 2012. Effect of salinity on germination, growth, yield and yield attributes of wheat. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 1, 19-23.
- Kün, E., 1983. Serin İklim Tahılları, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayını, Yayın No: 875, Ankara.
- Larcher, W., 1980. *Physiological plant ecology: second, totally revised edition*. Translated by M.A Biederman-Thorson. Springer-Verlag, New York, 62(3), 303.
- Levitt, Jacob., 1981. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press, Londra.
- Li, W., Ding, C.H., Hu, Z., Lu, W. and Guo, G.Q., 2003. Relationship between tissue culture and agronomic traits of spring wheat. *Plant science*, 164(6), 1079-1085.
- Li, J., Lv, J., Liu, P., Wang, Y., Gao, B. and Chen, P., 2013. Transcriptome analysis of *Portunus trituberculatus* in response to salinity stress provides insights into the molecular basis of osmoregulation. *PLoS One*, 8(12), e82155.
- Lieber, D.C., 1993. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Critical Reviews in Toxicology*, 23(2), 147-169.
- Machlab, H., Akll, M. and Kobaiissi, A., 2003. Screening of high yielding wheat genotypes for callusing ability under NaCl stressed conditions in vitro. *Lebanese Science Journal*, 4(1), 15-24.
- Mansour, M.M. F., 1997. Cell permeability under salt stress. In: Jaiwal PK, Singh RP, Gulati A (Eds.). *Strategies for improving salt tolerance in higher plants*. Oxford and IBH, New Delhi, 87-110.
- Mansour, M.M.F. and Salama, K.H., 2004. Cellular basis of salinity tolerance in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 52(2), 113-122.
- Mass, E.V., 1986. Salt tolerance of plants. *Agricultural Research*, 1, 12-26.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence – A practical guide. *J Exp Bot*, 51(345), 659-668.
- Mayank, A.G., Ji, S.H., Upadhyaya, C.P., Yu, J.W. and Park, S.W., 2011. Impact of Tocopherol Composition on Abiotic Stress Tolerance in Transgenic Potato Silenced for HPT and Gamma TMT through RNAi Approach .
- McHughen, A., 1983. Rapid regeneration of wheat in vitro. *Annals of Botany*, 51(6), 851-853.

- McNeil, J.J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M.I., Mc Carty, C.A. and Taylor, H.R., 2004. Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial. *Phthalmology*, 111(1), 75-84.
- Mendoza, M.G. and Kaeppler, H.F., 2002. Auxin and sugar effects on callus induction and plant regeneration frequencies from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 38(1), 39-45.
- Moud, A.M. and Maghsoudi, K., 2008. Salt stress effects on respiration and growth of germinated seeds of different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences* 4(3), 351-358.
- Mozafar, A.T. and Goodin, J.R., 1986. Salt tolerance of two differently drought-tolerant wheat genotypes during germination and early seedling growth. *Plant and soil*, 96(3), 303-316.
- Munne-Bosch, S., Schwarz, K. and Alegre, L., 1999. Enhanced formation of α -tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. *Department de Biologia Vegetal, Universitat da Barcelona. Plant Physiology*, (121), 1047-1057.
- Munné-Bosch, S., Mueller, M., Schwarz, K. and Alegre, L., 2001. Diterpenes and antioxidative protection in drought-stressed *Salvia officinalis* plants. *Journal of plant physiology*, 158(11), 1431-1437.
- Munné-Bosch, S. and Alegre, L., 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(1), 31-57.
- Munne-Bosch, S., 2005. The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 162, 743-748.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 239-250.
- Munns, R., 2002a. Comparative physiology of salt and water stres. *Plant, Cell and Environment*. 25, 239–250.
- Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167(3), 645-663.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
- Mutlu, F. and Bozcuk, S., 2007. Salinity-induced changes of free and bound polyamine levels in sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots differing in salt tolerance. *Pakistan Journal of Botany*, 39(4), 1097.
- Nahed, G.A., Lobna, T. and Soad, M.I., 2009. Some studies on effect of putresine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nurbaria. *Ozean Journal of Applied Science*, 2(2), 169-179.
- Nawaz, S., Ahmed, N., Iqbal, A. and Khaliq, I., 2013. Optimization of regeneration protocols for wheat under drought and salt stress. *Pak. J. Agri. Sci*, 50(4), 663-670.
- Nia, Somayeh Haji, *et al.*, 2012. Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 11(2), 113-121.
- Niknam, V., Bagherzadeh, M., Ebrahimzadeh, H. and Sokhansanj, A., 2004. Effect of NaCl on biomass and contents of sugars, proline and proteins in seedlings and

- leaf explants of *Nicotianatabacum* grown invitro. *Biologia Plantarum*, 48(4), 613-615.
- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H. and Sharifizadeh, B., 2006. Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents, and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two *Trigonella* species. *Biologia Plantarum*, 50(4), 591-596.
- Noga, G. and Schmitz, M., 1998. Antioxidants in higher plants: Biosynthesis, characteristics, actions and specific functions in stress defence. Shaker Verlag, Aachen. ISBN 3-8265-4418-8.
- Nwe, H.N., Maziah, M., Ling, H.C., Zaman, F.Q. and Zain, A.M., 2011. Responses of some selected Malaysian rice genotypes to callus induction under in vitro salt stress. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 350-362.
- Oertli, J.J., 1991. Nutrient management under water and salinity stress. In: Proceeding of the symposium on nutrient management for sustained productivity. Depart. Soils Punjab Agric. Unver. Ludhiana, India, 138-165.
- Orcutt, D.M. and Nilsen, E.T., 1996. The physiology of plants under stress. Soil and Biotic Factors, 177-237, John Wiley and Sons, Newyork.
- Oudija, F. and Ismaili, M., 2002. Effect of NaCl on somatic embryogenesis and plant regeneration in-vitro. *African Crop Science Society*, 10(3), 221-229.
- Oudija, F. and Ismaili, M., 2002a. Effet de NaCl sur l'embryogenese somatique et sur les capacites de regeneration chez le ble. etude de la competence embryogene des cultures de ble initiees directement en presence de NaCl. *African Crop Science Society*, 10(3), 221-229.
- Oudija, F., Ismaili, M. and Amsa, M., 2002. Effet de la concentration en NaCl sur l'embryogenese somatique et sur les capacites de regeneration chez le ble. *African Crop Science Society*, 10(3), 211-219.
- Ozias-Akins, P. and Vasil, I.K., 1982. Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of *Triticum aestivum* (wheat): evidence for somatic embryogenesis. *Protoplasma*, 110(2), 95-105.
- Özgen, M., Türet, M., Altınok, S. and Sancak, C., 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat genotypes. *Plant Cell Reports*, 18(3-4), 331-335.
- Packer, L. and Landvik, S., 1989. Vitamin E: introduction to biochemistry and health benefits. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 570(1), 1-6.
- Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.
- Patnaik, D. and Khurana, P., 2003. Genetic transformation of indian bread (*Triticum aestivum*) and pasta (*Triticum durum*) wheat by particle bombardment of mature embryo-driven calli. *BMC Plant Biology*, 3(1), 1.
- Pettigrew, W.T. and Meredith, W.R., 1994. Leaf gas exchange parameters vary among cotton genotypes. *Crop Science*, 34(3), 700-705.
- Prakash, V. and Sastry, E.V.D., 1992. Effects of salinity on germination and seedling growth in wheat. *Annals of Arid Zone*, 31(1), 71-72.
- Purohit, M., Srivastava, S. and Srivastava, P.S., 1998. Stress tolerant plants through tissue culture. In: Srivastava, P.S. (Ed.). *Plant Tissue Culture and Molecular Biology: Application and Prospects*. Narosa Publishing House, New Delhi, 554-578.

- Qadir, M. and Schubert, S., 2002. Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degradation and Development*, 13(4), 275–294
- Rains, D.W., Croughan, T.P. and Stavarek, S.J., 1980. Selection of salt-tolerant plants using tissue culture. In: Rains D.W., Valentine, R.C., and Hollaender, A., *Genetic Engineering of Osmore-gulation*. Plenum Press, New York, 279-292.
- Raveendar, S., Premkumar, A., Ignacimuthu, S. and Agastian, P., 2008. Effect of sea water on callus induction and regeneration of rice genotypes. *Int. J. Integr. Biol*, 3, 92-95.
- Reda, F., Abdel-rahim, E.A., El-baroty, G.S.A. and Ayad, H.S., 2005. Responce of essential oil, phenolic components and polyphenol oxidative activity of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) to some bioregulators and vitamins. *Int. J. Agric. Biol*, 7(5), 735-739.
- Redway, F.A., Vasil, V., Lu D., Vasil, I.K., 1990. Identification of callus types for long-term maintenance and regeneration from commercial cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 79(5), 609–617.
- Rhodes, D. and Samara, Y., 1994. Genetics control of dsmoregulation in plants. In cellular and molecular physiology of cell volume regulation. Strange K. Boca Raton, CRC Press, 347-361.
- Rivero, G.C. and Orcutt, D.M., 1991. Antioxidant metabolism in water stressed peanut. *Biotropia, Indonesia*, (5), 22-25.
- Rodriguez, H.G., Roberts, J.K.M., Jordan, W.R. and Drew, M.C., 1997. Growth, water relations and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiology*, 113(3), 881-893.
- Romero-Aranda, R., Soria, T. and Cuartero, S., 2001. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Sciense* 160(2), 265–272.
- Rozeff, N., 1995. Sugarcane and salinity – A review paper. *Sugarcane*, 5,8–19, United Kingdom.
- Rus, A.M., Rios, S., Olmos, E., Santa-Cruz, A. and Bolarin, M.C., 2000. Long-term culture modifies the salt responses of callus lines of salt-tolerant and salt-sensitive tomato species. *Journal of Plant Physiology*, 157(4), 413–420.
- Sadak, M.S. and Davood, M.G., 2014. Role of ascorbic acid and α tocopherol in alleviating salinity stress on flax plant (*Linum usitatissimum* L.) *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 10 (1), 93-111.
- Sairam, Raj Kumar, K., Veerabhadra, R. and Srivastava, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163(5), 1037-1046.
- Sakhanokho, H.F. and Kelley, R.Y., 2009. Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in Hibiscus acetosella and Hibiscus moscheutos (cv 'Luna Red'). *African Journal of Biotechnology*, 8(8), 1474–1481.
- Saleem, M.Y., Mukhtar, Z., Cheema, A.A. and Atta, B.M., 2005. Induced mutation and in vitro techniques as a method to induce salt tolerance in Basmati rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2(2), 141-145.

- Sattler, S.E., Gilliland, L.U., Magallanes-Lundback, M., Pollard, M. and Penna, D.D., 2004. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. *The Plant Cell*, 16(6), 1419-1432.
- Sattler, S.E., Mene-Saffrane, L., Farmer, E.E., Krischke, M., Muller, M.J. and DellaPenna, D., 2006. Non-enzymatic lipid peroxidation reprograms gene expression and activates defense markers in *Arabidopsis* tocopherol-deficient mutants. *The Plant Cell* 18(12), 3706–3720.
- Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M. and Khemira, H., 2010. Response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) growth to salt and drought stresses. *Czech J. Genet. Plant Breed*, 46(2), 54-63.
- Sehrawat, S., Anita, R., Uppal, Krishan S. and Subhash K., 2012. Efficient callus induction, plant regeneration and their selection at different nacl levels in wheat crosses. *Crop Research*, 43(1, 2, 3), 147-152.
- Shah, M.I., Jabeen, M.U.S.S.A.R.A.T. and Ilahi, I.H.S.A.N., 2003. In vitro callus induction, its proliferation and regeneration in seed explants of wheat (*Triticum aestivum* L.) var. LU-26S. *Pakistan Journal of Botany*, 35(2), 209-217.
- Shahidi, F., 1997. *Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications*, Champaign, III ,AOCS Press.
- Shamsi, Keyvan. and Soheil, Kobraee., 2013. Biochemical and physiological responses of three wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) to salinity stress. *Annals of Biological Research*, 4(4), 180-185
- Shigong, Z., JiYin, G., Zhang, S.G., Gao, J.Y. and Song, J.Z., 1999. Effects of salicylic acid and aspirin on wheat seed germination under salt stress. *Plant Physiology Communications*, 35(1), 29-32.
- Siddique, A.B., Ara, I., Islam, S.S. and Tuteja, N., 2014. Effect of air desiccation and salt stress factors on in vitro regeneration of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Signaling and Behavior*, 9(12), e977209.
- Silva, E.N., Ferreira-Silva, S.L., de Vasconcelos Fontenele, A., Ribeiro, R.V., Viégas, R.A. and Silveira, J.A.G., 2010. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. *Journal of Plant Physiology*, 167(14), 1157-1164.
- Singh, M., Srivastava, J.P. and Kumar, A., 1992. Cell-membrane stability in relation to drought tolerance in wheat genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168(3), 186-190.
- Soltani, Y., Saffari, V.R., Maghsoudi Moud, A.A. and Mitra, M., 2012. Effect of foliar application of α -tocopherol and pyridoxine on vegetative growth, flowering, and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. plants. *African Journal of Biotechnology*, 11 (56), 11931-11935.
- Stepien, P. and Klobus, G., 2006. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biologia Plantarum*, 50(4), 610-616.
- Sudhir, P. and Murthy, S.D.S., 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42(2), 481–486.
- Sudyova, V., Slikova, S. and Galova, Z., 2002. Testing wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (*Triticosecale* Witt.) callus to salt tolerance. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 3, 67-71, Piestany.
- Süzer, S., 1992. Buğday Tarımında Yüksek Verim Almanın Yolları. Marmara'da Tarım

- Dergisi, 51, 5-7.
- Szarka, A., Balint, T. and Gabor, B., 2012. The ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in abiotic stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(4), 4458-4483.
- Şenay, A., Kaya, M.D., Atak, M. and Çiftçi, C.Y., 2005. Farklı tuz konsantrasyonlarının bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 14(1), 50-55.
- TUIK, 2015. <http://www.tuik.gov.tr> (05.07.2016).
- Tuna, A.L., Kaya, C., Ashraf, M., Altunlu, H., Yokas, I. and Yagmur, B., 2007. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 173-178.
- Turki, Najla, Moncef H. and Kazutoshi O., 2012. Effect of salinity on grain yield and quality of wheat and genetic relationships among durum and common wheat. *Journal Arid Land Studies*, 22(1), 311-314.
- Ulfat, M., Athar, H., Ashraf, M., Akram, N.A. and Jamil, A., 2007. Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Pak. J. Bot*, 39(5), 1593-1608.
- Viertel, K. and Hess, D., 1996. Shoot tips as an alternative source for regenerable embryogenic callus cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 44(3), 183-188.
- Wacksman, J.T., 1997. DNA methylation and the association between genetic and epigenetic changes: relation to carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 375(1), 1-8.
- Wahid, A., Rasul, E., Rao, R.A. and Iqbal, R.M., 2005. Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit. *Handbook of Photosynthesis*, 2, 479-497.
- Winicov, I., 1996. Characterization of rice (*Oryza sativa* L.) plants regenerated from salt-tolerant cell lines. *Plant Science*, 113(1), 105-111.
- Woodward, A.J. and Bennett, I.J., 2005. The effect of salt stress and abscisic acid on proline production, chlorophyll content and growth of *in vitro* propagated shoots of *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 82(2), 189-200.
- Xu, N., Coulter, K.M. and Bewley, J.D., 1990. Abscisic acid and osmoticum prevent germination of developing alfalfa embryos, but only osmoticum maintains the synthesis of developmental proteins. *Planta*, 182(3), 382-390.
- Xu, F.J., Jin, C.W., Liu, W.J., Zhang, Y.S. and Lin, X.Y., 2011. Pretreatment with H₂O₂ Alleviates Aluminum-induced Oxidative Stress in Wheat Seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(1), 44-53.
- Yupsanis, T., Moustakas, M. and Domiandou, K., 1994. Protein phosphorylation-dephosphorylation in alfalfa seeds germinating under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 143(2), 234-240.
- Yurkova, G.N., Levenko, B.A. and Novozhilov, O.V., 1982. Plant regeneration in wheat tissue culture. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 177(4-5), 337-344.
- Zair, I., Chlyah, A., Sabounji, K., Tittahsen, M. and Chlyah, H., 2003. Salt tolerance improvement in some wheat cultivars after application of *in vitro* selection pressure. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 73(3), 237-244.

- Zale, M.J., Borchardt-Wier, H., Kidwell, K.K. and Steber C.M., 2004. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant cell, Tissue organ culture*, 76(3), 227-281.
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q. and Cao, W., 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 222-227.
- Zhu, Z.J., Wei, G.Q., Li, J., Qian, Q.Q. and Yu, J.Q., 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167(3), 527–533.



ÖZGEÇMİŞ

01.11.1989 tarihinde GAZİANTEP/Şehitkamil ilçesinde doğdu. İlkokula Şehitkamil/Sofalıcı köyünde başlayıp KAHRAMANMARAŞ/Afşin ilçesinde bitirdi. Ortaokul ve lise öğreniminide aynı yerde tamamladı. Üniversiteye 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümünde başlayıp 2014 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tahıllar ve Yemeliklik Baklagiller Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen aynı bilim dalında eğitimine devam etmektedir.