

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STRİGOLAKTON UYGULAMALARININ KİREÇLİ
ORTAMLARDA ASMANIN BAZI FİZİKSEL VE
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

BİROL KOÇ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Emine Sema ÇETİN

YOZGAT - 2022

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STRİGOLAKTON UYGULAMALARININ KİREÇLİ
ORTAMLARDA ASMANIN BAZI FİZİKSEL VE
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

BİROL KOÇ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Emine Sema ÇETİN

**Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 6601a-FBE/21-444 kodu ile desteklenmiştir.**

YOZGAT - 2022

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan eder, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

BİROL KOÇ

31/01/2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STRİGOLAKTON UYGULAMALARININ KİREÇLİ ORTAMLARDA ASMANIN BAZI FİZİKSEL VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

BİROL KOÇ

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. EMİNE SEMA ÇETİN

Günümüzde pek çok faktöre bağlı olarak ortaya çıkan stres durumu bitkilerde verim ve kalite kayıplarına yol açmaktadır. Bitkilerin en çok karşılaştıkları stres faktörlerin başında abiyotik stres faktörleri gelmektedir. Toprakların büyük bir çoğunluğunda görülen yüksek kireç içeriği ve buna bağlı yüksek pH değerlerinin neden olduğu besin alımı problemleri de önemli abiyotik stres faktörleri içerisinde yer almaktadır. Bu stres durumunu ortadan kaldırmak çoğunlukla mümkün olmayıp, bitkinin bu ortamlara dayanımını artıracak yaklaşımlar büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla günümüzde genetik mühendisliği kullanımına odaklanılmaktadır. Ancak bu metotlar son derece pahalı ve büyük bir bilgi birikimini gerektirmesi nedeni ile doğal, kullanımı kolay, pratiğe aktarılabilir ve insan sağlığına zararsız alternatifler bulmak son derece önemlidir. Bitki stres fizyolojisinde içsel hormonların etkili olduğu ve strese toleransta etkin rol oynadıkları bilinmektedir. Bu hormonlardan birisi de yeni nesil hormonlar olarak tanımlanan strigolaktonlar (SL)' dir. Strigolaktonların stres metabolizmasında önemli işlevler üstlendiği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması ile de 1103 Paulsen Amerikan asma anacına aşılı Hasandede çeşidinde SL uygulamaları ile kirece toleransın artırılması amaçlanmıştır. Bitkilerin yetiştirme ortamlarına kök bölgesine farklı konsantrasyonlarda kireç uygulaması (%0, %10 ve %25) yapılmış ve ardından yine kök bölgelerine (0 μ M, 1 μ M, 3 μ M ve 5 μ M) SL uygulaması yapılmıştır. Uygulamaların ardından 2., 12., 24., 48. ve 96. saatlerde örnek alımı yapılmıştır. Alınan örneklerde fiziksel (zararlanma derecesi, sürgün uzunluğu, sürgün başına ortalama yaprak sayısı) ve biyokimyasal (membran zararlanması, klorofil, prolin, çözünebilir protein, lipid peroksidasyonu, toplam fenolik madde, toplam flavonol, toplam flavanol içerikleri ile makro ve mikro element miktarları) analizler yapılmıştır. Fiziksel ve biyokimyasal parametrelerden elde edilen veriler SL uygulamalarının asma bitkisinde kireçten kaynaklanan zararın azaltılmasında etkili olarak kullanım potansiyelinin bulunduğunu göstermektedir.

2022, 58 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Asma, Kireç, Mineral madde, Prolin, Stres, Strigolakton

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE EFFECTS OF STRIGOLACTONE APPLICATIONS ON SOME PHYSICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES ON VITIS GROWN IN LIMELY MEDIA

BİROL KOÇ

**YOZGAT BOZOK UNIVERSITY
SCHOOL OF GRADUATES STUDIES**

DEPARTMENT OF HORTICULTURE

SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. EMİNE SEMA ÇETİN

Nowadays, the stress conditions that arise depending on multiple factors cause quantity and quality losses on plants. Abiotic stress are the most common stress factors that plants encounter. Nutrient uptake problems caused by high lime content and high pH values seen in most of the soils are also among the abiotic stress factors. Eliminating this stress factor is not possible and the approaches that will increase the plants resistance have a great importance. At the present time the use of genetic engineering is being focused. However, these methods are extremely expensive and they require a knowledge. It is so important that to find alternatives natural, easy to use, practicable and harmless to human health. Hormones are effective in the plant stress physiology and play an active role in stress tolerance. One of those substances that are introduced as the new generation hormones are strigolactones (SL). It has been determined that Strigolactones undertake important functions in stress metabolism.

In this thesis, it is aimed to provide resistance to lime stress with SL applications on Hasandede grape variety grafted to 1103 P American rootstock. Different concentrations of lime (0, 10% and 25%) were applied to the root area of the plants and SL were applied (0 μ M, 1 μ M, 3 μ M and 5 μ M) to the root regions. Samples were taken at 2. 12. 24. 48. and 96 hours later after the SL applications. Physical (degree of injury, shoot length, leaf number per shoot) and biochemical (membrane injury, chlorophyll, proline, soluble protein, lipid peroxidation, total phenolic compounds, total flavonols, total flavanols, macro and micro elements) analyzes were performed on the samples. The data obtained from these analyses show that SL applications have to potential to be used in reducing the damage caused by lime in grapevine.

2022, 58 pages

KEYWORDS: Grapevine, Lime, Mineral matter, Proline, Stress, Strigolactone

ÖNSÖZ

Ülkemiz bağ alanlarının genelinin yüksek kireç içeren, başka bir ürünün yetiştirilmesi için çoğu zaman uygun olmayan topraklar üzerine tesis edildiği bilinmektedir. Asma bitkisinin toprakta bulunan yüksek kireç, yüksek pH ve bunun getirdiği olumsuz sonuçlardan zarar görmesini engellemek önem taşımaktadır. Bu proje ile strigolaktonların stres üzerindeki etkilerinden yola çıkarak yüksek kireç içeren ortamlarda asma bitkisi üzerindeki performansının incelenerek bu strese dayanımının artırılması amaçlanmıştır.

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca tezimin planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Emine Sema ÇETİN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen, laboratuvar olanakları konusunda büyük desteklerini gördüğüm Yozgat Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı ve akademik personeline çok teşekkür ederim.

Tez çalışmasının azot analizleri kısmında büyük katkılarını gördüğüm Yozgat Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü akademik personeline teşekkürlerimi sunarım.

Mineral madde miktarlarının belirlenmesinde tezime olan büyük katkılarından ve emeklerinden dolayı Doç. Dr. Sayın Hale SEÇİLMİŞ CANBAY'a (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü) ve Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu tez çalışması; Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 6601a-FBE/21-444 nolu proje ile desteklenmiş olup, finansal katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Son olarak, yaşamım boyunca benden desteklerini esirgemeyen, sabır ve yol gösteren, her zaman hoşgörüsüne sığındığım sevgili eşime ve kızıma teşekkürü bir borç bilirim.

BİROL KOÇ

31/01/2022

İÇİNDEKİLER

Tez Onay Sayfası.....	ii
Tez Beyanı.....	iii
Özet.....	iv
Abstract.....	v
Önsöz.....	vi
İçindekiler.....	vii
Şekiller Listesi.....	ix
Çizelgeler Listesi.....	x
Simgeler ve Kısaltmalar Listesi.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal	11
3.2. Yöntem	11
3.2.1. Fiziksel analizler.....	16
3.2.1.1. Zararlanma derecesinin belirlenmesi.....	16
3.2.1.2. Sürgün uzunluğunun belirlenmesi.....	16
3.2.1.3. Sürgün başına ortalama yaprak sayısının belirlenmesi.....	16
3.2.2. Biyokimyasal analizler.....	17
3.2.2.1. Membran zararlanmasının belirlenmesi.....	17
3.2.2.2. Klorofil miktarının belirlenmesi.....	18
3.2.2.3. Prolin miktarının belirlenmesi.....	18
3.2.2.4. Çözünebilir protein miktarının belirlenmesi.....	18
3.2.2.5. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi.....	18
3.2.2.6. Fenolik maddelerin belirlenmesi.....	19
3.2.2.7. Mineral madde miktarlarının belirlenmesi.....	21
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	24

5. SONUÇ ve ÖNERİLER	45
6. KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ	



ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	Strigolaktonların genel yapısı	5
Şekil 3.1.	Çeliklerin suda bekletilmesi ve termoterapi.....	12
Şekil 3.2.	Aşılama ve parafınleme	12
Şekil 3.3.	Katlama ve sera koşullarında gelişim	13
Şekil 3.4.	Aşılı fidanlarda sürgün gelişimi.....	13
Şekil 3.5.	Bitkilerin yetiştirildiği sera ortamından genel bir görünüm.....	14
Şekil 3.6.	Aşılı fidanlara kireç uygulamalarının yapılması.....	14
Şekil 3.7.	Aşılı fidanlara SL uygulamalarının yapılması.....	15
Şekil 3.8.	Aşılı fidanlarda sürgün uzunluğunun belirlenmesi	17
Şekil 3.9.	Toplam fenolik madde analizinden bir görünüm.....	19
Şekil 3.10.	Toplam flavonol analizlerinden bir görünüm.....	20
Şekil 3.11.	Toplam flavanol analizlerinden bir görünüm.....	20
Şekil 3.12.	Kjeldahl cihazında azot analizleri ve titrasyon.....	21
Şekil 3.13.	Mineral madde analiz hazırlıklarından bir görünüm.....	22
Şekil 3.14.	Örneklerin kül fırınına yerleştirilmesi ve yakılması	22

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Kullanılan ICP-OES cihazının çalışma koşulları.....	23
Çizelge 3.2. ICP-OES’de elementlerin çalışılan dalga boyları	23
Çizelge 4.1. SL uygulamasının bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri.....	25
Çizelge 4.2. SL uygulamasının bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri...	29
Çizelge 4.3. SL uygulamasının fenolik bileşikler üzerine etkileri.....	33
Çizelge 4.4. SL uygulamasının makro besin elementleri üzerine etkileri.....	38
Çizelge 4.5. SL uygulamasının mikro besin elementleri üzerine etkileri.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
d/d	: Devir/dakika
g	: Gram
L	: Litre
nm	: Nanometre
pH	: Power of hydrogen
ppm	: Parts per million
rpm	: Revolutions per minute

Kısaltmalar	Açıklamalar
ABA	: Absisik asit
AMF	: Arbuskular mikorizal fungus
CE	: Kateşin eşdeğeri
DMAC	: 4- (dimethyl amino cinnamaldehyde)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
IAA	: Indol asetik asit
ICP-OES	: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
IPGRI	: International Plant Genetic Resources Institute
LDL	: Low-Density Lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MZI	: Membran Zararlanma İndeksi
PVP	: Polivinil pyrolidone
RE	: Rutin eşdeğeri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SL	: Strigolakton
SPAD	: Soil Plant Analysis Development
TBA	: Tiyoarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit

1. GİRİŞ

Yaşamın ayrılmaz bir parçası olan bitkilerin her geçen gün biyotik ve abiyotik olarak isimlendirilen farklı stres ortamları ile karşılaştıkları bilinmektedir. Bitkilerin bulundukları yetiştirme ortamının içeriği de, besin maddesi alımında dengesizlikler meydana getirebilmekte ve bir abiyotik stres faktörü olarak fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Ülkemiz topraklarının kireç kapsamının Kuzeydoğu bölgesi dışında genellikle yüksek olduğu bilinmektedir. Yüksek kireç ve yüksek pH ise başta fosfor, demir ve çinko olmak üzere bazı besin maddelerinin bitki tarafından alınımını engellemekte ve çeşitli zararlanmalara neden olmaktadır. Kireçten kaynaklanan bu stresi ortadan kaldırmak özellikle de kısa vadede mümkün olamamaktadır. Kükürtlü preparatlar ile toprağın pH'sının düşürülerek iyileştirilmesi yoluna gidilmekte, bu durum ise hem bir zaman gerektirmekte hem de büyük araziler söz konusu olduğunda uygulanabilirliği düşük kalmaktadır. Bu nedenle bitkilerde streslere dayanım kazandıracak yaklaşımlara gereksinim duyulmaktadır. Burada doğal, kullanımı kolay, pratiğe aktarılabilir ve insan sağlığına zararsız alternatifler bulmak son derece önemlidir.

Bitkilerin stres ortamına karşı koyabilmek için de bir takım mekanizmalar geliştirdikleri ve bu süreçte içsel hormonların son derece önemli oldukları bilinmektedir. Bu bağlamda özellikle yeni nesil hormonlar olarak tanımlanan bazı maddeler öne çıkmaktadır. Bu maddelerden birisi de karotenoidlerden türemiş, bitki köklerinde üretilen strigolakton (SL)'lardır. SL'ler bir bitki hormonu olması dolayısıyla doğal bileşiklerdir. Ancak SL'lerin bu yöndeki etkinliklerinin belirlenmesine yönelik dışsal uygulamalarını kapsayan çalışmalar sınırlı sayıda ve sınırlı stres faktörü üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Stres toleransına sahip bitkilerin geliştirilmesi son derece önemli olup, burada söz konusu bitki ekonomik açıdan önem taşıyan ve aynı zamanda beslenme ve insan sağlığı bakımından da önemli bir bitki olduğunda potansiyel etkileri de daha yaygın olmaktadır. Asma bitkisi de bunlardan birisidir. Bu çalışmada da ülkemizde anaç olarak kullanımı çok yaygın olan, aynı zamanda topraktaki %17 kadar aktif kirece dayanabildiği bilinen 1103 P Amerikan asma anacına aşılı Hasandede çeşidine dışsal SL uygulamaları yapılarak SL'lerin kirece dayanım üzerindeki mekanizmalarının incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Dünyadaki tüm canlıların her geçen gün artan farklı stres faktörleri ile karşı karşıya kaldıkları bilinmektedir. Burada kimi canlılar stres ortamından kaçınma durumuna gidebilmekte, kimisi strese dayanma bakımından farklı özellikler geliştirmekte, kimisi de bu ortama tolerans gösterememekte ve canlılığını yitirmektedir. Ekosistemin ayrılmaz bir parçası olan bitkiler bulundukları yerden ayrılabilme durumunda olamadıkları için stres faktörlerine karşı genetik adaptasyonlarına da bağlı olarak değişen ölçülerde tepkiler vererek büyüme ve gelişmelerini sürdürmeye çalışmaktadırlar (Wolters ve Jurgens, 2009; Gollack vd., 2011).

Bitkilerde stres durumu biyotik ve abiyotik olarak farklı şekillerde meydana gelmektedir. Biyotik stres canlının başka bir canlı ile (böcek, fungus, bakteri vb.) karşılaştığında ortaya çıkan olumsuzluklardır. Abiyotik stres ise bütün bir kompleks olarak tüm çevresel şartların neden olduğu stresleri kapsayan bir durumdur. Örneğin kuraklık, tuzluluk, kuvvetli ışık, düşük ışık, ultraviyole, yüksek ve düşük sıcaklık, donma, ağır metaller ve yetersiz oksijen önemli abiyotik stresler içerisinde yer almaktadır. Bir bitki topluluğunun veya ekosistemin neredeyse her bozulumu bir strese neden olmakta ve bu durum bitkilerin performansını ve hayatta kalmasını etkilemektedir (Osmond vd., 1987; Hirayama ve Shinoza, 2010).

Abiyotik stresler bitkisel ürün yetiştiriciliğinde verimi yaklaşık %50 oranında azaltarak tarımsal üretimin geleceğini tehdit etmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Söz konusu stres faktörünün ortadan kaldırılması çoğu kez mümkün olmamaktadır. Bitkide meydana gelen özellikle hafif şiddetteki zararlanmalarda, bir direnç kazanılması durumunda her ne kadar geri dönüşüm söz konusu olsa da stres olayı genel olarak bitkiyi zayıflatmakta ve bitkinin kapasitesinin sonuna ulaşıldığında da kronik bir hastalığa veya geri dönüşümsüz bir zarara yol açmaktadır (Özcan vd., 2004).

Bitkilerde bir taraftan fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen, diğer taraftan verim ve kalitenin azalmasına yol açan faktörler içerisinde de bitkilerin besin maddesi alımındaki dengesizlikler önemli bir paya sahiptir. Bitkilerin bulundukları ortamda bazı elementlerin alımının sınırlandırılması ya da aksine bazı elementlerin çözünürlüğünün artarak toksik hale gelmesi bir abiyotik stres faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ülkemiz topraklarının Kuzeydoğu bölgesinde kalan kısmı haricinde, kireç kapsamının üzerinde olduğu ana materyalin geo-genetik karakterine bağlı olarak genellikle yüksek olduğu bilinmektedir. Kireç kapsamında sedimanter kökenli ana materyal ve yetersiz yağış belirleyici olmaktadır. Yağışın yetersizliği kirecin yıkanamayıp toprak profilinin belirli katmanlarında birikmesine neden olmaktadır (Sönmez vd., 2018). Yüksek kireç ve yüksek pH ise başta fosfor, demir ve çinko olmak üzere diğer bitki besin maddelerinin bitki tarafından alınımını engellemektedir. Kireçten kaynaklanan besin alımı stresini ortadan kaldırmak özellikle de kısa vadede mümkün olamamaktadır. Kükürtlü preparatlar ile toprağın pH'sının düşürülerek iyileştirilmesi yoluna gidilmekte, bu durum ise toprağın iyileşmesinin sağlanması bakımından hem bir zaman gerektirmekte hem de büyük arazilerde uygulanması gerektiğinde pratiğe aktarımı güç olmaktadır. Bu nedenle bitkilerde streslere dayanım kazandıracak yaklaşımlar son derece önemlidir.

Günümüz stratejileri ürün kayıplarını en aza indirmek için genetik mühendisliğinin kullanımına odaklanmaktadır. Bu şekilde moleküler markırlar kullanarak farklı stres faktörlerine dayanıklı çeşit geliştirme çalışmaları yapılmaktadır (Sanan Mishra vd., 2005; Cuartero vd., 2006). Ancak, bu metot son derece pahalı olup aynı zamanda büyük bir bilgi birikimini de gerektirmektedir. Bu nedenle doğal, kullanımı kolay, pratiğe aktarılabilir ve insan sağlığına zararsız alternatifler bulmak son derece önemlidir.

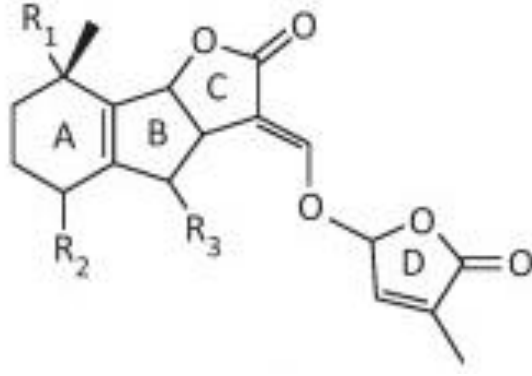
Bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı verdikleri tepkiler incelendiğinde bu tepkilerin büyük ölçüde bünyelerindeki hormonlar ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Chaves vd., 2003; Christmann vd., 2006; Perez Torres vd., 2008; Evelin vd., 2009). Nitekim bitkilerin biyotik bir strese maruz kaldıklarında yaralı hücrelerden gelen sinyalleri algılayarak salisilik asit sinyal yolunu aktive ettikleri ve diğer bitki hormonları ile de etkileşimde bulunarak farklı tepkiler gösterdikleri bilinmektedir. Bu aslında son derece karmaşık bir sistem olup, bitkilerin bu şekilde tolerans kazandıkları tespit edilmiştir (Pieterse vd., 2009; An ve Mou, 2011). Yine bir hormon olan absisik asit (ABA) bitki büyüme ve gelişmesinin düzenlenmesinde sinyal görevi üstlenmekte ve özellikle kuraklık stresine karşı savunma mekanizması olarak önemli bir rol oynamaktadır (Christmann vd., 2006). Stres ortamında bitkinin fotosentez hızını azaltmak için stomalarını kapatması ve CO₂ alımını azaltmasının ABA seviyesindeki artışa paralel olarak meydana geldiği de bilinmektedir (Wilkinson vd., 2001; Raghavendra vd., 2010). Ayrıca ABA'nın stresin zararını azaltmak amacıyla stresle ilişkili genlerin ifadesini etkilediği (Evelin vd., 2009),

bunun yanında koruyucu proteinlerin birikimi, antioksidanların seviyesinin artması, enerji tüketim yollarının baskılanması gibi çok sayıda değişikliğe yol açtığı da bilinmektedir (Taiz ve Zeiger, 2011; Bartels ve Sunkar, 2005). Benzer bir durum bir diğer bitki hormonu olan sitokinin için de geçerli olup, sitokinin seviyesinin düşük olduğu durumlarda besin elementi noksanlığında daha şiddetli belirtilerin görüldüğü (Salama ve Wareing, 1979), sitokinin ilave edilen ortamlarda fosfat alımını artırmaya yönelik köklerde belirgin tepkilerin olduğu belirlenmiştir (Martin vd., 2000). Yine fosfat içeriğinin düşük olmasından kaynaklı stres ortamında oksin hormonunun arttığı da yapılan çalışmalarla kanıtlanmış durumdadır (Lopez Bucio vd., 2002; Perez Torres vd., 2008). Buradan farklı streslere verilen tepkilerde bitkilerin “hassas” ya da “toleranslı” olarak ifade edilmelerinde içsel hormonların büyük rol oynadıkları sonucuna varmak mümkündür.

Bilindiği gibi yakın bir döneme kadar bitki hormonlarının oksin, gibberellin, sitokinin, absisik asit ve etilen olmak üzere 5 gruptan oluştuğu düşünülmekteydi. Ancak yapılan araştırmalarla bitkiler tarafından sentezlenen, jasmonatlar, brassinosteroidler, salisilik asit ve nitrik oksit gibi diğer bazı maddelerin de tıpkı bu hormonlar gibi bitki bünyesinde çok önemli yaşamsal işlevlerde bulundukları belirlenmiş olup, bu bileşikler de bitkisel hormonlar sınıfına ilave edilmişlerdir. İşte bu maddeler içerisinde yer alan ve yeni nesil hormonlar olarak tanıtılan bir diğer hormon da karotenoidlerden türemiş ve bitki köklerinde üretilen bir madde olan strigolakton (SL) lardır.

SL’ler molekül yapısı olarak bir enol eter köprüsü yoluyla doymamış α , β -furanon parçasına (D halkası) bağlanmış bir ABC trisiklik laktondan oluşmaktadır (Şekil 2.1.). İlk kez 1966 yılında strigol ve strigyl asetat olarak pamuk kök salgılarında tespit edilmiştir (Cook vd., 1966). Günümüzde kara yosunlarından (Proust vd., 2011) yeşil algilere (Delaux vd., 2012) ve karasal bitkilere (Bowman, 2013) kadar çeşitli bitkilerin kök salgılarında doğal olarak oluşan en az 19 farklı SL tespit edilmiş durumdadır (Xie ve Yoneyama, 2010; Kisugi vd., 2013).

Yapılan araştırmalar SL’lerin köklerde nispeten daha yüksek miktarlarda bulunduğunu, hipokotil, gövde ve yaprak gibi diğer bitki dokularında ise çok düşük konsantrasyonlarda hatta bazılarında hiç bulunmadığını göstermektedir (Yoneyama vd., 2007).



Şekil 2.1. Strigolaktonların genel yapısı (Ruyter Spira vd., 2013).

Bir bitki hormonu olarak ortaya çıkmasından önce SL'lerin cadı otu (*Striga*) ve canavar otları (*Orobanch*e, *Phelipanchespecies*) gibi kök paraziti bazı bitkilerde yalnızca çimlenmeyi teşvik edici bir madde olduğu düşünülmüş (Cook vd., 1966) ve uzun yıllar üzerinde bir çalışma yapılmamıştır. Daha sonra bitkilerin gelişiminde önemli rol oynayan arbuskular mikorizal fungus (AMF)-bitki birlikteliklerinin düzenlenmesinde de SL'lerin rizosferde bir sinyal görevini üstlendiği tespit edilmiştir (Akiyama vd., 2005; Matusova vd., 2005; Foo vd., 2012; Yoshida vd., 2012).

AMF-bitki simbiyosisi üzerindeki rollerinin belirlenmesinin ardından SL'lerin yan sürgün gelişimini engelleyerek sürgün dallanmasının baskılanmasında (Gomez Roldan vd., 2008; Umehara vd., 2008; Brewer vd., 2009) ve ardından da kök yapısının şekillenmesinde (Ruyter Spira vd., 2011) önemli rol oynadıkları belirlenmiştir. Optimum büyüme koşullarında, SL'lerin lateral kök oluşumunu baskıladığı (Kapulnik vd., 2011), buna karşın olumsuz çevre faktörleri karşısında bitkilerin bu koşullara uyabilmek için SL seviyelerini artırdıkları belirlenmiştir (Umehara vd., 2008; Kohlen vd., 2011). SL üzerindeki araştırmalar işte bu noktadan sonra artmış, yeni fonksiyonları ortaya çıkarılmaya başlanmış ve bu maddenin diğer hormonlarla ilişkili olduğu da tespit edilmiştir (Lopez Ruez vd., 2010).

SL seviyesi düşük ve SL'lere duyarlı *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) mutantlarında primer kök uzunluklarının yabani tiplerden daha kısa olduğunu belirleyen Ruyter Spira vd. (2011) araştırmalarında ilk yapay SL analogu olan ve SL'den daha kolay sentezlenen GR24 (Gomez Roldan vd., 2008; Zwanenburg vd., 2009)'ü kullanmışlardır. GR24 uygulaması sonrası hücrelerin uzunluklarında bir artış gözlemlendiği, ayrıca dışsal oksin uygulaması ile birlikte GR24 uygulamasının lateral kök gelişimini teşvik edici bir etki yaptığı da ifade edilmiştir.

SL'lerin bu çok yönlü işlevleri araştırmacıları farklı özelliklerinin olup olmadığını belirlemeye ve bunları ortaya koymak adına yeni çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir. Bitki hormonlarının strese karşı uyum mekanizmasının geliştirilmesinde önemli olduklarının bilinmesi (Santner ve Estelle, 2009; Wang vd., 2009; Messing vd., 2010) SL'lerin de bu yönde etkili olabilecekleri fikrini ortaya atmıştır. Aslında herhangi bir hormonun sentezindeki farklı basamaklarındaki mutantların kullanılması bitkinin o hormon aracılığıyla strese verdiği tepkinin belirlenmesini kolaylaştırmaktadır (Peleg ve Blumwald, 2011). Ancak SL'lerin bu yöndeki etkinlikleri hala tam olarak belirlenememiştir.

Özellikle son yıllarda yoğunlaşan araştırmalarla SL'lerin sekonder gelişme, köklenme ve yumru oluşumunda oksinler ile birlikte etki gösterdikleri ortaya konulmuştur (Roumeliotis vd., 2012; Foo, 2013; Liu vd., 2013; Shinohara vd., 2013; Dierck vd., 2016). Diğer hormonlarda da olduğu gibi SL sinyal yolağının sekonder mesajcı olarak reaktif oksijen türlerini (ROT) ürettiği belirlenmiş ancak bu olayın mekanizması henüz aydınlatılamamıştır (Bartoli vd., 2013). Üstlenmiş oldukları bu önemli konular nedeniyle de bitkiler aleminde SL biyosentez yollarının yüksek oranda korunduğu belirtilmiştir (Brewer vd., 2013). Bir diğer araştırmada da Torres Vera vd. (2014), SL'lerin bitki savunma mekanizması üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonunda SL noksanlığı bulunan mutant domates hattı *Slccd8*'in fungal patojen olan kurşuni küf (*Botrytis cinerea*) ve alternaria çürüklüğü (*Alternaria alternata*)'ne yabancı tiplerine oranla daha hassas olduğunu belirlemişlerdir.

SL'lerin dışsal uygulanmalarının strese tolerans bakımından etkisinin incelenmesine yönelik uluslararası literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birisinde SL bakımından noksan mutant domates bitkilerine GR24 uygulamasının köklerin IAA'ya tepki vermesini de olumlu etkilediğini, bitkilerde pozitif bir regülatör olarak rol oynadıklarını belirtmişlerdir (Einav vd., 2010). *In vitro* da *Arabidopsis* mutantlarında yapılmış olan çalışmada (Ha vd., 2014) SL'lerin kuraklık stresi üzerine etkilerinin fizyolojik ve moleküler yönden belirlenmesine çalışılmıştır. Araştırmada eksplantlar geliştirme ortamında 14 gün süre ile 22°C sıcaklık, 16/8 saat aydınlık/karanlık ortamda geliştirilmiştir. Kuraklık stresi için 100 µM ABA uygulanmıştır. Bitkilere ilki ilk gün olmak üzere 7. günden 13. güne kadar günde iki kez saat 10:00 ve 16:00'da sprey şeklinde 5 mL 5 µM SL (rac-GR24) uygulaması yapılmıştır. Hem düşük

hem de yüksek seviyelerde SL üreten farklı mutantların kullanıldığı araştırma sonucunda SL bakımından yetersiz mutantlara dışsal SL uygulamasının kurağa hassas fenotiplerde toleransı artırdığı belirlenmiştir. Dolayısıyla SL'nin Arabidopsis de kuraklık stresine tepkilerini pozitif olarak düzenlediği ve SL'lerin strese toleranslı bitkilerin geliştirilmesinde yeni bir yaklaşım olabileceği belirtilmiştir.

Önay ve Gök (2016) buğday tohumlarına 15 dakika süre ile 20 μ M GR24 uygulamasının tuzlu koşulların tohumların çimlenme oranı ve süresi üzerinde bilinen baskısının ortadan kaldırılmasında etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Yine tuzlu koşullar altında buğday tohumlarının çimlenmeleri üzerine yapılan bir diğer çalışmada Shahbaz ve Kausar (2016) SL (GR24) ön uygulamasının etkisini incelemişlerdir. S-24 ve PARI-73 buğday çeşitlerine farklı konsantrasyonlarda GR24 (0.001; 0.01 ve 0.1 mg/L) 16 saat süre ile uygulanmıştır. 150 mM NaCl uygulamasının fidelerin yaş ve kuru ağırlık ile kök uzunluğu üzerinde önemli bir etki göstermediği, net CO₂ asimilasyon oranının GR24 uygulamasına bağlı olarak arttığı ifade edilmiştir. Özellikle S-24 çeşidinin büyüme parametreleri ve fotosentetik verim bakımından GR24 ön uygulamasına daha iyi yanıt verdiği de vurgulanmıştır.

SL'lerin kuraklık stresi üzerine olan etkisini belirlemeye yönelik dışsal uygulamaları içeren bir diğer çalışmada da kurağa hassas ve dayanıklı iki kışlık buğday genotipinde kuraklık üzerine SL'nin ve salisilik asitin etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmada SL (GR24) ve salisilik asit yapraktan uygulanmış olup, SL ve salisilik asit uygulanan bitkilerin daha yüksek bir tolerans gösterdikleri belirlenmiştir (Sedaghat vd., 2017). Bu çalışmalar SL'nin strese karşı tepkide pozitif regülatör olarak rol oynadığını doğrulamaktadır. Nitekim araştırmacılar da bu sonuçlardan yola çıkarak SL'lerin gelecekte kuraklığa dayanıklı transgenik bitkilere alternatif olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Kum zambağı bitkisinin tuzluluk stresine toleransında SL'lerin etkilerinin incelendiği bir Yüksek Lisans tez çalışmasında ise SL uygulamalarının antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi incelenmiştir. Kum zambağı fidelerine GR24 (0, 10, 20 μ M) uygulanmış ve ardından tuz uygulaması (0, 150, 300 mM NaCl) yapılmıştır. Stres uygulamasından 10 gün sonra fide morfolojisi ile SOD, CAT ve POX aktivitesi ve bu enzimlerin izoenzimleri ile Tiobarbitürik asit reaktif maddeler ve H₂O₂ içeriklerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Tez çalışmasının sonunda GR24 ön

uygulamasının bitkilerin antioksidan savunma sisteminin uyarılmasında ve tuzlu koşullara dayanımının sağlanmasında potansiyelinin olduğu saptanmıştır (Gök Özel, 2018).

Önay (2019), Sultan-95 (duyarlı) ve Tosunbey (dayanıklı) ekmeklik buğday çeşitlerinde saksı denemelerinde tohumlara tuz stresi (0; 200 ve 300 mM NaCl) uygulamış ve kuru ekim (KE), suda ekim (SE), GR24 ön uygulamalı ekim (GRE) (20µM GR24) olmak üzere farklı şekillerde ekim işlemini yapmıştır. Araştırma sonucunda tuza toleranslı ve duyarlı buğday çeşitlerinin tuz stresine maruz kalmadan önce tohumlara yapılan 20 µM GR24 ön uygulamasının buğday bitkisinde tuza karşı toleransta teşvik edici bir rolü olduğu ortaya konmuştur.

SL'lerin kapari bitkisine ait kallus kültürlerinde fenolik madde birikimi üzerinde incelemeler yapan Issah (2021), 2 mg/L NAA, 1 mg/L BAP ve 0.1 µM GR24 içeren ortamlarda kültüre alınan kapari kalluslarının fenolik bileşikler içerisinden özellikle klorojenik asit, rutin ve kuersetin birikiminde en iyi kompozisyon olduğunu belirtmiş, daha düşük konsantrasyonlardaki GR24'ün de aslında çok etkili olduğunu ancak bu alanda çok daha fazla çalışma yapılmasının gerekliliğini de vurgulamıştır.

Strese dayanımın sağlanması özellikle ekonomik değeri yüksek olan bitkilerde daha da önemli olmaktadır. Bu bitkilerden birisi de asma bitkisidir. Asma bitkisi ve onun ürünü olan üzüm ticari öneminin yanı sıra, önemli fitokimyasal içeriği ile tıp ve eczacılık açısından son derece önemli bir meyve konumundadır. Üzüm başta resveratrol ve antosiyanin olmak üzere 1600 den fazla önemli bileşiği içermekte (Pezzuto, 2008) ve bu şekilde düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein, LDL)'in düşürülmesinden, kardiovasküler hastalıkların azaltılmasına, kan şekerinin düzenlenmesine, bağışıklığın güçlendirilmesine ve kanser oluşumunun engellenmesine hatta Alzheimer gibi hastalıkların önlenmesine kadar pek çok alanda da önemli rol oynamaktadır (German ve Walzem 2000; Middleton vd., 2000). Bu nedenle stres kaynaklı kayıpların önlenmesini sağlayacak uygulamaların potansiyel etkisi daha yüksek olacaktır. Yapılan kapsamlı literatür araştırmalarında dışsal SL uygulamalarının asmada farklı stresler üzerindeki etkisini belirlemeye yönelik sınırlı sayıda araştırmaya rastlanılmıştır.

Üzümde ABA'nın olgunlaşma periyodunda artması ve antosiyanin birikimini teşvik etmesi durumu ve ABA ile SL ilişkisinden yola çıkılarak yapılmış bir araştırmada Ferrero vd. (2018), SL uygulamasının tanelerde antosiyanin birikimi üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmada antosiyanin biyosentezinden sorumlu genlerin ifadesi, ABA biyosentezi,

metabolizması ve membran taşınımı belirlenmiştir. Araştırma sonucunda tanelerde çözünebilir şeker birikiminin ve antosiyanin miktarının arttığı tespit edilmiştir. GR24 uygulamasının antosiyanin birikimi ya da gen ifadesi bakımından etkisiz ya da çok az etkili olarak belirlenirken, GR24 ve ABA'nın birlikte uygulanması antosiyanin birikimini geciktirmiş ve antosiyanin biyosentezinden sorumlu gen ifadelerini de azaltmıştır. GR24, ABA hidroliz genlerinin ifadelerini artırırken, ABA taşınım genlerinin ifadelerini aşağı yönlü etkilemiştir.

Sunulan bu tez çalışmasının hayata geçirilmesinin ardından yapılmış olan literatür araştırmasında ulaşılan bir referansta ise asmada kuraklık stresi üzerine SL uygulamalarının etkileri incelenmiştir (Min vd., 2019). İki yaşındaki asma bitkilerine 3 farklı konsantrasyonda rac-GR24 (1 μ M, 3 μ M ve 5 μ M) uygulanmış ve kuraklık koşullarını simüle etmek için %7 polietilen glikol (PEG-6000) uygulanmıştır. GR24, 24 saat ara ile 7 gün süresince uygulanmıştır. Yaprak örnekleri PEG uygulamasından sonraki 2., 12., 24., 72., 96. ve 120. saatlerde alınmıştır. Araştırma sonucunda sentetik GR24 uygulanan bitkilerin daha düşük elektrolit sızıntısı, stoma açılımı ve ROT değerleri ve daha yüksek bağıl su içeriği, klorofil içeriği, fotosentez oranı değerleri ile kuraklık stresine tolerans gösterdiği tespit edilmiştir. GR24 uygulaması ayrıca indol asetik asit (IAA) seviyelerini ve zeatin ribozit (ZR), değerini düşürürken, hem köklerde hem de alttaki yapraklarda absisik asit (ABA) seviyesini arttırmıştır. Bu sonuçlar, GR24'ün yapraklara uygulanmasının kuraklığın olumsuz etkilerini iyileştirebileceğini göstermiştir (Min vd., 2019).

Asmada son dönemde yapılmış bir çalışmada ise SL'lerin sürgün dallanmasını engelleme özelliği üzerine araştırma yapan Ren vd. (2020), 41 B asma anacında VvCCD7 ve VvCCD8 gen ifadelerini düzenlemede CRISPR/Cas9 sistemi üzerine çalışmışlardır. 41B embriyogenik hücrelerini transforme etmişler ve sekans analizleri de VvCCD7 ve VvCCD8 olmak üzere her iki gende de başarı sağlandığını göstermiştir. Rejenerasyon sonrasında 6 adet 41 B bitkiciği CCD8-sgRNA taşıyan transgenik olarak tanımlanmıştır. Bunlardan dördü hedef bölgede mutasyon göstermiş ve ccd8 mutantı olarak belirlenmiştir. Söz konusu mutantlarda sürgün dallanmasının yabancı bir diğer ifade ile transforme olmamış tiplere oranla arttığı ifade edilmiştir.

Ülkemiz bağ alanlarının genelinin yüksek kireç içeren, çoğu zaman başka bir ürünün yetiştirilmesi için uygun olmayan topraklar üzerine tesis edildiği bilinmektedir.

Asma bitkisi diğer pek çok kültür bitkisi ile kıyaslandığında da fakir toprakları değerlendirebilen bitki olarak tanımlanmaktadır. Ancak yüksek kirece dayanım daha çok yerli asma olarak tanımladığımız *Vitis vinifera* türüne ait asmalar için geçerlidir. Oysa tüm dünya bağcılığında sağlıklı bir üretim yapılması ancak Amerikan asma anaçları üzerine aşılı *Vitis vinifera* türüne ait çeşitlerle gerçekleştirilebilmektedir. Bu durum doğal olarak çoğu stres faktörüne dayanımda çeşide oranla anaç dayanımının ön planda tutulmasına neden olmaktadır. Asma anaçlarının ise kirece kısmen toleranslı oldukları bilinmektedir (Esteban vd., 1999; Kennedy vd., 2000; Esteban vd., 2001). Bu nedenle asma bitkisinin toprakta bulunan yüksek kireç, yüksek pH ve bunun getirdiği olumsuz sonuçlardan zarar görmesini engellemek büyük önem taşımaktadır. Çünkü kalitesi yüksek üzümler ancak bulunduğu ortam koşullarına iyi adapte olabilecek anaçlar üzerine aşılı çeşitlerle mümkün olmaktadır. Anaç ıslahı çalışmalarında ise öncelikle filokseraya dayanım, sonrasında diğer faktörlere dayanım olarak düşünüldüğünden mevcut anaçlara yüksek kireçli toprakları da değerlendirebilecek özellik kazandırılması büyük önem taşımaktadır. Dolayısıyla asmada kirece dayanımın kazandırılması ve burada doğal, pratiğe aktarılabilir, insan sağlığına zararsız alternatifler bulmak son derece önemlidir. SL'ler bir bitki hormonu olması dolayısıyla doğal bileşiklerdir. İnsan sağlığı üzerine de olumsuz herhangi bir etkisi tespit edilmemiş, aksine göğüs, prostat, akciğer ve kolon kanserlerinde SL ve analoglarının sağlıklı hücrelere zarar vermeksizin kanser hücrelerinde apoptosisi azalttıkları ve hücrelerin çoğalmasını engelledikleri belirlenmiştir (Pollock vd., 2012; Yarden ve Pollock, 2013). Bu araştırma ile de SL'nin stres üzerindeki etkilerinden yola çıkarak yüksek kireç içeren ortamlarda asma bitkilerinin dayanımının artırılmasının sağlanması amaçlanmıştır. Yapılan kapsamlı literatür araştırmalarında ise dışsal SL uygulamalarının asma bitkisinde kireç stresi üzerine olan etkisini belirlemeye yönelik herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu amaçla; bir yıllık olarak yürütülmüş bu tez çalışması ile farklı düzeyde kireç içeren ortamlarda yetiştirilen 1103 P üzerine aşılı Hasandede çeşidine SL uygulamalarının bazı fiziksel ve biyokimyasal özellikler üzerine olan etkileri incelenerek SL'nin yüksek kireçten kaynaklanan zararlanmalar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Fiziksel (zararlanma derecesi, sürgün uzunluğu, sürgün başına ortalama yaprak sayısı) ve biyokimyasal (membran zararlanması, klorofil, prolin, çözünebilir protein, lipid peroksidasyonu, toplam fenolik madde, toplam flavonol, toplam flavanol, yaprak mineral madde miktarları) analizler yapılarak söz konusu mekanizmanın bazı yönleri ile aydınlatılmasına çalışılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

SL uygulamalarının asmada kireç kaynaklı zararlanmalar üzerine olan etkilerinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirilmiş bu çalışmada, bitkisel materyal olarak 1103 P Amerikan asma anacına aşılı Hasandede çeşidi kullanılmıştır. Bitkisel materyaller Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden (Tokat) temin edilmiştir. Anaçlara ilişkin genel özellikler Çelik (2011)'den yararlanılarak aşağıda kısaca sunulmuştur.

1103 P: Kuvvetli bir anaç olup, üzerine aşılanan çeşidin olgunlaşmasını geciktirme eğilimi bulunmaktadır. %17 aktif kirece dayanmaktadır. Kurağa dayanımı yüksektir. Ülkemizde anaç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Hasandede: Beyaz, şaraplık üzüm çeşitleri içerisinde yer alan çeşidin ince kabuklu, yuvarlak ve orta irilikte taneleri bulunmaktadır. Dolgun salkımları olan çeşidin, Kırıkkale, Ankara, Çankırı ve Çorum illerinde eskiden beri yetiştiriciliği yapılan bir çeşit olduğu bilinmektedir. Yozgat ilinde de yetiştiriciliği yapılan, hem sofralık hem şıralık olarak değerlendirilen söz konusu çeşit bölgenin en eski üzüm çeşitlerinden birisi olup, Hasandede çeşidi ile kurulmuş çok yaşlı bağları görmek mümkündür.

3.2. Yöntem

1103 P anacı ve Hasandede üzüm çeşidine ait çelikler temin edilmelerinin ardından Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Aşılı Asma Fidanı Üretim Ünitesi'ne alınarak aşılama için ön hazırlık işlemlerine başlanılmıştır. Bu amaçla anaçlık ve kalemlik çelikler sırası ile 24 ve 12 saat süre ile hem mantari hastalıkların önlenmesi hem de aşı için uygun sertlikte olmaları amacıyla içerisinde fungusit bulunan suda bekletme tanklarında bekletilmişlerdir. Ardından çeliklerde bağ kanseri (*Agrobacterium vitis*) hastalığına karşı sterilizasyon için tercih edilen ve son zamanlarda asma fidanı üretiminde de yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan sıcak su uygulamasına geçilmiştir. Bu işlem çeliklerin termoterapi tanklarında, 50°C'deki suda 30 dakika süresince bekletilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Bu uygulamanın ardından 15-20°C'deki ılık suda bekletilerek çeliklerin soğumaları sağlanmıştır.



Şekil 3.1. Çeliklerin suda bekletilmesi ve termoterapi

Termoterapi sonrasında oda sıcaklığına getirilen çelikler aşı için hazır hale gelmişlerdir. Söz konusu işlem Mart ayı ikinci haftasında, omega aşı makineleri ile gerçekleştirilmiştir. Aşılardan çelikler daha sonra parafinlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Aşılama ve parafinleme

Parafinlenen aşılı çelikler, talaş ortamı içerisine katlanarak kaynaştırma odasına alınmışlardır. Yaklaşık üç hafta boyunca 25°C sıcaklık ve %80-85 neme sahip kaynaştırma odasında bekletilerek kallus oluşturmaları sağlanmıştır. Bu sürecin ardından kaynaştırma odasının dışına alınarak 3 gün standart oda koşullarında alıştırma sürecine geçilmiştir. Kaynaştırma ve takiben alıştırma ortamından sonra aşılı çelikler köklenme ve sürgün gelişiminin sağlanması amacıyla Nisan ayının üçüncü haftasında 1:1 perlit/torf içeren 2 L'lik potlara dikilmiş ve “Asma Fidanı Üretim Serası”na alınmışlardır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Katlama ve sera koşullarında gelişim

Sera ortamına yerleştirilen aşılı çelikler bu ortamda gelişmelerini sürdürmüşlerdir (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Bu süreçte hem kök hem de sürgün gelişimleri sağlanmıştır. Haziran ayının ikinci haftasında ise uygulamalara geçilmiştir. Tüm bu süreçte bitkiler Hoagland solüsyonu (Hoagland ve Arnon, 1950) ile sulanmışlardır.



Şekil 3.4. Aşılı fidanlarda sürgün gelişimi



Şekil 3.5. Bitkilerin yetiştirildiği sera ortamından genel bir görünüm

Uygulamalar yapılırken önce kireç uygulaması yapılmış olup, CaO formunda ve bitki kök bölgesine %10 ve %25 olacak şekilde tek seferde uygulanmıştır. Kontrol uygulamasında kireç ilavesi yapılmamıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Aşılı fidanlara kireç uygulamalarının yapılması

Kireç stresi üzerine SL'nin etkisini incelemek amacı ile kireç uygulamasını takiben SL uygulamaları yapılmıştır. Projede SL uygulamaları pek çok biyolojik olayda bir SL benzeri olarak yaygın şekilde kullanılan SL analogu olan GR24 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. GR24 formundaki SL (GR24, Chiralix, Hollanda) %3'lük asetonda çözünmüş ve bitkinin kök bölgesine, kireç uygulamasından sonraki 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde olmak üzere toplamda 5 kez, 0, 1, 3 ve 5 μM konsantrasyonlarında uygulanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Aşılı fidanlara SL uygulamalarının yapılması

SL uygulamasının sona erdirildiği 10. günden itibaren son uygulama saati 0. saat olarak değerlendirilerek 2., 12., 24., 48. ve 96. saatlerde bitkilerden örnek alım işlemi gerçekleştirilmiştir. Yöntem kısmında detaylı olarak sunulan analizler içerisinde klorofil içeriği, sürgün uzunluğu, sürgün başına yaprak sayısı ve zararlanma derecesi parametreleri yapraklar bitki üzerinde iken belirlenmiş; membran zararlanma derecesini belirlemeye yönelik analizler yapraklar alındıktan hemen sonra gerçekleştirilmiş, onun dışındaki diğer analizler için ise örnekler derin dondurucuya yerleştirilmiştir. Araştırma 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 10 bitki (10 pot) olacak şekilde yürütülmüştür. Deneme sonunda elde edilen veriler tesadüf blokları deneme desenine göre SPSS 20 istatistik programında

değerlendirilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir ($p \leq 0,05$).

Asmada yüksek kireç içeriğinden kaynaklanan olumsuzluklar üzerine SL uygulamalarının etkilerini incelemek amacıyla aşağıdaki fiziksel ve biyokimyasal analizler yapılmıştır. Bütün analizler üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.2.1. Fiziksel analizler

3.2.1.1. Zararlanma derecesinin belirlenmesi: Zararlanma derecesinin belirlenmesinde Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Enstitüsü (International Plant Genetic Resources Institute, IPGRI) (Campbell, 1997) tarafından kullanılan skaladaki zararlanma tepkileri temel alınarak bir gruplandırma yapılmıştır. Bu skalada herhangi bir şekilde zararlanma göstermeyen bitkilere 0 değeri verilmiş, bundan sonra aşağıda belirtildiği şekilde zararlanma durumunun artması ile birlikte 4. dereceye doğru uzanan bir sıralama yapılmıştır. Buna göre bitkilerde zararlanma derecesi;

0- Kloroz (sararma) görülmeyen bitkiler: Herhangi bir klorozun olmadığı, koyu yeşil yapraklı bitkiler

1- Hafif kloroz görülen bitkiler: Damarlar arasında açık yeşil kısımların görüldüğü bitkiler

2- Orta dereceli kloroz görülen bitkiler: Ana damarların yeşil renkli olduğu sarı yapraklı bitkiler

3- Yüksek kloroz görülen bitkiler: %10 dan daha az bir kısmında nekrozun görüldüğü sararmış yapraklı bitkiler

4- Yoğun kloroz görülen bitkiler: %10 dan daha fazla bir kısmında nekrozun görüldüğü sararmış yapraklı bitkiler şeklinde belirlenmiştir.

3.2.1.2. Sürgün uzunluğunun belirlenmesi: Her bir tekerrürdeki bitkilerin sürgün uzunluğu cetvel yardımı ile cm cinsinden ölçülmüştür (Şekil 3.8).

3.2.1.3. Sürgün başına ortalama yaprak sayısının belirlenmesi: Her bir tekerrürde sürgün başına düşen yapraklar sayılarak ortalama yaprak sayıları belirlenmiştir.



Şekil 3.8. Aşılı fidanlarda sürgün uzunluğunun belirlenmesi

3.2.2. Biyokimyasal özellikler

3.2.2.1. Membran zararlanmasının belirlenmesi: Membran zararlanması, Membran Zararlanma İndeksi (MZİ) olarak, hücreden dışarıya verilen iyonların ölçülmesi ile hesaplanmıştır (Fan ve Blake, 1994). Bu amaçla her bir tekerrüre ait sürgünlerin alttan 3. yapraklarından 17 mm çapında diskler alınmış ve 20 mL deiyonize su içerisinde 5 saat bekletildikten sonra elektriksel iletkenlik (EC, Electrical Conductivity) değerleri ölçülmüştür. Aynı diskler 100 °C'de 10 dakika bekletilmiş ve ardından çözeltinin EC değeri tekrar ölçülmüştür. Elde edilen değerden aşağıdaki formül yardımıyla yaprak hücrelerinde MZİ değeri yüzde (%) olarak belirlenmiştir.

$$MZİ = 1 - [1 - (U1/U2) / 1 - (K1/K2)] \times 100$$

Denklem 3.1. Yaprak hücrelerinde MZİ değerinin formülasyonu

U1: SL uygulamasında yaprağın otoklav öncesi EC değeri; U2: SL uygulamasında yaprağın otoklav sonrası EC değeri; K1: Kontrol grubunda yaprağın otoklav öncesi EC değeri; K2: Kontrol grubunda yaprağın otoklav sonrası EC değeri

3.2.2.2. Klorofil miktarının belirlenmesi: Klorofil analizleri Klorofilmetre (SPAD-502 Plus, Konika Minolta Sensing, Inc., Tokyo, Japan) cihazı ile belirlenmiştir.

3.2.2.3. Prolin miktarının belirlenmesi: Örneklerde prolin miktarının belirlenmesi Bates vd. (1973)'nin metoduna göre yapılmıştır. Her bir uygulama grubundan alınan örnekler, %3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Filtre edilen homojenatın üzerine asit ninhidrin ve glasiyel asetik asit ilave edilerek 100 °C'de 1 saat süre ile su banyosunda bekletilmişler ve ardından hemen buz banyosuna alınmışlardır. Soğutulmalarının ardından karışım tolüenle ekstrakte edilmiş ve üst sıvı fazdan alınan tolüenin absorbansı spektrofotometrede 520 nm dalga boyunda okunmuştur. Hesaplamalar prolin standartıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanarak µM/g cinsinden verilmiştir.

3.2.2.4. Çözünabilir protein miktarının belirlenmesi: Alınan yaprak örnekleri 2 mM Na-EDTA ve %1 PVP içeren 4 mL 50 mM K-posfat bafır çözeltisi (ph=7.0) ile homojenize edildikten sonra, homojenatlar 4°C'de 10.000 devir/dakika (d/d)'da 10 dk santrifüjlenmişlerdir. Elde edilen supernatantlar protein analizleri için kullanılmıştır (Özden vd., 2009).

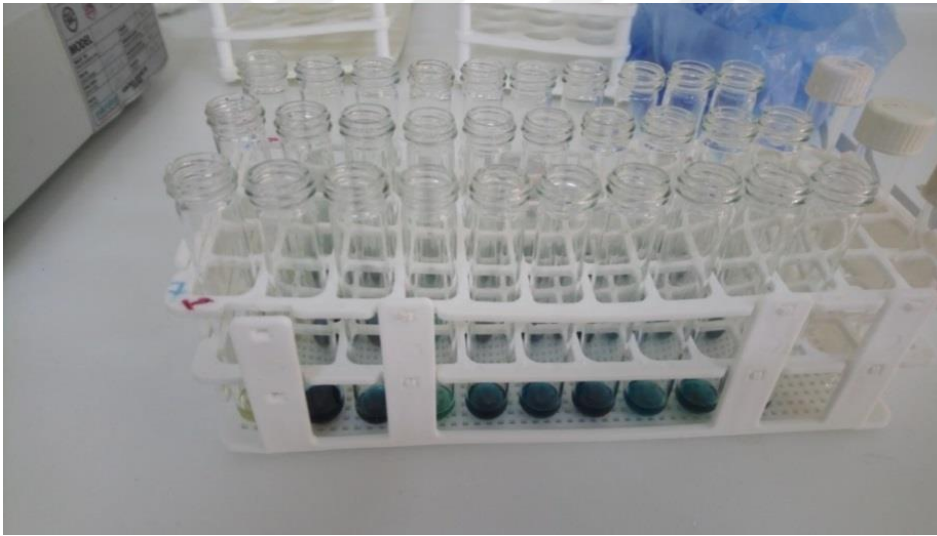
Protein içeriği; Bradford (1976) yöntemine göre standart olarak sığır serum albümini kullanılarak saptanmıştır. Coomassie Brilliant Blue %95'lik etanolde çözdürülmüş ve ardından %85'lik fosforik asit (H₃PO₄) eklenmiştir. Boya tamamen çözüldükten sonra, solüsyonun son hacmi 1000 mL olacak şekilde distile su ilave edilmiştir. Protein içeren 100 µL örnek, 5 mL Coomassie blue ile karıştırılmış ve elde edilen karışım oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda okunmuşlardır. Sonuçlar mg/g cinsinden verilmiştir.

3.2.2.5. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi: Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinin ölçülmesi ile lipid peroksidasyon derecesi belirlenmiştir (Madhava Rao ve Sresty, 2000). Bu amaçla 0.5 g yaprak örneği %10'luk trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiş ve ardından santrifüj yapılmıştır. Daha sonra süpernatant kısmı %0.5 tiyobarbitürik asit (TBA) içeren %20'lik TCA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım 100 °C'lik su banyosunda 20 dakika bekletildikten sonra hızla soğutulmuş, ardından tekrar santrifüjlenmiş ve spektrofotometrede 532 ve 600 nm'de

okunmuşlardır. MDA konsantrasyonu molar soğurma (ektinsiyon) katsayısı (ϵ : $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ile hesaplanarak nM/g cinsinden belirlenmiştir.

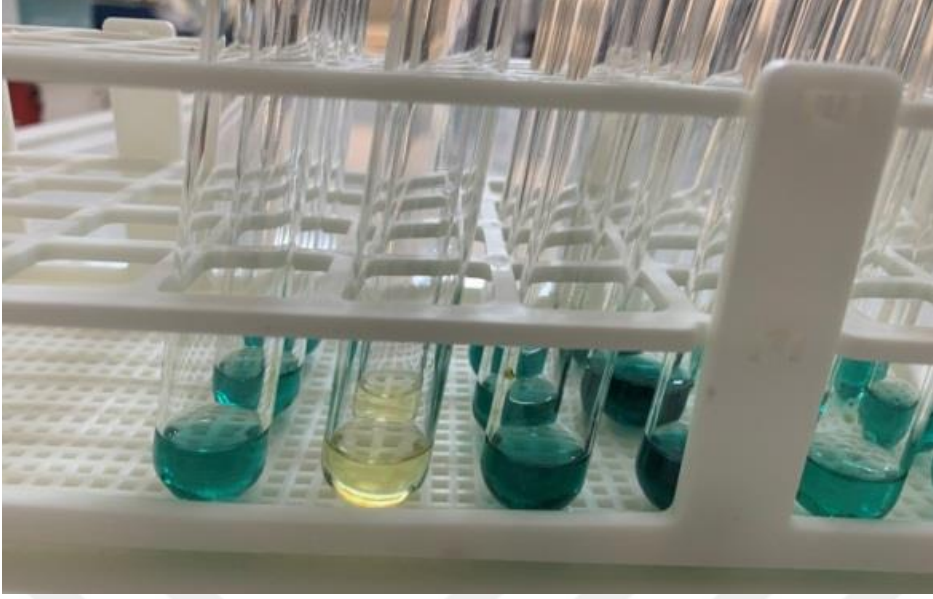
3.2.2.6. Fenolik maddelerin belirlenmesi: Fenolik madde ekstraksiyonu için 1 g olarak alınan yaprak örneği üzerine 10 mL %96'lık etil alkol ilave edilmiş ve 2 dakika süre ile homojenizatörde parçalanmıştır. Ardından 45 °C'deki su banyosunda bekletilmiş, 5 dakika süreyle 4000 rpm'de santrifüj edilmiş ve fenolik bileşikler içeren sıvı kısım alınarak 45 °C de rotary evaporatörde uçurulmuştur. Kalan kısım 1 mL metanolde çözülmüş ve daha sonra fenolik madde analizlerinde kullanılmıştır (Kiselev vd., 1999).

-Toplam fenolik maddelerin belirlenmesi: Toplam fenolik bileşik miktarları Folin Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılarak Singleton ve Rossi (1965)'ye göre yapılmıştır. Spektrofotometrede okumalar 765 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiş, standart gallik asit çözeltisinden hazırlanan kurveden yararlanılarak, toplam fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Toplam fenolik madde analizinden bir görünüm

-Toplam flavonollerin belirlenmesi: Toplam flavonoller Neu solusyonu kullanılarak Dai vd. (1995)'ne göre yapılmıştır. Toplam flavonollerin miktarı, rutin standardından hazırlanmış olan körveden yararlanılarak, rutin eşdeğeri (RE) olarak mg/g şeklinde belirlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Toplam flavanol analizlerinden bir görünüm

-*Toplam flavanollerin belirlenmesi:* Toplam flavanoller Arnous vd. (2001)'ne göre DMAC (4- (dimethyl amino cinnamaldehyde)) metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar kateşin standardından hazırlanmış olan körveden yararlanılarak, kateşin eşdeğeri (CE) olarak, mg/g cinsinden verilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Toplam flavanol analizlerinden bir görünüm

3.2.2.7. Mineral madde miktarlarının belirlenmesi: Mineral maddeler içerisinde azot miktarı Yozgat Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde bulunan Kjeldahl cihazından yararlanılarak belirlenmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Kjeldahl cihazında azot analizleri ve titrasyon

Üç adımlı bir analiz olarak değerlendirilen yöntemin esası; bitki dokularının sülfirik asitle parçalanıp bozundurulmasıyla azotun amonyum sülfata dönüştürülmesi, amonyum sülfattan amonyak'ın sodyum hidroksit ile distile edilerek serbest hale getirilmesi ve son olarak borik asit içerisinde alınan distilatın, ayarlı titrant ile titrasyonundan oluşmaktadır (Kaçar, 1972). Söz konusu analizler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar yüzde (%) olarak verilmiştir.

Mineral maddelerden azot dışındaki diğer makro (fosfor, potasyum, kalsiyum ve magnezyum) ve mikro (demir, çinko, bor ve mangan) elementlerin analizleri ise İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ICP-OES) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Örnekleri söz konusu analizle hazır hale getirmek için öncelikle darası belirlenen krozelere içerisinde yaprak örnekleri konulmuş, ağırlıkları tartılmış (Şekil 3.13) ve kül fırınına alınarak burada yakma işlemine tabii tutulmuşlardır (Şekil 3.14). Kül fırınından çıkarılan örneklerin tekrar ağırlıkları alınıp kaydedilerek ICP-OES cihazında mineral madde miktarları belirlenmiştir. Analizler Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.



Şekil 3.13. Mineral madde analiz hazırlıklarından bir görünüm



Şekil 3.14. Örneklerin kül fırınına yerleştirilmesi ve yakılması

Mineral madde içeriklerinin belirlenmesinde kullanılan ICP-OES cihazının koşulları aşağıdaki şekildedir (Çizelge 3.1). Kalibrasyon grafikleri derişime karşı pik alanı kullanılarak çizilmiştir. Sonuçlar ppm cinsinden sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Kullanılan ICP-OES cihazının çalışma koşulları

Cihaz	Perkin Elmer Optima-8000
Plazma gücü	1450 W
Enjektör	Alumina, 2 mm iç çaplı
Numune borusu	Standart 0.76 mm iç çaplı
Atık borusu	Standart 1.14 mm iç çaplı
Kuartz tork	Tekli
Numune kapilleri	PTFE, 1 mm iç çaplı
Örnek kapları	Polipropilen
Gecikme süresi	15 sn
Plazma görünümü	Aksiyal (yatay)
Kullanılan gaz	Argon ve azot
Kesici gaz	Hava

Araştırmada ICP-OES ile miktarları belirlenen elementlerin çalışılan dalga boyları ise Çizelge 3.2. de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. ICP-OES’de elementlerin çalışılan dalga boyları

Mineral madde	Dalga boyu (nm)
Fosfor	214.9
Potasyum	766.4
Kalsiyum	315.8
Magnezyum	279.0
Demir	238.2
Çinko	213.8
Bor	249.6
Mangan	257.6

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kireçli ortamlarda SL uygulamasının 1103 P anacı üzerine aşılı Hasandede üzüm çeşidinde fiziksel ve biyokimyasal özellikler üzerine etkilerinin incelendiği bu tez çalışmasında elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

SL uygulamalarının bazı fiziksel özellikler üzerine etkilerinin sunulduğu Çizelge 4.1. incelendiğinde tüm fiziksel parametreler üzerinde kireç dozları, SL uygulamaları ve örnek alım zamanları arasında istatistiksel olarak farklılıkların bulunduğu görülmektedir ($p \leq 0,05$).

Bitkinin içinde bulunduğu stres ortamının dışı vurumunda en net ve gözlemlenebilir tepki yapraklardaki sararma, nekroz ve kurumalar olup, skala olarak 0-4 arasında değerler verilerek ifade edilen bu özellik bakımından kireç dozları, SL uygulamaları ve örnek alım zamanları arasında önemli farklılıklar tespit edilmiş olmakla birlikte, rakamsal verilerin büyük çoğunluğunun aynı sınıf içerisinde bulunması da dikkat çekicidir (Çizelge 4.1). Rakamsal olarak en yüksek zararlanma (2,33) bir diğer ifade ile bu özellik bakımından en düşük tolerans, en yüksek kireç dozunda (%25), SL uygulanmayan ve 48 saat sonra alınan bitkilerde gözlemlenmiştir. Bir diğer ifade ile %25'lik kireç ortamında SL uygulanmayan ve 48 saat sonra örnek alınan bitkilerin büyük çoğunluğunun yapraklarının orta ile yüksek derece arasında bir kloroz sergiledikleri anlaşılmaktadır. Özellikle kirece hassas genotiplerde daha fazla meydana geldiği bilinen bu tip kloroz durumları devamında ciddi biyokütle kayıplarını da beraberinde getirmektedir. Bergmann (1992)'da yapmış olduğu araştırmasında yüksek kireç içeren ortamlarda asma anaçlarında kireç oranlarındaki artışa bağlı olarak yapraklarda sararmalar gözlemlendiğini ve bitkide kurumaların hızlandığını ifade etmiştir. Kloroz sonucu bitkilerde meydana gelen kurumalar ile oluşan kayıplar, toprak bikarbonat seviyesinin yüksek olmasından kaynaklı kök büyümesinin engellenmesi ve yaprak klorofil içeriğinin azalmasına paralel yavaşlayan fotosentez hızı ile ilişkilendirilmektedir (Bavaresco vd., 2003).

Çizelge 4.1. SL uygulamasının bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri

CaO (%)	SL (µM)	Zaman (saat)	Zararlanma derecesi (skala)	Sürgün uzunluğu (cm)	SBOYS (adet)
0	0	2	0.67 bc	29.16 a-e	5.33 ab
		12	0.33 bc	30.46 a-d	4.00 a-c
		24	0.33 bc	34.95 a	4.00 a-c
		48	0.33 bc	30.73 a-d	3.67 a-c
		96	0.33 bc	27.38 a-f	4.33 a-c
	1	2	1.00 bc	26.08 a-f	4.00 a-c
		12	0.33 bc	27.28 a-f	4.67 a-c
		24	0.67 bc	24.90 b-f	3.67 a-c
		48	0.33 bc	23.56 d-f	4.00 a-c
		96	0.33 bc	34.20 ab	4.67 a-c
	3	2	0.33 bc	22.40 d-f	4.00 a-c
		12	0.67 bc	27.72 a-f	5.00 a-c
		24	0.67 bc	33.52 a-c	3.67 a-c
		48	0.67 bc	28.72 a-f	4.33 a-c
		96	1.33 a-c	25.56 b-f	4.00 a-c
	5	2	1.00 bc	27.56 a-f	3.67 a-c
		12	0.33 bc	24.40 c-f	5.33 ab
		24	0.67 bc	28.01 a-f	5.67 a
		48	0.33 bc	28.04 a-f	3.33 a-c
		96	1.00 bc	24.34 c-f	4.00 a-c
10	0	2	1.67 ab	28.36 a-f	5.00 a-c
		12	0.67 bc	35.01 a	4.33 a-c
		24	1.33 a-c	30.20 a-d	3.33 a-c
		48	0.67 bc	25.60 b-f	4.67 a-c
		96	0.33 bc	28.40 a-f	5.00 a-c
	1	2	0.67 bc	28.96 a-f	4.33 a-c
		12	0.00 c	27.20 a-f	3.00 bc
		24	1.00 bc	23.20 d-f	4.33 a-c
		48	0.33 bc	22.80 d-f	4.33 a-c
		96	1.00 bc	25.80 a-f	4.67 a-c
	3	2	0.67 bc	26.00 a-f	5.00 a-c
		12	1.00 bc	25.76 a-f	3.00 bc
		24	0.67 bc	24.16 c-f	5.33 ab
		48	0.67 bc	24.56 c-f	5.00 a-c
		96	1.00 bc	25.36 b-f	3.00 bc
	5	2	1.00 bc	27.20 a-f	3.33 a-c
		12	0.00 c	26.64 a-f	4.00 a-c
		24	1.00 bc	27.24 a-f	5.33 ab
		48	0.33 bc	23.60 d-f	3.00 bc
		96	1.33 a-c	27.20 a-f	4.33 a-c
25	0	2	1.67 ab	23.80 d-f	3.67 a-c
		12	1.00 bc	24.38 c-f	4.00 a-c
		24	1.33 a-c	24.98 b-f	3.00 bc
		48	2.33 a	24.80 c-f	3.67 a-c
		96	1.33 a-c	19.60 f	4.00 a-c
	1	2	1.00 bc	25.04 b-f	4.00 a-c
		12	0.67 bc	24.24 c-f	3.67 a-c
		24	1.00 bc	20.60 ef	3.00 bc
		48	1.00 bc	23.08 d-f	4.00 a-c
		96	0.67 bc	22.64 d-f	2.67 c
	3	2	0.33 bc	24.32 c-f	5.00 a-c
		12	1.33 a-c	24.98 b-f	4.00 a-c
		24	1.00 bc	24.64 c-f	5.00 a-c
		48	0.67 bc	26.38 a-f	4.67 a-c
		96	1.00 bc	25.40 b-f	3.67 a-c
	5	2	0.33 bc	28.32 a-f	3.67 a-c
		12	1.33 a-c	24.42 c-f	4.67 a-c
		24	1.00 bc	27.52 a-f	5.00 a-c
		48	0.33 bc	29.10 ae	4.33 a-c
		96	0.67 bc	25.58 b-f	3.67 a-c

SBOYS: Sürgün Başına Ortalama Yaprak Sayısı,

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır (p<0.05).

Araştırmamızda zararlanma bakımından elde edilen veriler içerisinde, herhangi bir şekilde zararlanmanın gözlenmediği, koyu yeşil renkte yapraklara sahip, 0.00 skala zararlanma derecesinde bitkilerin bulunduğu da görülmektedir. Bu bitkilerin tümünün SL uygulanan bitkiler içerisinde olması dikkat çekici olup, aynı zamanda %10 kireç ortamında oldukları da görülmektedir. Sırasıyla 1 μ M ve 5 μ M SL uygulanarak 12. saatte alınan söz konusu bu bitkilerde herhangi bir zararlanma tespit edilmemiştir.

Fiziksel olarak incelenen bir diğer özellik sürgünlerin uzunluklarıdır. Sonuçların yorumlanması adına yapılan istatistiksel analiz sonucunda zararlanma derecesinde olduğu gibi bu özellikte de çok sayıda rakamsal değerin aynı sınıf içerisinde yer aldığı görülmektedir. Kirecin en yüksek dozu olan %25 kireç içeriğine sahip, SL uygulanmayan ve 96. saatte incelemelerinin sonlandırıldığı bitkilerde en az sürgün uzaması (19.60 cm) ölçülmüştür. Yüksek kirecin bitki gelişimini engellediği bilinmektedir. Bu konuda in vitro'da yetiştirilen asma anaçlarında yapılan bir araştırmada haziran ayının ilk haftasında asma anaçlarının altıncı boğumlarından alınan tek gözlü yeşil çelikler farklı tip ve dozlarda kireç içeren (%0, 10, 20, 30, 40, 50, CaCl_2 ve CaO) Knudson-C temel besin ortamına yerleştirilmişlerdir. 24 °C sıcaklıkta, 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullarında iki ay süreyle gelişme durumları incelenmiştir. Araştırma sonucunda asma bitkilerinin besin ortamına ilave edilen kireçten olumsuz yönde etkilendikleri, ortamdaki kireç miktarının artmasıyla sürgün uzunluğu değerlerinin düştüğü ifade edilmiştir (Bergmann, 1992). SL'lerin kireçli ortamlarda sürgün gelişimi üzerine etkisinin incelendiği bir araştırmaya rastlanılmamış olmakla birlikte stres üzerindeki genel etkilerinden yola çıkarak bitki gelişimini teşvik etme özelliğinin bulunduğu bilinmektedir. Tuz stresi altındaki çeltik bitkilerinde SL uygulamalarının fotosentetik aktivite ve fizyolojik karakterler üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmada da Jinongda 667 çeltik fidelerine 200 mM NaCl uygulanmıştır. Tuz stresinin bitki gelişimini, bitki boyunu ve kök uzunluğunu azalttığı, GR24 uygulanan grupta ise özellikle artan dozlarda bitki boyu ve kök uzunluğu değerlerinin yükseldiği belirtilmiştir (Ling vd., 2020).

Sürgün beslenmesi ve gelişmesinin de bir ölçütü olan yeni yaprak oluşturma kapasiteleri diğer bir ifade ile sürgün başına ortalama yaprak sayıları bakımından ise sürgün uzunluğunda olduğu gibi en yüksek kireç dozunda, en son örnek alım zamanında ve SL'nin en düşük dozu olan 1 (μ M) dozunda en düşük değerler (2.67 adet) ölçülmüştür. Bu değerlerin kontrol grubundaki (SL uygulanmayan) bitkilerden dahi daha düşük olması her ne

kadar dikkati çekse de kireç içermeyen ancak en yüksek dozda SL'nin uygulandığı ve 24. saatte örnekleme yapıldığı bitkilerde rakamsal olarak en fazla sayıda yaprak oluştuğu (5.67 adet) da görülmektedir. Bu bulgu, SL'nin stres içermeyen ortamlarda da etkisini göstermiş olması bakımından önemlidir. Burada rakamsal olarak elde edilen yaprak sayısının, en az yaprak oluşturan bitki grubunda elde edilen yaprak sayılarından ortalama 2 kat daha fazla olduğu da çizelge'nin incelenmesinden anlaşılmaktadır. Bu alanda yapılmış araştırmada da in vitro da yetiştirilen asma anaçlarında artan kireç dozları karşısında yaprak sayısı değerlerinin azaldığı ifade edilmiştir. Söz konusu araştırmanın sonucunda incelenen asma anaçlarından 41B anacının yüksek oranda kirece dayanabildiği, 420A ve Rupestris du Lot anaçlarının ancak orta düzeyde bir dayanıklılık gösterebildikleri, Riparia Gloire anacının ise kirece dayanımının en düşük olduğu belirtilmiştir (Bergmann, 1992).

Araştırmada fiziksel özellikler bakımından elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde her ne kadar aralarında istatistiksel farklılık bulunsun da verilerin büyük çoğunluğunun aynı sınıf içerisinde yer alması dikkati çekmektedir. Bu durumun özellikle SL dozlarının daha geniş bir yelpazede uygulanmamış olmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Tez çalışmasının planlandığı aşamada referans alınabilecek sınırlı sayıda çalışmanın olması, aynı zamanda belirli zamanlarda örnek alım yapılması ve örnek alımının ardından çok kısa sürede yapılması gereken fazla sayıda analizin bulunması doz yelpazesinin kısıtlanmasına neden olmuştur. Çok daha geniş alt ve üst sınırlardaki dozlarla çalışılmış olması durumunda farklılıkların istatistiksel olarak da yansıtacağı düşünülmektedir. Ancak rakamsal olarak elde edilen verilerin de SL'nin fiziksel özellikler üzerine olan potansiyelini ortaya koymak bakımından etkili olduğu düşünülmektedir.

Kireçli ortamlarda SL uygulamasının ve örnek alım zamanlarının bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri bakımından elde edilen bulgular ise Çizelge 4.2.'de sunulmuştur. İncelenen tüm biyokimyasal özellikler üzerine kireç dozları, SL uygulamaları ve örnek alım zamanları arasında istatistiksel olarak farklılıkların bulunduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$).

Bitkinin bulunduğu ortam koşullarının stres durumunu, hücrelerin bütünlüğünü ve dayanıklılığını ölçerek değerlendirmek mümkündür. Stres fizyolojisi alanındaki çalışmalarda bu nedenle en yaygın incelenen parametrelerden birisi hücre membranlarındaki zararlanmasının ölçülmesidir. Bitki hücrelerinden dışarıya verilen elektrolitin ölçülmesi prensibine dayanan bu metotta hücrenin sağlamlığı sızıntı miktarının

düşük olması ile bağlantılandırılmaktadır. Yüksek sızıntı ise membran bütünlüğünün zarar görmeye başladığının bir işareti olmaktadır. Araştırmamızda bu özellik bakımından rakamsal olarak en düşük değerin %10 kireç içeren ve aynı zamanda en yüksek SL dozu olan 5 μ M SL uygulanan bitkilerin ilk örnek alım döneminde gerçekleştiği (%8.23) görülmektedir. Yine rakamsal olarak, en yüksek membran zararlanması gösteren hücrelerin ise (%31.41) en yüksek kireç dozunda yetiştirilen ancak herhangi bir SL uygulaması yapılmamış gruptaki bitki yapraklarında (48. saatte örnek alınan bitkiler) olması SL'nin etkisini göstermiş olması bakımından önemlidir. En düşük zararlanmaya oranla SL uygulanmamış bu ortamlarda yaklaşık 3.8 kat daha fazla bir zararlanmanın meydana gelmiş olması da dikkat çekicidir (Çizelge 4.2.). Bitkilerde stres ortamında ROT'ların membran zararlanmasına neden olduğu yapılan pek çok araştırma ile de desteklenmiştir. Araştırmamızda membran zararlanmasının SL uygulanmayan bitkilerde yüksek olması stresin hafifletildiğini göstermesi bakımından önemlidir (Shalata and Tal, 1998; Dinis vd., 2017). Bu tez çalışmasının yürütülmeye başlandığı dönemde yapılan kaynak araştırmasında da asmada kuraklık stresinde SL uygulamalarına yönelik bir referansa ulaşılmış olup, dışsal SL (GR24) uygulaması yapılan kuraklık stresi altındaki asma bitkilerinde membran zararlanması yani iyon sızıntısı değerlerinin daha düşük seviyelerde gerçekleştiği ifade edilmiştir (Min vd., 2019).

Çizelge 4.2. SL uygulamasının bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri

CaO (%)	SL (μM)	Zaman (saat)	MZI (%)	Klorofil (SPAD)	Prolin (μM/g)	Çözünabilir protein (mg/g)	Lipid peroksidasyonu (nM/g)
0	0	2	12.55 j-p	28.06 a-f	0.02 pr	2.51 b-g	0.47 g-r
		12	14.82 h-p	29.01 a-d	0.07 d-n	2.31 d-l	0.38 m-r
		24	16.28 f-o	27.43 a-g	0.06 f-r	2.37 d-l	0.34 o-r
		48	14.38 i-p	23.97 f-n	0.08 c-k	2.30 d-l	0.35 m-r
		96	16.96 e-n	22.73 h-n	0.07 d-n	2.55 b-f	0.54 f-n
	1	2	13.80 i-p	20.88 mn	0.09 b-i	2.38 d-k	0.49 g-p
		12	14.67 h-p	25.93 d-k	0.08 c-k	2.23 e-m	0.46 g-r
		24	12.97 j-p	26.01 d-k	0.03 n-r	2.33 d-l	0.55 f-m
		48	12.84 j-p	24.67 e-n	0.07 d-n	2.34 d-l	0.40 l-r
		96	9.45 o-p	22.89 h-n	0.04 i-r	2.29 d-m	0.45 g-r
	3	2	13.91 i-p	28.08 a-f	0.04 i-r	2.41 c-j	0.30 pr
		12	13.26 i-p	27.33 a-g	0.04 i-r	2.29 d-m	0.32 o-r
		24	13.82 i-p	23.05 h-n	0.04 i-r	2.06 k-n	0.39 m-r
		48	11.33 n-p	26.07 c-k	0.05 h-r	2.07 k-n	0.35 m-r
		96	10.70 n-p	23.42 g-n	0.04 i-r	2.29 d-m	0.42 h-r
	5	2	11.24 n-p	28.37 a-e	0.04 i-r	2.59 a-e	0.51 g-o
		12	11.63 m-p	27.23 a-g	0.03 n-r	2.32 d-l	0.48 g-r
		24	14.17 i-p	26.91 a-h	0.05 h-r	2.46 c-h	0.43 h-r
		48	11.62 m-p	22.76 h-n	0.06 f-r	2.62 a-d	0.35 m-r
		96	8.85 p	24.47 e-n	0.04 i-r	2.45 c-h	0.42 i-r
10	0	2	13.70 i-p	30.63 ab	0.03 n-r	2.36 d-l	0.72 f
		12	10.73 n-p	28.07 a-f	0.04 i-r	2.30 d-l	0.42 i-r
		24	12.58 j-p	27.85 a-f	0.04 i-r	2.36 d-l	0.59 f-k
		48	11.34 n-p	25.23 d-l	0.02 pr	2.29 d-m	0.54 f-n
		96	10.93 n-p	22.23 j-n	0.05 h-r	1.12 rs	0.55 f-m
	1	2	12.09 l-p	30.87 a	0.02 pr	2.08 j-n	0.45 g-r
		12	11.01 n-p	28.99 a-d	0.03 n-r	2.43 c-i	0.35 m-r
		24	12.14 k-p	26.73 b-i	0.04 i-r	1.94 no	0.40 l-r
		48	12.95 j-p	27.92 a-f	0.02 h-r	2.62 a-d	0.32 o-r
		96	13.46 i-p	21.53 k-n	0.03 n-r	2.72 a-c	0.28 r
	3	2	12.07 l-p	30.16 a-c	0.02 pr	2.30 d-l	0.31 o-r
		12	12.21 k-p	26.12 c-k	0.04 i-r	2.53 b-g	0.48 g-p
		24	10.03 n-p	25.46 d-k	0.03 n-r	2.29 d-m	0.46 g-r
		48	10.49 n-p	24.03 f-n	0.02 pr	2.32 d-l	0.58 f-k
		96	10.40 n-p	25.00 d-m	0.04 i-r	2.29 d-m	0.47 g-r
	5	2	8.23 p	28.08 a-f	0.01 r	2.89 a	0.50 g-o
		12	10.23 n-p	28.62 a-e	0.03 n-r	2.77 ab	0.49 g-p
		24	11.52 m-p	30.38 ab	0.02 pr	1.74 op	0.41 k-r
		48	10.45 n-p	26.12 c-j	0.04 i-r	2.37 d-l	0.48 g-p
		96	9.68 o-p	27.83 a-f	0.05 h-r	1.96 m-o	0.49 g-p
25	0	2	23.32 b-e	21.53 k-n	0.09 b-i	1.32 r	1.15 bc
		12	22.91 b-f	21.05 l-n	0.09 b-i	1.10 rs	1.40 a
		24	25.27 bc	21.57 k-n	0.13 a-c	1.07 rs	1.40 a
		48	31.41 a	22.71 i-n	0.10 b-f	1.04 rs	1.10 b-d
		96	29.10 ab	20.64 n	0.14 ab	0.95 s	1.25 ab
	1	2	19.05 c-k	21.57 k-n	0.07 d-n	2.08 j-n	1.07 c-e
		12	19.41 c-j	21.93 j-n	0.08 c-k	2.16 h-n	0.94 de
		24	21.72 c-g	22.40 i-n	0.11 a-e	2.04 l-n	0.90 e
		48	23.85 b-d	21.19 l-n	0.07 d-n	1.30 r	0.96 de
		96	21.30 c-h	21.68 k-n	0.09 b-i	1.62 p	1.18 bc
	3	2	19.94 c-i	24.80 e-n	0.11 a-e	2.12 i-n	0.72 f
		12	24.55 b-d	24.52 e-n	0.15 a	2.20 f-n	0.60 f-i
		24	21.26 c-h	24.85 d-m	0.12 a-d	2.13 h-n	0.64 fg
		48	21.32 c-h	25.70 d-k	0.11 a-e	2.17 g-n	0.72 f
		96	23.58 b-e	22.87 h-n	0.12 a-d	2.07 k-n	0.56 f-l
	5	2	16.16 g-o	25.22 d-l	0.13 a-c	2.20 f-n	0.58 f-k
		12	18.46 d-m	20.90 mn	0.12 a-c	2.17 g-n	0.62 f-i
		24	15.25 g-p	23.88 f-n	0.14 ab	2.07 k-n	0.62 f-i
		48	18.60 c-l	24.95 d-m	0.10 b-f	2.10 i-n	0.47 g-r
		96	12.43 k-p	23.42 g-n	0.12 a-d	2.12 i-n	0.62 f-i

MZI: Membran Zararlanma İndeksi,

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır (p<0.05).

Bilindiği üzere tüm canlıların ihtiyaç duyduğu ve yaşamaları için zorunlu olan besin maddeleri ve oksijenin üretilmesini, fotosentezi sağlayan, bitkilere yeşil rengi veren klorofil pigmentidir (Zeren vd., 2017). Bitki türüne göre değişmekle birlikte tüm bitkilerde hastalık ve zararlılardan, besin maddesi noksanlıklarına kadar çoğu biyotik ve abiyotik stres ortamında yapraklarındaki klorofil içeriklerinin azaldığı bilinmektedir. Bu belirti aslında stresin oluşturduğu en net gözlemlenebilen zararıdır. Stres ortamında artan ROT'lar pek çok alanda olduğu gibi klorofilde de zarar meydana getirmekte ve parçalanmasını tetiklemektedirler. Kireçten kaynaklanan stres ortamında ortaya çıkan yaprak damar aralarında sararma ve biyoküttele azalma ise kireç klorozunun tipik belirtilerindendir (Bavaresco ve Poni, 2003). Bu çalışmada SL uygulamasının, kireçli ortamlardaki asma bitkilerinin yapraklarındaki klorofil içeriklerine etkisi incelenmiş olup, içerikleri klorofilmetre ile SPAD olarak belirlenmiştir. Rakamsal olarak en düşük değerin (20.64) en yüksek kireç dozunda ve SL uygulanmayan bitkilerin 96. saatte ölçülen yapraklarında tespit edilmiş olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Yine istatistik olarak diğer pek çok uygulama grubundaki değerler ile aynı sınıfta yer almakla birlikte rakamsal olarak en yüksek klorofil içeriği (30.87), %10 kireç içeren ve 1 μ M SL uygulanan 2. saat yapraklarında tespit edilmiştir. Benzer alanda yapılan bir çalışmada asmada kurak koşullarda SL uygulamasının kuraklığın neden olduğu klorofil azalması üzerine etkisi incelenmiştir (Min vd., 2019). Söz konusu çalışmada klorofil içerikleri sunulan tez çalışmasından farklı olarak SPAD cinsinden değil, spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir. Aseton:etanol (1:1) karışımında yaprakların tamamen beyaz renge dönüşmesi ve elde edilen süpernatant kısmın spektrofotometrede farklı dalga boylarında okunması ile belirlenmiş olan klorofil değerlerinin öncelikle kurak koşullarda kurak olmayan koşullara göre ciddi bir şekilde düştüğü ifade edilmiştir. Kuraklık süresi uzadıkça klorofil azalışlarının devam ettiğinin belirtildiği çalışmada bu azalışın SL uygulanmayan gruplarda uygulananlara kıyasla daha belirgin olduğu vurgulanmıştır. Örnek alım zamanlarından birisi olan 2. saat örneklerinden, 72. saat örneklerine doğru toplam klorofil değerlerinin SL uygulanmayan kurak ortamlarda %47.94 gibi ciddi bir oranda azalırken; bu azalışın 1, 3 ve 5 μ M SL uygulanan kurak ortamlarda sırasıyla %41.43, %30.98 ve %18.79 seviyelerinde gerçekleştiği vurgulanmıştır. Dolayısıyla en düşük oranda azalışın en yüksek SL dozunda olduğu bildirilmiştir. Araştırma sonunda da GR24'ün kuraklıktan kaynaklanan klorofil azalmasını büyük ölçüde hafiflettiğine işaret edilmiştir (Min vd., 2019). Yine son dönemde yapılmış, çeltik bitkilerinde tuz stresinde SL uygulamalarının

etkilerinin belirlenmesine yönelik bir araştırmada da Ling vd. (2020), SPAD olarak belirledikleri klorofil miktarlarının tuzluluk stresi altındaki bitkilerde kontrole kıyasla ciddi anlamda düşük olduğunu ifade etmişler, SL uygulanan tüm gruplarda ise klorofil içeriklerinin daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Buradan bitkinin fotosentez kapasitesindeki kilit nokta olan klorofilin zarar görmesinin önlenmesinde de SL'lerin rolü ortaya konmuştur.

Farklı stres kaynaklarının bitkiler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda en sık incelenen parametrelerden birisi de prolin miktarlarındaki değişimlerdir. Prolin bitkilerde bir osmoprotektan yani osmotik koruyucu olarak strese tolerans kazanmak amacıyla biriktirilmektedir. Prolinin artması bir taraftan ortamda bir stres durumunun yaşandığını, diğer taraftan bitkinin bu strese tolerans bakımından gösterdiği performansı işaret etmektedir. Çok çeşitli biyotik ve abiyotik streslere yanıt olarak pek çok bitkide serbest prolin birikimi gözlenmektedir (Logemann vd., 2000; Lattanzio vd., 2009; Verslues ve Sharma, 2010). SL uygulamalarının bazı biyokimyasal özellikler üzerinde göstermiş oldukları etkilerin sunulduğu çizelge incelendiğinde (Çizelge 4.2) SL ve örnek alım zamanı bakımından bir inceleme yapılmaksızın istatistiksel olarak öncelikle yalnızca %25 kireç içeren ortamda yetiştirilen bitkilerde prolin içeriğinin yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Söz konusu kireç ortamı kendi içerisinde incelendiğinde ise; 24. ve 96. saatte örnek alınan SL uygulanmamış bitkilerde; 24 saatte örnek alınan ve 1 μ M SL uygulanan bitkilerde; dikkat çekici olarak 3 μ M SL uygulanan bitkilerin tüm örnek alım dönemlerinde ve yine 5 μ M SL uygulanan bitkilerin 48. saati hariç diğer tüm örnek alım dönemlerinde prolin içeriklerinin istatistiksel olarak diğer gruptaki bitkilerden yüksek olduğu ortaya çıkmıştır.

Stres altında ROT'ların proteinler üzerinde de zararlanma meydana getirdiği ve bitkinin tolerans gösterdiği ölçüde zararlanmanın azaltılabildiği bilinmektedir. Çözünebilir protein bakımından istatistiksel olarak %25 kireç ortamındaki tüm bitkilerin düşük bir içeriğe sahip oldukları görülmektedir. Örnek alım zamanına göre değişmekle birlikte kireç içermeyen ortamda, 5 μ M SL uygulanan bitkilerde ve %10 kireç içeren ortamdaki 1 μ M ve 5 μ M SL uygulanan bitkilerde protein içeriklerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Hücre zarlarındaki doymamış yağların oksidatif parçalanması olarak tanımlanan lipid peroksidasyonu bitkilerin strese karşı duyarlılığını ve oksidatif hasarın şiddetini göstermektedir. Stres durumunda lipid bileşenlerinde hasar meydana gelmekte ve oluşan

hasar, peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit miktarı ölçülerek tespit edilmektedir. Stres durumunda bitki organellerindeki lipid komponentlerinde de hasarın olduğu bilinmektedir. Burada %25 kireç dozunda, SL uygulaması yapılmaksızın yetiştirilen ve 2. ve 48. saat dışında örnek alınan tüm bitkilerde oksidasyonun en yüksek seviyede bulunması SL'nin etkinliğini göstermektedir. Özellikle 12. ve 24. saatlerde alınan bitki örneklerindeki zararlanmanın (1.40 nM/g), bu bakımdan en az zararlanma gösteren SL uygulanmış bitkilere (0.28 nM/g) oranla 5 kat fazla gerçekleşmiş olması dikkate değerdir. Demirbaş vd. (2015) de GR24 ön uygulaması yapılarak tuz stresine maruz bırakılan soya fidelerinde MDA seviyelerindeki değişimlerini inceledikleri araştırmalarının sonunda 10 µM GR24 ön uygulamasının tuz stresinin etkilerini hafifleterek toleransı artırdığını belirtmişlerdir.

Bitkilerde biyotik ve abiyotik stres koşullarındaki en önemli savunma mekanizmalarından birisi de birer sekonder metabolit olan fenolik bileşiklerin yüksek miktarlarda sentezlenmesidir. Bitki fenolikleri, bitkilerin hayatta kalması ve çevresel problemlere uyum sağlaması için çok çeşitli fizyolojik işlevler üstlenmektedir (Landolt vd., 1997; Andersen, 2003; Lattanzio vd., 2009). Dolayısıyla bitki dokularında fenolik bileşiklerin birikmesi, bitkinin strese olduğunu ya da bir diğer ifade ile stresle başa çıkmaya çalıştığının bir göstergesidir. Bu birikim, fenilalanin amonyak liyaz (PAL), kalkon sentaz (CHS) ve diğer enzimlerin artan aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Burada fosfoenolpiruvat (PEP)-karboksilaz aktivitesi de artmakta ve bu da sakkaroz üretiminden, bir diğer ifade ile fotosentez yani primer metabolizmadan, savunmayı destekleyen işlemlere geçişi ve onarım mekanizmasını dolayısıyla sekonder metabolizmaya geçişi harekete geçirmektedir. Bu tez çalışmasında da yapraklardaki fenolik bileşik içerikleri toplam fenolik bileşikler, toplam flavonoller ve toplam flavanoller olarak belirlenmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.3'de sunulmuştur. Kireç dozları, SL uygulamaları ve örnek alım zamanları arasında incelenen fenolik bileşikler bakımından önemli farklılıkların bulunduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$).

Toplam fenolik bileşik, toplam flavonol ve toplam flavanoller bakımından kireç kullanılmayan tüm bitkilerde bu içeriklerin istatistiksel olarak düşük seviyelerde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3). Yalnızca toplam flavonoller %10 kireç içeren ortamlarda ve her ikisinde de 48. saat örneklerinde olmak üzere 3 ve 5 µM SL uygulanan bitkilerde (sırasıyla 2.40 ve 2.28 mg/g) yüksek seviyelerde bulunmuştur.

Çizelge 4.3. SL uygulamasının fenolik bileşikler üzerine etkileri

CaO (%)	SL (µM)	Zaman (saat)	TFM (mg/g GAE)	Toplam flavonol (mg/g RE)	Toplam flavanol (mg/g CE)
0	0	2	3.11 m-o	1.19 h-s	0.72 f-j
		12	2.68 no	1.03 n-s	0.63 g-l
		24	3.86 k-n	1.24 f-s	0.84 d-g
		48	4.73 j-m	0.90 rs	0.72 f-j
		96	3.98 k-n	1.50 d-n	0.48 kl
	1	2	5.05 i-l	1.15 i-s	0.68 g-k
		12	3.09 m-o	1.35 e-r	0.65 g-l
		24	4.17 k-n	1.38 e-p	0.72 f-j
		48	2.60 no	1.39 e-p	0.68 g-k
		96	2.09 o	0.88 s	0.67 g-k
	3	2	3.08 m-o	1.00 o-s	0.63 g-l
		12	3.47 l-o	1.19 h-s	0.57 i-l
		24	3.29 m-o	1.17 h-s	0.73 f-i
		48	2.97 no	1.24 f-s	0.57 i-l
		96	4.18 k-n	1.12 j-s	0.58 i-l
	5	2	3.85 k-n	0.82 s	0.55 i-l
		12	3.43 l-o	1.08 l-s	0.60 h-l
		24	2.81 no	1.06 m-s	0.70 f-k
		48	3.98 k-n	1.11 k-s	0.53 i-l
		96	3.99 k-n	1.75 de	0.62 g-l
10	0	2	3.97 k-n	1.70 d-f	0.57 i-l
		12	3.56 l-o	0.94 p-s	0.55 i-l
		24	3.85 k-n	1.16 i-s	0.64 g-l
		48	4.13 k-n	1.39 e-p	0.63 g-l
		96	4.04 k-n	1.53 d-l	0.63 g-l
	1	2	2.97 no	1.56 d-k	0.58 i-l
		12	4.07 k-n	1.64 d-h	0.82 e-h
		24	3.77 k-o	1.39 e-p	0.70 f-j
		48	3.15 m-o	1.19 h-s	0.50 j-l
		96	3.87 k-n	1.39 e-p	0.72 f-j
	3	2	7.33 e-g	1.67 d-g	0.63 g-l
		12	7.63 d-g	1.61 d-i	0.83 d-g
		24	6.68 f-i	1.67 d-g	0.64 g-l
		48	7.65 d-g	2.40 ab	0.63 g-l
		96	6.78 f-h	1.67 d-g	0.63 g-l
	5	2	7.51 d-g	1.23 g-s	0.62 g-l
		12	6.17 g-j	2.25 bc	0.83 d-g
		24	6.26 g-j	1.54 d-l	0.65 g-l
		48	6.16 g-j	2.28 a-c	0.44 l
		96	7.50 d-g	1.46 d-o	0.60 h-l
25	0	2	6.44 g-i	2.57 ab	0.54 i-l
		12	6.47 g-i	2.39 ab	0.59 i-l
		24	6.43 g-i	2.44 ab	0.59 i-l
		48	5.43 h-k	2.71 a	0.73 f-i
		96	7.54 d-g	2.35 ab	0.75 e-i
	1	2	8.28 c-g	1.50 d-n	0.59 i-l
		12	10.03 ab	1.59 d-j	0.60 h-l
		24	8.89 b-e	2.18 bc	0.60 h-l
		48	8.68 b-e	1.23 g-s	0.62 g-l
		96	7.55 d-g	1.66 d-g	0.51 j-l
	3	2	9.16 a-d	1.56 d-k	0.94 de
		12	9.46 a-d	1.53 d-m	0.90 d-f
		24	9.10 b-e	1.41 e-o	1.46 a
		48	10.71 a	1.72 de	1.41 a
		96	8.50 b-f	2.35 ab	1.22 b
	5	2	9.54 a-c	1.91 cd	1.03 cd
		12	9.88 a-c	1.51 d-m	1.50 a
		24	9.77 a-c	1.70 d-f	1.54 a
		48	7.52 d-g	1.23 g-s	1.14 bc
		96	8.83 b-e	1.07 l-s	1.41 a

TFM: Toplam Fenolik Madde

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır (p<0.05).

En yüksek kireç dozu olan %25 kireç uygulamasında tüm fenolik bileşiklerin daha yüksek seviyelerde sentezlendiği görülmektedir. Söz konusu kireç dozunda toplam fenolik bileşikler için 1 µM SL uygulamasının yalnızca 12. saatte alınan örnekleri ile birlikte 3 µM ve 5 µM SL uygulanan bitkilerin büyük çoğunluğunun istatistiksel olarak yüksek değerleri gösterdikleri saptanmıştır. Toplam flavonoller bakımından ise ilginç bir şekilde SL uygulanmayan gruptaki tüm bitkiler ile 3 µM SL uygulanan 96. saatte örnek alınan bitkilerde istatistiksel olarak yüksek içerikler tespit edilmiştir. Toplam flavanol değerleri bakımından ise örnek alım zamanlarına göre değişmekle birlikte yalnızca SL'nin 3 µM ve 5 µM'lık gruplarında değerlerin istatistiksel olarak yüksek olduğu dikkati çekmektedir.

Ülkemiz topraklarının da büyük çoğunluğunda olduğu gibi yüksek kireç içeren, pH'sı yüksek topraklarda yetiştirilen çoğu bitkide özellikle bazı besin elementlerinin alımının sınırlanması ve buna bağlı büyüme ve gelişmede gerilemelerin olması kaçınılmaz bir durumdur. Bağcılık açısından düşünüldüğünde ise her ne kadar asma bitkisi diğer pek çok kültürü bitkisine göre nispeten daha yüksek pH derecelerinde yetiştirilebilse de besin maddesi alımındaki problemler nedeniyle verim ve kalitede kayıplar yaşanmakta, ileri durumlarda da kloroz başta olmak üzere çeşitli hasarlar meydana gelmektedir. Bağcılıkta kullandığımız anaçlar ise kirece dayanım bakımından kültür çeşitlerinin çok gerisinde kalmaktadır. Bu nedenle söz konusu tez çalışmasında SL uygulamalarının kireçli topraklarda asma bitkisinin mineral madde alımı üzerine olan etkileri de incelenmiştir. Böylece söz konusu ortamlarda bitkilerin mineral madde alımlarının ne ölçüde etkilendiği tespit edilmeye çalışılmıştır. Bununla birlikte yaptığımız kapsamlı literatür araştırmalarında SL uygulamalarının mineral madde alımına etkisine yönelik bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bilindiği üzere bitkiler büyüme ve gelişmelerini sürdürebilmeleri için en az 17 farklı bitki besin maddesine ihtiyaç duymaktadırlar. Bu elementlerden hidrojen, karbon ve oksijen çoğunlukla hava ve sudan alındıkları için mineral olmayan bitki besin elementleri olarak düşünülmektedir (White, 2006; Gardiner ve Miller, 2008; Fageria, 2009). Diğer zorunlu 14 element ise doğrudan topraktan alınmaktadır. Bitkilerde bulunan bu besin maddelerinin miktarları, bitkinin türü, yaşı, kök gelişimi, toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri ile uygulanan tarımsal yöntemler başta olmak üzere çok çeşitli faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Kacar ve Katkat, 2010). Bitkiler için zorunlu bu elementler temelde makro ve mikro elementler olarak ikiye ayrılmaktadır. Makro besin

elementleri diğer elementlere kıyasla bitki tarafından daha fazla gereksinim duyulan elementlerdir. Bu yüzden bunlara makro besin elementleri, diğerlerine ise mikro, minör ya da iz elementleri adı verilmektedir (Bolat ve Kara, 2017). Araştırmamızda SL uygulamalarının kireçli ortamlarda makro elementlerin (Çizelge 4.4) ve mikro elementlerin (Çizelge 4.5) alımı üzerine olan etkileri de incelenmiştir.

Tüm incelenen makro besin elementlerinde kireç dozları, SL uygulamaları ve örnek alım zamanları arasında önemli farklılıkların bulunduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$).

Azot bitki büyümesini kontrol eden temel besin elementlerinden birisidir. Toprakta bulunan azotun asıl kaynağı organik maddelerdir. Toprak organik içeriği zamanla parçalanmakta ve bunun sonucunda bileşiminde bulunan azot bitkilerin kullanımına sunulmaktadır (Kantarıcı, 2000; Boşgelmez vd., 2001). Yeryüzündeki toprakların büyük bir kısmında azot noksanlığı görülmektedir. Oysa azot çok çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal olayda rol oynayan; proteinler, amino asitler, nükleik asitler, enzimler, klorofil, ATP ve ADP'nin yapı taşı konumundadır (Gardiner ve Miller, 2008; McCauley vd., 2009). Bitkinin büyüme ve gelişmesi ile birlikte stres ortamına toleransında da azot bakımından yeterli ve dengeli beslenmesi büyük önem taşımaktadır (Kantarıcı, 2000; Fageria, 2009). Yeterince azotla beslenemeyen bitkide başlangıçta koyu ve canlı yeşil yerine, açık yeşil bir görünüm söz konusu olmakta ve ileri durumlarda yapraklarda klorozla birlikte kahverengileşme ve ölüm gerçekleşmektedir (Kacar ve Katkat, 2010). Bu tez çalışmasında da kireçli ortamlarda SL uygulamaları karşısında miktarı incelenen ilk element N'dir. Kjeldahl cihazında toplam azot olarak belirlenen ve yüzde (%) olarak ifade edilen değer bakımından bir inceleme yapıldığında en yüksek kireç dozunda SL uygulaması yapıp yapılmadığına ve örnek alım zamanına bakılmaksızın tüm bitkilerde düşük seviyelerde N bulunmuş olması dikkat çekicidir. İstatistiksel olarak farklılık olmamakla birlikte rakamsal olarak en yüksek N miktarı ise (%3.54) %10 kireç içeren ortamda yetiştirilen, 1 μ M SL uygulanan ve 12. saatte alınan bitkilerden elde edilmiştir. Azotun rakamsal olarak en yüksek seviyelerde bulunduğu %10 kireç ve 1 μ M SL uygulaması her ne kadar örnek alım saati olarak farklı olsa da klorofilin de en yüksek düzeyde gerçekleştiği uygulama grubu olması bakımından paralellik gösteren bir sonuçtur. Nitekim klorofil kaybının temel nedenlerinden birisinin de yukarıda değinildiği gibi besin elementlerinden başta N olmak üzere, Mg, Fe, Zn, Mn ve B miktarlarındaki düşüşler olduğu bilinmektedir (Gaertel, 1968).

Bir diğ er makro besin elemanı fosfor (P) dur. Kaynağını temel olarak kaya ve minerallerin parçalanması ile serbest hale geçen fosforun oluşturduğu bu element başta enerji transferinde etkili ATP’de olmak üzere hücre bölünmesinden, çiçeklenmeye, meyve oluşumuna ve olgunlaşmaya kadar pek çok olayda etkin rol oynamaktadır. Bir diğ er önemli fonksiyonu ise bitkinin biyotik ve abiyotik farklı streslere karşı direncini artırmasıdır. Bitkinin su düzeninin kurulmasında da etkili olduğu bilinmektedir (Boşgelmez vd., 2001; McCauley vd., 2009). Araştırmamızda P içerikleri bakımından elde edilen değerler incelendiğinde yalnızca kireç içermeyen ortamda yetiştirilen bitkilerde bu değerin yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Bununla birlikte söz konusu ortam kendi içerisinde incelendiğinde SL içermeyen, yalnızca 48. ve 96. saat örneklerinde P içeriklerinin yüksek olduğu, onun dışında 1 μ M SL (96. saat) ve 3 μ M SL (48 ve 96. saat) içeren grupta yine istatistiksel olarak yüksek P seviyesinin tespit edildiği görülmektedir.

Bitkilerin özelliklere hastalıklara dayanım kazanmasında büyük rol oynayan, bitkinin kök sisteminin gelişmesini sağlayan, bitkide su dengesinin kurulmasında önemli ve klorofil oluşumunda da etkili bir diğ er element potasyum (K)’dur (Brady, 1990; Boşgelmez vd., 2001; McCauley vd., 2009; Kacar ve Katkat, 2010). Araştırmamızda K bakımından P’de olduğu gibi kireç içermeyen gruptaki bitkilerin istatistiksel olarak çok daha yüksek içeriklere sahip olduğu görülmektedir. Burada %0 kireç, 0 μ M SL ve 48. saat; %0 kireç, 3 μ M SL, 24., 48. ve 96. saatleri ve %0 kireç, 5 μ M SL ve 24. saat örnek alınan bitkilerin yaprakları en yüksek K değerine sahip yapraklar olarak belirlenmiştir.

Tez çalışmasında incelenen bir diğ er makro element kalsiyum (Ca) olup, bu bakımdan en yüksek içeriğin %25 kireç uygulamasından elde edildiği ve bu bitkilerin 5 μ M SL uygulanan ve son örnek alım dönemi olan 96. saatte alınan bitkiler olduğu görülmektedir. Bu değerin yüksek oluşmasının nedeni doğal olarak uygulama sırasında ortama ek olarak kireç verilmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Kalsiyum aslında bitkilerin en fazla kullandıkları üçüncü besin elementidir. Bitki hücre duvarının sağlam olmasında temel yapı taşı konumunda bir elementtir (Plaster, 1992; McCauley vd., 2009). Ca, besin maddelerinin alınmasında; bitki ve toprakta bulunan toksik maddelerin  kelmesinde de rol oynamaktadır. Bitkinin bu besin elementi bakımından da yeterli beslenmesi durumunda hastalıklara karşı daha dayanıklı oldukları bilinmektedir. Ayrıca protein oluşumunda ve karbondhidratların taşınmasında da önemli rolleri bulunmaktadır (Plaster, 1992; Boşgelmez vd., 2001). Ancak kurak iklim şartlarında fazla miktarlarda

bulunması durumunda P, K ve Fe ile diğ er bazı elementleri bitkilerin yararlanamayacağı formlara dönüşt urerek antagonistik etki g osterdiği bilinmektedir (Aktaş ve Ateş, 1998; Boşgelmez vd., 2001).

Klorofilin merkez atomu olması nedeniyle yapı taşı olan Magnezyum (Mg) da bitkide canlılığın devamını sağlayan temel besin maddelerindendir (Foth, 1984). CO₂ asimilasyonunda, protein sentezinde (Aktaş ve Ateş, 1998; Boşgelmez vd., 2001; McCauley vd., 2009; Kacar ve Katkat, 2010) ve diğ er besin elementlerinin alınmasında da etki g oştermektedir. Çok sayıda enzimin aktivitesinden de sorumlu olan bu mineral maddenin (Plaster, 1992; Gardiner ve Miller, 2008) asmada kireçli ortamlarda SL uygulaması karşısındaki içerikleri de bu tez çalışmasında incelenmiştir. Araştırmada kireç içermeyen ancak 3 µM SL uygulanarak 48. saatte örnek alınan bitkiler en y uksek magnezyum (Mg) içeriğine sahip bitkiler olarak öne  ıkılmışlardır.

Çizelge 4.4. SL uygulamasının makro besin elementleri üzerine etkileri

CaO (%)	SL (µM)	Zaman (saat)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)
0	0	2	2.95 a-e	9432.21 c-f	8502.80 f	6185.76 m-o	3798.88 f-h
		12	2.80 a-i	9357.00 d-f	9695.00 b-e	6587.33 kl	4015.40 e-g
		24	2.84 a-h	9402.78 d-f	9527.78 c-e	6702.47 j-l	4657.41 cd
		48	2.80 a-i	10722.63 a	10059.31 a-d	6798.54 jk	4240.88 de
		96	2.73 b-l	10591.92 a	9888.48 b-d	6127.94 m-o	5111.28 b
	1	2	2.68 b-m	9692.12 b-e	7153.52 g-m	6968.96 i-k	4424.50 c-e
		12	2.60 b-o	7637.43 s-u	7166.92 g-l	6592.81 kl	3732.04 f-i
		24	2.86 a-h	8103.73 op	6316.54 l-t	6722.64 jk	4237.56 de
		48	2.80 a-i	8107.52 op	8654.10 f	6995.22 ij	4542.35 cd
		96	2.62 b-n	10504.59 a	6757.76 h-p	7569.88 h	5080.75 b
	3	2	3.12 a-c	9875.00 b	9232.01 d-f	8395.83 cd	4803.03 bc
		12	2.93 a-f	7452.09 s-y	7593.06 gh	8325.69 c-e	3413.89 h-m
		24	2.95 a-e	9108.56 f-h	9964.34 a-d	8165.44 d-f	5101.10 b
		48	2.63 b-m	10643.37 a	10761.49 a	9109.91 b	5545.05 a
		96	2.66 b-m	10556.67 a	10201.00 a-c	8520.00 cd	4424.00 c-e
	5	2	2.95 a-e	9060.81 f-i	9068.13 ef	7040.54 ij	4565.32 cd
		12	2.59 b-p	8830.13 g-k	7701.92 g	7059.29 ij	3794.87 f-h
		24	3.18 ab	10065.45 b	10395.94 ab	7777.49 gh	3675.39 f-j
		48	2.86 a-h	7383.34 s-y	6255.88 n-u	5333.33 s-u	3799.02 f-h
		96	2.69 b-m	7278.39 t-y	7523.41 gh	5703.69 p-s	3591.63 g-k
10	0	2	3.02 a-d	8295.78 m-o	7420.19 g-i	6673.12 j-l	2847.42 o-u
		12	2.96 a-e	7411.31 s-y	7013.79 g-o	5406.25 s-u	2124.08 vy
		24	2.86 a-h	9284.24 ef	6513.54 j-s	6916.40 i-k	3578.03 h-k
		48	2.91 a-f	8455.56 k-o	6420.83 k-s	6231.25 mn	3283.33 j-o
		96	3.12 a-c	8034.60 o-r	6925.78 g-p	5621.65 r-t	3679.69 f-j
	1	2	2.74 b-k	9391.67 d-f	5468.63 tu	6344.12 lm	3128.43 l-r
		12	3.54 a	8725.62 h-l	5702.13 r-u	5897.16 n-r	2711.88 r-u
		24	2.79 a-j	8458.34 k-o	6261.36 n-u	6037.34 m-p	3031.39 l-s
		48	2.87 a-g	7502.27 s-y	6740.94 h-p	4646.29 v	2424.82 uv
		96	2.63 b-m	8234.79 no	7361.11 g-j	6114.42 m-o	2878.31 n-t
	3	2	2.30 d-p	8579.38 j-n	6119.60 p-u	5568.09 r-u	2937.37 n-s
		12	2.52 b-p	7734.86 p-s	7230.20 g-k	5585.17 r-u	2194.10 vy
		24	2.46 b-p	7470.72 s-y	6108.92 r-u	5338.90 s-u	2803.32 p-u
		48	2.53 b-p	7726.19 p-s	6171.80 o-u	5219.52 u	3049.09 l-s
		96	2.40 b-p	7164.89 vy	6773.59 h-p	5359.91 s-u	2892.69 n-s
	5	2	2.41 b-p	8176.46 no	5847.90 r-u	5840.05 o-r	2949.03 n-s
		12	2.23 d-p	8060.98 op	7019.79 g-o	5921.35 n-r	2806.25 p-u
		24	2.35 c-p	8694.53 i-m	7159.76 g-m	6104.29 m-o	3463.02 h-l
		48	2.32 d-p	9698.94 b-e	7160.13 g-m	5286.44 tu	2770.10 r-u
		96	2.18 e-p	8324.08 l-o	5815.33 r-u	5243.11 tu	3002.26 m-s
25	0	2	2.03 i-p	7175.46 vy	5690.70 r-u	7229.27 i	1776.38 y
		12	2.09 g-p	7075.30 y	5632.53 s-u	8364.46 cd	2022.31 vy
		24	1.93 l-p	7397.68 s-y	6277.66 m-t	7723.27 gh	2041.89 vy
		48	1.83 n-p	7528.38 s-v	5669.68 s-u	8246.17 de	2010.02 vy
		96	2.01 i-p	7155.41 vy	5759.57 r-u	9169.93 b	2093.47 vy
	1	2	2.08 g-p	7364.33 s-y	5495.00 tu	6087.00 m-o	2238.33 v
		12	1.97 k-p	7544.36 s-v	6577.62 i-r	5271.17 tu	2448.59 t-v
		24	1.81 op	7229.96 u-y	9488.40 c-e	9358.65 b	2245.78 v
		48	1.81 op	8888.89 g-j	8978.17 ef	9001.98 b	2417.66 uv
		96	1.91 m-p	8180.02 no	7532.77 gh	7996.84 e-g	2669.90 s-u
	3	2	2.14 f-p	9345.00 ef	6881.91 g-p	6024.29 m-p	3101.43 l-s
		12	2.22 d-p	9766.19 b-d	5697.54 r-u	8645.73 c	2127.72 vy
		24	1.79 p	9210.81 f-g	5376.06 u	9108.05 b	2742.59 r-u
		48	1.99 j-p	9679.17 b-e	7506.94 gh	8674.31 c	3002.78 m-s
		96	2.32 d-p	7626.44 s-u	5641.96 s-u	7824.57 f-h	3308.91 i-n
	5	2	1.97 k-p	8673.37 i-m	6293.48 l-t	6837.50 jk	4251.09 de
		12	1.91 m-p	7324.45 s-y	6272.98 m-t	6990.81 ij	4834.56 bc
		24	2.07 h-p	9814.75 bc	6121.15 p-u	6723.08 jk	3275.64 j-o
		48	1.93 l-p	7665.33 r-t	5798.17 r-u	5609.63 r-u	4097.59 ef
		96	2.02 i-p	8104.51 op	7081.97 g-n	9706.97 a	3218.58 k-p

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır (p<0.05).

Araştırmada incelenen diğer besin elementleri ise mikro elementler sınıfında yer alan bazı elementlerdir.

Çizelge genel olarak incelendiğinde yalnızca Fe'nin kireçsiz, SL uygulanmayan ve 48. saatte alınan bitki örnekleri dışında diğer tüm bitkilerin SL uygulamalarında bitkilerinin mikro element miktarlarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu bakımdan mikro besin elementlerinde SL'nin etkisi daha net gözlemlenmiş şeklinde bir çıkarım yapmak mümkündür. Kireç içermeyen ancak 3 µM SL uygulanan 96. saat örneklerinde (560.80 ppm); %10 kireç içeren 5 µM SL uygulanan 24. (551.71 ppm) ve 96. saat (545.96 ppm) örneklerinde Fe seviyesi istatistiksel olarak en yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Demir aslında klorofilin yapısında yer almayan bir element olmasına karşın, bitki beslenmesinde demirin yeterli ya da yetersiz olması ile klorofil kapsamı arasında yakın bir ilişki bulunduğu da bilinmektedir (Aktaş, 1994). Fe, topraklarda toplam olarak çok fazla bulunan bir besin elementi olmasına rağmen, bitkilerde eksikliği sonucu kloroza çok sık rastlanılmaktadır. Demir eksikliği ya da alımının engellenmiş olması sonucu yapraklarda daha düşük klorofil içeriğine paralel olarak fotosentetik aktivitede de azalma gözlenmektedir (Bavaresco ve Poni, 2003). Bitkilerde demir klorozunun nedeni olarak toprakta demirin mutlak eksikliği nadiren görülmektedir. Bu tarz Fe klorozu özellikle kumlu topraklarda ve turba topraklarda rastlanmaktadır. Toprağın yüksek pH'sı, kalsiyum karbonat, toprak çözeltisinde aşırı Ca^{+2} ve HCO_3^- iyonları konsantrasyonu ve demirin diğer elementlerle interaksyonu, demirin absorpsiyonunu, bitki içinde taşınımını ve metabolizmasını engellemektedir (Shalau, 2010).

Mikro besin elementlerinden bir diğeri de Çinko (Zn)'dur. Zn, azot metabolizmasında, nişasta oluşumunda etkili olup, özellikle büyüme hormonları ile ilişkili olarak bitki boylarının, boğum aralarının uzamasında etkili olmaktadır (Gardiner ve Miller, 2008; McCauley vd., 2009). Bu tez çalışmasında da incelendiği üzere kireçli, bazik topraklar Zn noksanlığının fazla miktarda görüldüğü topraklardır (Gadriner ve Miller, 2008). Oysa Zn'nin noksan olması durumunda yukarıda değinilen fonksiyonların işlevlerinde sorunlar ortaya çıkmakta, ayrıca klorofil içerikleri de noksanlığa paralel olarak düşmekte ve yeni yaprak oluşumu da olumsuz yönde etkilenmektedir (Plaster, 1992; Boşgelmez vd., 2001; Kacar ve Katkat, 2010).

Bor (B), mikro elementler arasında ametal olan tek elementtir. B, bitkide hücre duvarlarının oluşumunu teşvik etmektedir. Bor, bazı dehidrogenaz enzimlerini aktive

etmede, karbonhidrat biyosentezinde ve protein sentezinde etkili bir elementtir. Ayrıca şeker taşınımında da büyük bir öneme sahiptir (Plaster, 1992; Boşgelmez vd., 2001; Gardiner ve Miller, 2008; McCauley vd., 2009).

Sunulan bu tez çalışmasında etkisi incelenen son mineral madde Mangan (Mn)'dır. Mn, fotosentezde, azot metabolizmasında, Fe, Ca ve Mg absorpsiyonunda önemli rol oynamaktadır. Klorofilin oluşumunda, meyve olgunlaşmasında da etkili bir mineral konumundadır (Plaster, 1992; Boşgelmez vd., 2001; Güzel vd., 2004; Gardiner ve Miller, 2008; Kacar ve Katkat, 2010).

Zn, B ve Mn bakımından elde edilen veriler incelendiğinde her üç mikro elementin de kirecin bulunmadığı ortamlar ile en yüksek kireç dozu olan %25 kireç içeren ortamlardaki tüm bitkilerde rakamsal olarak içerik bakımından düşük seviyelerde kaldığı görülmektedir. %10 kireç ortamı bu elementler yönüyle daha yüksek içeriklerin sergilendiği ortam olarak tespit edilmiştir.

İstatistiksel olarak en yüksek Zn içeriğinin %10 kireç içeren ve 5 μ M SL uygulanarak 2. saatte örnek alınan bitkiler (57.42 ppm) olduğu görülmektedir. Zn'nin yaprak oluşumu üzerine olan etkisi de düşünüldüğünde ve araştırmada yüksek dozda SL uygulanan bitkilerde yeni yaprak oluşumunun daha fazla olduğu göz önüne alındığında SL'lerin Zn alımını teşvik ettiği ve Zn'nin de yeni organ oluşumunu teşvik ettiği düşünülebilmektedir.

En yüksek B içeriğine sahip bitkilerin %10 kireç içeren; 3 μ M SL uygulanan ve 96. saatte örnek alınan bitkiler ile Fe içeriklerinde olduğu gibi aynı şekilde 5 μ M SL uygulanan; 24. ve 96. saatlerde örnek alınan bitkilerde olduğu görülmektedir.

ICP-OES ile yapılan analizde en yüksek Mn içeriği (54.55 ppm) ise %10 kireç içeren, 5 μ M SL uygulanarak 48. saatte örnek alınan bitkilerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. SL uygulamasının mikro besin elementleri üzerine etkileri

CaO (%)	SL (μM)	Zaman (saat)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)	Mn (ppm)
0	0	2	511.32 cd	23.65 k	29.12 ij	42.74 ij
		12	524.93 bc	22.03 m-q	29.41 i	43.28 hi
		24	460.33 e	22.17 m-q	29.29 i	40.98 lm
		48	548.91 ab	27.40 j	29.24 i	44.13 gh
		96	418.82 f-h	23.05 k-m	28.46 k	42.24 jk
	1	2	413.34 f-j	21.12 q-x	26.64 m	40.12 m
		12	340.42 no	27.10 j	24.75 o	43.61 hi
		24	295.44 rs	23.41 kl	29.45 i	25.48 u
		48	498.93 d	21.03 q-y	24.30 op	33.48 q
		96	533.00 bc	20.47 s-α	24.88 o	28.79 s
	3	2	396.21 g-l	27.50 j	35.67 f	51.03 cd
		12	414.44 f-i	29.27 i	31.67 g	53.13 b
		24	391.55 h-l	31.17 h	30.10 h	51.27 c
		48	345.77 mn	21.32 q-w	28.89 i-k	43.01 ij
		96	560.80 a	20.53 r-z	28.50 jk	37.73 no
	5	2	311.33 p-s	23.53 kl	27.57 l	40.36 m
		12	323.93 n-r	21.65 n-r	25.76 n	43.43 hi
		24	381.24 kl	21.72 n-q	21.69 r	42.68 i-k
		48	388.75 i-l	20.47 s-α	18.19 t	37.93 no
		96	369.52 lm	20.46 t-β	17.98 t	32.62 r
10	0	2	439.43 ef	21.33 q-w	16.23 v	41.31 l
		12	305.92 p-s	21.69 n-q	15.05 w	38.26 n
		24	370.48 k-m	22.15 m-q	22.40 q	41.83 kl
		48	317.49 o-r	20.33 v-β	21.34 r	37.32 o
		96	437.06 ef	19.58 y-β	18.51 t	24.61 vw
	1	2	330.20 n-p	20.52 r-z	14.37 xy	35.37 p
		12	314.38 o-s	20.02 x-β	14.03 y	44.51 g
		24	372.08 k-m	21.55 o-t	16.28 v	41.82 kl
		48	390.48 h-l	19.30 αβ	16.24 v	27.56 t
		96	396.22 g-l	21.13 q-x	21.96 qr	35.34 p
	3	2	369.33 lm	47.37 d	37.13 e	51.47 c
		12	384.98 j-l	41.05 f	35.38 f	50.24 de
		24	422.54 fg	53.58 b	41.21 c	46.13 f
		48	399.17 g-k	50.60 c	43.15 b	45.36 f
		96	308.53 p-s	51.27 c	45.33 a	43.38 hi
	5	2	374.64 kl	57.42 a	40.52 d	45.71 f
		12	424.63 fg	45.43 e	43.37 b	51.11 c
		24	551.71 ab	40.56 f	45.37 a	50.17 e
		48	392.96 h-l	38.22 g	41.58 c	54.55 a
		96	545.96 ab	47.29 d	45.26 a	51.23 c
25	0	2	194.54 xy	19.35 αβ	13.06 z	10.73 ε
		12	221.15 wx	20.25 w-β	12.09 α	10.79 ε
		24	207.52 w-y	19.51 z-β	12.07 α	10.89 δ
		48	203.37 w-y	19.58 y-β	12.14 α	10.16 ε
		96	195.63 xy	19.98 y-β	12.45 zα	11.75 γδ
	1	2	197.80 xy	23.58 kl	17.32 u	16.40 αβ
		12	213.75 w-y	21.61 o-s	19.28 s	16.53 αβ
		24	228.17 vw	20.37 u-β	19.56 s	17.42 z
		48	184.80 y	19.28 β	12.45 zα	12.56 γ
		96	212.41 w-y	20.03 x-β	14.74 wx	13.28 β
	3	2	267.42 tu	21.42 p-v	19.34 s	18.71 z
		12	257.56 u	19.23 β	16.43 v	17.33 α
		24	346.35 mn	21.49 o-u	16.16 v	17.24 α
		48	304.17 p-s	22.77 k-n	19.42 s	17.12 α
		96	317.17 o-r	22.06 m-q	22.57 q	19.49 y
	5	2	248.63 uv	22.52 l-p	17.31 u	20.49 x
		12	258.99 u	23.28 kl	30.54 h	18.64 z
		24	286.58 st	22.15 m-q	23.78 p	23.52 w
		48	261.23 tu	23.14 k-m	24.87 o	25.17 v
		96	248.23 uv	22.59 k-o	27.56 l	22.75 x

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmaktadır (p<0.05).

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular toplu olarak değerlendirildiğinde sonuçları aşağıdaki şekilde özetlemek mümkündür.

- Bitkinin içinde bulunduğu stres ortamının dışı vurumunda en net ve gözlemlenebilir tepki yapraklardaki sararma, nekroz ve kurumalar olup, bu durumun derecelendirilmesi ile ortaya çıkan skalaya göre bu tez çalışmasında en yüksek zararlanma SL uygulanmayan ve en yüksek kireç içeren ortamda yetiştirilen bitkilerde meydana gelmiştir. Araştırmada kullanılan en yüksek kireç dozu %25 olup, kullanılan Amerikan asma anacının dayanım sınırlarının üzerinde bir değerdedir. Bu nedenle söz konusu ortamda zararlanmanın gözlenmesi aslında kaçınılmaz bir durumdur. Ancak çalışmamızda en yüksek dozda gözlenen bu zararlanmanın SL uygulaması yapılmamış bitkilerde olması, SL'lerin zararı hafifletmedeki etkisini net olarak ortaya koymaktadır.

- En yüksek kireç dozunda yetiştirilen ve SL uygulanmamış ya da en düşük SL dozu uygulanan bitkilerde sürgün uzamasının az olduğu da tespit edilmiştir. Burada yüksek dozlarda SL uygulanmış bitkilerde söz konusu durgunluğun daha hafif düzeyde meydana gelmesinin SL'nin stresi hafifletme, bitki gelişiminde olan büyüme azalmasını engelleme yönünde gösterdiği etkinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

- Yüksek stres ortamında bitkinin önceliğinin hayatta kalmak olması nedeni ile yeni organ oluşumunun engellendiği bilinmektedir. Bu araştırmada da en yüksek kireç dozunda en az yeni yaprak oluşumunun meydana geldiği, SL uygulamalarının ise bu oluşumu teşvik etme yönünde etki gösterdikleri tespit edilmiştir.

- Önemli bir stres parametresi olan ve hücrenin yapısının sağlamlığının ya da bozulma durumunun bir göstergesi olan membran zararlanması kireç içeren ortamlarda daha fazla tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu bitkilerin ortak özelliği SL uygulanmamış bitkiler olmasıdır. Dolayısıyla buradan kullanılan en yüksek dozdaki kireç uygulamasında dahi SL'lerin membran bütünlüğünü korumak adına etkin bir performans gösterdikleri sonucu çıkarılabilmektedir.

- SPAD olarak belirlenen en düşük klorofil içeriği en yüksek kireç dozunda ve SL uygulanmayan bitkilerde tespit edilmiştir.

- En yüksek kireç dozunda ve SL uygulamasını içeren bitki gruplarında prolin sentezinin daha yüksek olması strese tolerans gösterme bakımından SL'lerin etkisini doğrular niteliktedir.

- En yüksek protein içeriği herhangi bir stresin olmadığı, kireçsiz ortamlarda ve SL uygulanan bitkilerde tespit edilmiş olup, bu durum ortamda stres olmasa dahi SL'lerin bitki büyüme ve gelişme parametreleri üzerine olan olumlu etkisini net bir şekilde göstermektedir.

- En yüksek lipid peroksidasyonu, bir diğer ifade ile lipitlerdeki en yüksek zararlanma, öngörüldüğü gibi yüksek kireç içeren ortamda meydana gelmiş olup, bu bitkilerin SL uygulaması yapılmayan bitkiler olması SL'lerin yüksek dozda dahi hasar önlemedeki etkisini kanıtlar niteliktedir.

- Araştırmamızda yüksek kireç içeren ortamlar, toplam fenolik bileşik, toplam flavonol ve toplam flavanollerin yüksek seviyelerde sentezlendiği ortamlar olarak tespit edilmiştir. Toplam fenolik bileşiklerin özellikle 3 μ M ve 5 μ M SL uygulanan bitkilerin büyük çoğunluğunda istatistiksel olarak yüksek değerlerde bulunması, stresten korunmada SL'lerin etkisi olarak düşünülmektedir.

Mineral madde miktarları içerisinde toplam azot olarak tespit edilen N miktarının genel olarak en yüksek kireç dozunda daha düşük seviyelerde bulunduğu tespit edilmiştir. Büyük çoğunluğu SL uygulanan ortamlar olmak üzere kireç içermeyen ortamlarda ise daha yüksek N seviyelerine ulaşılmıştır.

- P ve K içerikleri azota benzer şekilde kireç içermeyen ortamda yetiştirilen bitkilerde daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir.

- Ca, en yüksek kireç uygulanan bitkilerin yapraklarında tespit edilmiştir.

- En yüksek Mg içeriği kireç içermeyen ancak SL uygulanan bitkilerin yapraklarında tespit edilmiş olması dikkati çekmektedir.

- Mikro elementler bakımından elde edilen verilerde de büyük çoğunlukta SL uygulaması yapılan bitkilerde bu bakımdan beslenmenin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum bitki beslenme fizyolojisi üzerinde SL'lerin etkilerini kanıtlamaktadır.

- SL uygulaması yapıp yapılmadığına bakılmaksızın kirecin bulunmadığı ortamlar ile en yüksek kireç dozu altındaki bitkilerde Zn, B ve Mn içerikleri nispeten düşük seviyelerde kalmıştır. %10 kireç ortamı bu elementler yönüyle daha yüksek içeriklerin sergilendiği ortam olarak tespit edilmiştir.

- %10 kireç içeren 3 ve 5 μ M SL uygulamaları daha yüksek seviyelerde Zn ve B içeriği gösteren uygulamalar ortamlar olarak tespit edilmiştir.

- Mn içeriği bakımından ise yine %10 kireç içeren 5 μ M SL uygulamasındaki asmalar daha yüksek değerler sergilemiştir.

.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hayatın vazgeçilmez bir parçası olan bitkilerin günümüzde gittikçe artan çeşitlilik ve şiddette farklı streslere maruz kaldıkları bilinmektedir. Bu stres kimi zaman bitki tarafından tolere edilebilirken, kimi zaman verim ve kalite kayıplarına, kimi durumlarda ise bitki canlılığının sona ermesine neden olmaktadır. Günümüzde ürün kayıplarını en aza indirmek için söz konusu stres faktörlerine dayanıklı çeşit geliştirmeye yönelik genetik mühendisliği alanında ciddi çalışmalar da yapılmaktadır. Ancak gerek kullanılan metotların pahalı olması gerek büyük bir bilgi birikimini gerektirmesi nedeniyle pratik olmamaktadır. Bu nedenle bitkilerin genetik yapılarını değiştirmeksizin onların stres toleransını artıracak, doğal, kullanımı kolay, pratiğe aktarılabilir ve insan sağlığına zararsız alternatifler bulmak son derece önemlidir. Aslında bitkilerin bünyelerinde bulunan bazı bileşiklerin bu toleransın kazanılmasında etkili oldukları da bilinmektedir. Son yıllarda da bu bileşikler içerisinde yer alan Strigolaktonlar üzerinde çalışmalar yapılmakta ve her geçen gün yeni fonksiyonları öne çıkmaktadır. Bu nedenle bu bileşiğin farklı bitkilerde ve farklı stres faktörleri üzerine olan etkisini inceleyen çalışmaların çok yönlü olarak sürdürülmesi gerekmektedir.

Asma bitkisi, dünyada yetiştiriciliği geniş alanlara yayılmış, ekonomik ömrü oldukça uzun olan bir bitkidir. Asma bitkisinde yüksek kalite ve verimliliğin sağlanması da ancak stres bileşenlerinin minimuma indirildiği bir ortamda mümkün olabilmektedir. Oysa özellikle ülkemizde bağlar diğer pek çok kültür bitkisi için çok da uygun olmayan, kireç, kireç içeriği yüksek bölgelerde yetiştirilmektedir. Kireç oranı fazla olan topraklarda yetiştirilen asmalarda başta Fe alımı çok olumsuz etkilenmekte ve bunun sonucunda da yapraklar da kloroz görülmektedir. İleri durumlar ise bitkinin pek çok fizyolojik aktivitesini engelleyeceği için ciddi sonuçlar ortaya çıkarmaktadır. Aslında kullanılan çeşitler kirece dayanıklı olmakla birlikte modern bağcılıkta Amerikan asma anacının kullanım zorunluluğu nedeniyle kirece hassasiyeti daha düşük olan anaçlar üzerine aşılama durumunda kalmaktadırlar.

Strigolaktonların diğer pek çok stres faktörü üzerine olan etkisinden yola çıkarak planlanmış bu tez çalışması ile asma bitkisinde yüksek kireç içeren ortamda SL uygulamalarının bitkide fiziksel ve biyokimyasal anlamda göstereceği değişimler incelenmiştir. Tez çalışmasının planlandığı dönemde asmada herhangi bir stres parametresi üzerine strigolaktonların etkisini inceleyen bir araştırmaya rastlanılmamış

olup, güncel uluslararası literatürde kuraklık stresi üzerine olan etkisini inceleyen bir adet araştırma bulunmaktadır.

Araştırmamızdan elde edilen sonuçlar genel olarak göstermektedir ki; strigolaktonlar asmada kireçten kaynaklanan zararlanmanın önlenmesinde ya da hafifletilmesinde büyük kullanım potansiyeli olan bir bileşik olarak ortaya çıkmıştır. Bunun dışında stres bulunmayan ortamlarda da bitki gelişimini destekleyici yönde etkiler göstermektedir. Dolayısıyla pratikte bağcılıkta yüksek kireç içeren ortamlarda SL ile ön uygulamaların yapılması bu anlamda bir çözüm sunabilir.

Farklı bitkilerde günümüze değin yapılmış çalışmalarda SL'lerin tuzluluk, kuraklık ve düşük sıcaklık gibi farklı bitki streslerine karşı tepkilerin ortaya çıkmasında rol oynadığı tespit edilmiş olmakla birlikte, çoğu mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için çok yönlü araştırmalarla, özellikle diğer bitki hormonları ile olan etkileşimlerini de inceleyerek kapsamlı çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir. Çeşitli regülasyon seviyelerinde SL hormonal etkileşimini anlamada önemli bilgiler edinilmiş olsa da kritik bilgi boşluklarının hem hücresel hem de moleküler seviyelerde ele alınması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Akiyama, K., Matsuzaki, K. ve Hayashi, H. (2005). Plant Sesquiterpenes Induce Hyphal Branching in Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Nature*, 435, 824-827.
- Aktaş, M. (1994). *Bitki Besleme ve Toprak Verimliliği*, (2. basım), No: 1361, Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Aktaş, M. ve Ateş, A. (1998). *Bitkilerde Beslenme Bozuklukları Nedenleri Tanınmaları*. Ankara: Nurol Matbaacılık A.Ş. Ostim-Ankara
- An, C. ve Mou, Z. (2011). Salicylic Acid and Its Function in Plant Immunity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53, 412-428.
- Andersen, C. (2003). Source-sink Balance And Carbon Allocation Below Ground in Plants Exposed to Ozone. *New Phytologist*, 157, 213-228.
- Arnous, A., Makris, D.P. ve Kefalas, P. (2001). Effect of Principal Polyphenolic Components in Relation to Antioxidant Characteristics of Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (12), 5736-5742.
- Bartels, D. ve Sunkar, R. (2005). Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(1), 23-58.
- Bartoli, C.G., Casalongué, C.A., Simontacchi, M., Marquez Garcia, B. ve Foyer, C.H. (2013). Interactions Between Hormone And Redox Signalling Pathways in The Control of Growth and Cross Tolerance to Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 94, 73-88.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. ve Teare, I.D. (1973). Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Bavaresco, L. ve Poni, S. (2003). Effect of Calcareous Soil on Photosynthesis Rate, Mineral Nutrition, and Source-Sink Ration of Table Grape. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 2123-2135.
- Bavaresco, L., Giachino, E. Ve Pezutto, S. (2003). Grapevine Rootstocks Effects on Lime-Induced Chlorosis, Nutrient Uptake, and Source Sink Relationships. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 1451-1465.

- Bergmann, W. (1992). Nutritional Disorders of Plant. *Development, Visual and Analytical Diagnosis*, 223-247.
- Bolat, İ. ve Kara, Ö. (2017). Bitki Besin Elementleri: Kaynakları, İşlevleri, Eksik ve Fazlalıkları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1), 218-228.
- Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ.İ., Savaşçı, S. ve Pashı, N. (2001). *Ekoloji – II* (Toprak), Ankara: Başkent Klişe Matbaacılık, Kızılay, Ankara.
- Bowman, J.L. (2013). Walk About on The Long Branches of Plant Evolution. *Current Opinion Plant Biology*, 16, 70-77.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Brady, N.C. (1990). *The Nature and Properties of Soils*. No: 10th Edition, New York: Macmillan Publishing Company, New York, USA.
- Brewer, P.B., Dun, E.A., Ferguson, B.J., Rameau, C. ve Beveridge, C.A. (2009). Strigolactone Acts Downstream of Auxin to Regulate Bud Outgrowth in Pea and Arabidopsis. *Plant Physiology*, 150, 482-493.
- Brewer, P.B., Koltai, H. ve Beveridge, C.A. (2013). Diverse Roles of Strigolactones in Plant Development. *Molecular Plant*, 6, 18-28.
- Campbell, C.G. (1997). Grass pea: *Lathyrus sativus* L. *International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI)*, Rome; Italy, 92.
- Caponio F., Alloggio V. ve Gomes, T. (1999). Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil: Influence of Paste Preparation Techniques. *Food Chemistry*, 64, 203-209.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P. ve Pereira, J.S. (2003). Understanding Plant Responses to Drought From Genes to The Whole Plant. *Functional Plant Biology*, 30, 239-264.
- Christmann, A., Moes, D., Himmelbach, A., Yang, Y., Tang, Y. ve Grill, E. (2006). Integration of Absciscic Acid Signalling into Plant Responses. *Plant Biology*, 8, 314-325.

- Cook, C. E., Whichard, L.P., Turner, B., Wall, M.E. ve Egley, G.H. (1966). Germination of Witchweed (*Striga lutea* Lour.): Isolation and Properties of A Potent Stimulant. *Science*, 154, 1189-1190
- Cuartero, J., Bolarín, M.C., Asíns, M.J. ve Moreno, V. (2006). Increasing Salt Tolerance in The Tomato. *Journal of Experimental Botany*, 57, 1045-1058.
- Çelik, S. (2011). Bağcılık (Ampeloloji). Cilt, 1, 428 s., Tekirdağ: Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü.
- Dai, G.H., Andary, C., Mondolot, L. ve Boubals, D. (1995). Involment of Phenolic Compounds in The Resistance of Grapevine Callus to Downy mildew (*Plasmopara viticola*). *European Journal of Plant Pathology*, 101, 541-547.
- Delaux, P.M., Xie, X., Timme, R.E., Puech Pages, V., Dunand, C., Lecompte, E., Delwiche, C.F., Yoneyama, K., Becard, G. ve Sejalón Delmas, N. (2012). Origin of Strigolactones in The Green Lineage. *New Phytologist*, 195, 857-871.
- Demirbaş, S., Dinler, B.S. ve Önay, E. (2015). Soya Bitkisinde GR24 Ön Uygulamasının Tuz Stresinin Oluşturduğu Hasarı İyileştirmedeki Rolü. *Atatürk Üniversitesi, 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu*, Erzurum, 78 s.
- Dierck, R., Dhooghe, E., Huylenbroeck, J.V., De Riek, Jan., De Keyser, E. ve Van Der Straeten, D. (2016). Response to Strigolactone Treatment in Chrysanthemum Axillary Buds is Influenced by Auxin Transport Inhibition and Sucrose Availability. *Acta Physiologia Plantarum*, 38, 271.
- Dinis, T., Malheiro, A.C., Luzio, A., Fraga, H., Ferreira, H., Goncalves, I., Pinto, G., Correia, C.M. ve Moutinho Pereira, J. (2017). Improvement of Grapevine Physiology and Yield Under Summer Stress By Kaolin-Foliar Application: Water Relations, Photosynthesis and Oxidative Damage. *Photosynthetica*, 55, 1-13.
- Einav, M.G., Lekkala, S.P., Resnick, N., Wininger, S., Bhattacharya, C., Lemcoff, J. H., Kapulnik, Y. ve Koltai, H. (2010). Strigolactones are Positive Regulators of Light-Arvesting Genes in Tomato. *Journal of Experimental Botany*, 61(11), 3129-3136.

- Esteban, M.A., Villanueva, M.J. ve Lissarrague, J.R. (1999). Effect of Irrigation on Changes in Berry Composition of Tempranillo During Maturation Sugars, Organic Acids, and Mineral Elements. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 418-434.
- Esteban, M.A., Villanueva, M.J. ve Lissarrague, J.R. (2001). Effect of Irrigation on Changes in The Anthocyanin Composition of The Skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L) Grape Berries During Ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(4), 409-420.
- Evelin, H., Kapoor, R. ve Giri, B. (2009). Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Alleviation of Salt Stress: A Review. *Annual Botany*, 104, 1263-1280.
- Fageria, N.K. (2009). *The Use of Nutrients in Crop Plants*. New York: CRC Pres, Boca Raton, Florida, USA.
- Fan, S. ve Blake, T.J. (1994). Absciscic Acid Induced Electrolyte Leakage in Woody Species With Contrasting Ecological Requirements. *Physiologia Plantarum*, 90(2), 414-419.
- Ferrero, M., Pagliarani, C., Novak, O., Ferrandino, A., Cardinale, F., Visentin, I. ve Schubert, A. (2018). Exogenous Strigolactone Interacts With Absciscic Acid mediated Accumulation of Anthocyanins in Grapevine Berries. *Journal of Experimental Botany*, 69 (9), 2391-2402.
- Foo, E. (2013). Auxin Influences Strigolactones in Pea Mycorrhizal Symbiosis. *Journal of Plant Physiology*, 170, 523-528.
- Foo, E. ve Reid, J.B. (2012). Strigolactones: New Physiological Roles for an Ancient Signal. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(2), 429-442.
- Foth, H.D. (1984). *Fundamentals of Soil Science*. No: 7th Edition, New York, John Wiley and Sons, New York.
- Gaertel, W. (1968). Qualitative und Quantitative Veraenderungen des Chlorophyll-gehalts in Blaettern mit Virusbedingten Chlorosen. *Weinberg und Keller*, 15, 539-540.
- Gardiner, D.T. ve Miller, R.W. (2008). *Soils in Our Environment*. No: 11th Edition, New Jersey: Pearson/Prentice Hall, Upper Saddle Hill, USA.

- German, J. B. ve Walzem, R. L. (2000). The Health Benefits of Wine. *Annual Review of Nutrition*, 20 (1), 561-593.
- Golldack, D., Luking, I. ve Yang, O. (2011). Plant Tolerance To Drought and Salinity: Stress Regulating Transcription Factors and Their Functional Significance in The Cellular Transcriptional Network. *Plant Cell Reports*, 30(8), 1383-1391.
- Gomez Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P.B., Puech Pages, V., Dun, E.A., Pillot, J.P., Letisse, F., Matusova, R., Danoun, S., Portais, J.C., Bouwmeester, H., Bécard, G., Beveridge, C.A., Rameau, C. ve Rochange, S.F. (2008). Strigolactone Inhibition of Shoot Branching. *Nature*, 455, 189-194.
- Ha, C.V., Leyva Gonzalez, M.A., Osakabe, Y., Tran, U.T., Nishiyama, R., Watanabe, Y., Tanaka, M., Seki, M., Yamaguchi, S., Dong, N.V., Yamaguchi Shinozaki, K., Shinozaki, K., Herrera Estrella, L. ve Tran, L.S. 2014. Positive Regulatory Role of Strigolactone in Plant Responses to Drought and Salt Stress. *Proceeding National Academy of Science U.S.A.*, 14 (111), 851-856.
- Hirayama, T ve Shinozaki, K. (2010). Research on Plant Abiotic Stress Responses in The Post-Genome Era: Past, present and future. *The Plant Journal*, 61, 1041-1052.
- Hoagland, D. R. ve Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*, 347.
- Issah, H. (2021). Strigolaktonların Kapari (Capparis Spinosa L.) Bitkisi Kallus Kültürü Ve Fenolik Madde Üretimi Üzerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı 61 s.
- Kacar, B. (1972). *Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri*, II. Bitki Analizleri, No:453, Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Uygulama Kılavuzu No: 155.
- Kacar, B. ve Katkat, V. (2010). *Bitki Besleme*. No: 5, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti.
- Kantarcı, M.D. (2000). *Toprak İlmi*. No: 4261, , İstanbul: İstanbul Üniversitesi Toprak İlmi ve Ekoloji Anabilim Dalı, İÜ Yayın İstanbul, 420 s.
- Kapulnik, Y., Delaux, P.M., Resnick, N., Mayzlish Gati, E., Wininger, S., Bhattacharya, C., Séjalon Delmas, N., Combier, J.P., Bécard, G., Belausov,

- E., Beeckman, T., Dor, E., Hershenhorn, J. ve Koltai, H. (2011). Strigolactones Affect Lateral Root Formation and Root-Hair Elongation in *Arabidopsis*. *Planta*, 233, 209-216.
- Kennedy, J.A., Matthews, M.A. ve Waterhouse, A.L. (2000). Changes in Grape Seed Polyphenols During Fruit Ripening. *Phytochemistry*, 55(1), 77-85.
- Khalil, M.Y., Moustafa, A.A. ve Naguib, N.Y. (2007). Growth, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Some Medicinal Plants Grown Under Organic Farming Condition. *World Journal of Agricultural Science*, 3, 451-457.
- Kiselev, K.V. (2007). The rol-B gene-induced Over Production of Resveratrol in *Vitis amurensis* Transformed Cells. *Journal of Biotechnology*, 128, 681.
- Kisugi, T., Xie, X., Kim, H.I., Yoneyama, K., Sado, A., Akiyama, K., Hayashi, H., Uchida, K., Yokota, T. ve Nomura, T. (2013). Strigone, Isolation and Identification As A Natural Strigolactone from *Houttuynia cordata*. *Phytochemistry*, 87, 60-64.
- Kohlen, W., Charnikhova, T., Qing, L., Bours, R., Domagalska, M., Beguerie, S., Verstappen, F., Leyser, O., Bouwmeester, H. ve Ruyter Spira, C. (2011). Strigolactones are Transported in The Xylem and Play A Key Role in Shoot Architectural Response To Phosphate Deficiency in Non-AM Host *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 155, 974-987.
- Landolt, W., Gunthardt Georg, M.S., Pfenninger, I., Einig, W., Hampp, R., Maurer, S. ve Matyssek, R. (1997). Effect of Fertilization on Ozone-Induced Changes in The Metabolism of Birch (*Betula pendula*) Leaves. *New Phytologist*, 137, 389-397.
- Lattanzio, V., Cardinali, A., Ruta, C., Morone Fortunato, I., Lattanzio, V.M.T., Linsalata, V. ve Cicco, N. (2009). Relationship Of Secondary Metabolism To Growth In Oregano (*Origanum Vulgare* L.) Shoot Cultures Under Nutritional Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 65, 54-62.
- Ling, F., Su, Q., Jiang, H., Cui, J., He, X., Wu, Z., Zhang, Z., Liu, J. ve Zhao, Y. (2020). Effects of Strigolactone on Photosynthetic and Physiological Characteristics in Salt-Stressed Rice Seedlings. *Scientific Reports*, 10, 1-8.

- Liu, J., Mehdi, S., Topping, J., Friml, J. ve Lindsey, K. (2013). Interaction of PLS and PIN and Hormonal Crosstalk in *Arabidopsis* Root Development. *Frontiers in Plant Science*, 4(75), 1-8.
- Logemann, E., Tavernaro, A., Schulz, W., Somssich, I.E. ve Hahlbrock, K. (2000). UV Light Selectively Coinduces Supply Pathways From Primary Metabolism and Flavonoid Secondary Product Formation in Parsley. *Proceedings of the National Academy of the Science of the U. S. A.*, 97, 1903-1907.
- Lopez Bucio, J., Hernandez Abreu, E., Sanchez Calderon, L., Nieto Jacobo, M.F., Simpson, J. ve Herrera Estrella, L. (2002). Phosphate Availability Alters Architecture and Causes Changes in Hormone Sensitivity in The *Arabidopsis* Root System. *Plant Physiology*, 129, 244-256.
- Lopez Raez, J.A., Kohlen, W., Charnikhova, T., Mulder, P., Undas, A.K., Sergeant, M.J., Verstappen, F., Bugg, T.D., Thompson, A.J., Ruyter Spira, C. ve Bouwmeester, H. (2010). Does Absciscic Acid Affect Strigolactone Biosynthesis?. *New Phytologist*, 187, 343-354.
- Madhava Rao, K.V. ve Sresty, T.V.S. (2000). Antioxidative Parameters in The Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stress. *Plant Science*, 157, 113-128.
- Mahajan, S. ve Tuteja, N. (2005). Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- Martin, A.C., Del Pozo, J.C., Iglesias, J., Rubio, V., Solano, R., De La Peña, A., Leyva, A. ve Paz Ares, J. (2000). Influence of Cytokinins on The Expression of Phosphate Starvation Responsive Genes in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 24, 559-567.
- Matusova, R., Rani, K., Verstappen, F.W.A., Franssen, M.C.R., Beale, M.H. ve Bouwmeester, H.J. (2005). The Strigolactone Germination Stimulants of The Plant-Parasitic *Striga* and *Orobanch* spp. are Derived From The Carotenoid Pathway. *Plant Physiology*, 139, 920-934.
- McCauley, A., Jones, C. ve Jacobsen, J. (2009). *Nutrient Management*. Nutrient management module 9 Montana State University Extension Service. Publication, 4449-9, 1-16.

- Messing, S.A.J., Gabelli, S.B., Echeverria, I., Vogel, J.T., Guan, J.C., Tan, B.C., Klee, H.J., Mc Carty, D.R. ve Amzel, L.M. (2010). Structural Insights Into Maize Viviparous14, A Key Enzyme in The Biosynthesis of The Phytohormone Absciscic Acid. *Plant Cell*, 22, 2970-2980.
- Middleton, E., Kandaswami, C. ve Theoharides, T.C. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications For Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Min, Z., Li, R., Chen, L., Zhang, Y., Li, Z., Liu, M., Ju, Y. ve Fang, Y. (2019). Alleviation of Drought Stress in Grapevine By Foliar-Applied Strigolactones. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 99-110.
- Osmond, C.B., Austin, M.P., Berry, J.A., Billings, W.D., Boyer, J.S., Dacey, J.W.H., Nobel, P.S., Smith, S.D. ve Winner, W.E. (1987). Stress Physiology And The Distributions of Plants. *BioScience*, 37, 38-48.
- Önay, E. ve Gök, Ş. (2016). GR24 Ön Uygulamasının Tuz Stresi Altındaki Buğday Tohumlarına Etkisi. Mersin: *Mersin Üniversitesi, II. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu*, s123.
- Özcan, M.E., Güleç, M., Özerol, E., Polat, R. ve Akyol, O. (2004). Antioxidant Enzyme Activities and Oxidative Stress in Affective Disorders. *International Clinical Psychopharmacology*, 19, 89-95.
- Özden, M., Demirel, U. ve Kahraman, A. (2009). Effects of Proline on Antioxidant System in Leaves of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Exposed To Oxidative Stress by H₂O₂. *Scientia Horticulturae*, 119, 163-168.
- Peleg, Z. ve Blumwald, E. (2011). Hormone Balance and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 290-295.
- Perez Torres, C.A., Lopez Bucio, J., Cruz Ramirez, A., Ibarra Laclette, E., Dharmasiri, S., Estelle, M. ve Herrera Estrella, L. (2008). Phosphate Availability Alters Lateral Root Development In Arabidopsis By Modulating Auxin Sensitivity Via A Mechanism Involving the TIR1 Auxin Receptor. *Plant Cell*, 20 (12), 3258-3272.

- Pezzuto, J. M. (2008). Grapes and Human Health: A perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 6777-6784.
- Pieterse, C.M., Leon-Reyes, A., Van Der Ent, S. ve Van Wees, S.C.M. (2009). Networking by Small-Molecule Hormones in Plant Immunity. *Nature Chemical Biology*, 5, 308-316.
- Plaster, E.J. (1992). *Soil Science and Management*. No: 2nd Edition, New York: Delmar Publishers Inc., Albany, New York, USA.
- Pollock, C.B., Koltai, H., Kapulnik, Y., Prandi, C. ve Yarden, R.I. (2012). Strigolactones: A Novel Class of Phytohormones That Inhibit The Growth and Survival of Breast Cancer Cells and Breast Cancer Stem-Like Enriched Mammosphere Cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 134, 1041-1055.
- Proust, H., Hoffmann, B., Xie, X., Yoneyama, K., Schaefer, D.G., Nogue, F. ve Rameau, C. (2011). Strigolactones Regulate Protonema Branching and Act As A Quorum Sensing-Like Signal in The Moss *Physcomitrella patens*. *Development*, 138, 1531-1539.
- Raghavendra, A.S., Gonugunta, V.K., Christmann, A. ve Grill, E. (2010). ABA Perception and Signaling. *Trends in Plant Science*, 15, 395-401.
- Ren, C., Guo, Y., Kong, J., Lecourieux, F., Dai, Z., Li, S. ve Liang, Z. (2020). Knockout Of *Vvccd8* Gene in Grapevine Affects Shoot Branching. *BMC Plant Biology*, 20, 47.
- Roumeliotis, E., Kloosterman, B., Oortwijn, M., Kohlen, W., Bouwmeester, H.J., Visser, R.G.F. ve Bachem, C.W. (2012). The Effects of Auxin and Strigolactones on Tuber Initiation and Stolon Architecture in Potato. *Journal of Experimental Botany*, 63, 4539-4547.
- Ruyter Spira, C., Kohlen, W., Charnikhova, T., Van Zeijl, A., Van Bezouwen, L., De Ruijter, N., Cardoso, C., Lopez Raez, J.A., Matusova, R., Bours, R., Verstappen, F. ve Bouwmeester, H. (2011). Physiological Effects of The Synthetic Strigolactone Analog GR24 on Root System Architecture in *Arabidopsis*: Another Below Ground Role For Strigolactones? *Plant Physiology*, 155, 721-734.

- Ruyter Spira, C., Al Babili, S., Van Der Krol, S. ve Bouwmeester, H. (2013). The Biology of Strigolactones. *Trends in Plant Science*, 18(2), 72-83.
- Salama, A. ve Wareing, P.F. (1979). Effects of Mineral Nutrition on Endogenous Cytokinins in Plants of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Experimental Botany*, 30, 971-981.
- Sanan Mishra, N., Pham, X.H., Sopory, S.K. ve Tuteja, N. (2005). Pea DNA helicase 45 Over Expression in Tobacco Confers High Salinity Tolerance Without Affecting Yield. *Proceeding of the National Academy of Science USA*, 102, 509-514.
- Santner, A. ve Estelle, M. (2009). Recent Advances and Emerging Trends in Plant Hormone Signaling. *Nature*, 459, 1071-1078.
- Sedaghat, M., Tahmasebi Sarvestani, Z., Emam, Y. ve Mokhtassi Bidgoli, A. (2017). Physiological and Antioxidant Responses of Winter Wheat Cultivars to Strigolactone and Salicylic Acid in Drought. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119, 59-69.
- Shalata, A. ve Tal, A. (1998). The Effects of Salt Stress on Lipid Peroxidation and Antioxidants in The Leaf of The Cultivated Tomato and Its Wild Salt-Tolerant Relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiologia Plantarum*, 104 (169), 174.
- Shalau, J. (2010). Laboratories Conducting Soil, Plant, Feed or Water Testing. Publication AZ1111, *College of Agriculture and Life Science*, University of Arizona.
- Shinohara, N., Taylor, C. ve Leyser, O. (2013). Strigolactone can Promote or Inhibit Shoot Branching By Triggering Rapid Depletion of The Auxin Efflux Protein PIN1 From The Plasma Membrane. *PLOS Biology*, 11, 1-14.
- Shulaeva, V., Cortesa, D., Miller, G. ve Mittler, R. (2008). Metabolomics for Plant Stress Response. *Physiologia Plantarum*, 132, 199-208.
- Singleton, V.L. ve Rossi, J.R. (1965). Colorimetry of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Sönmez, B., Özbahçe, A., Akgül, S. ve Keçeci, M. (2018). Türkiye Topraklarının Bazı Verimlilik ve Organik Karbon (TOK) İçeriğinin Coğrafi Veri Tabanının

Oluşturulması, Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ę¼, Ankara: *Proje Sonuç Raporu*.

- Taiz, L. ve Zeiger, E. (2011). A Companion To Plant Physiology. Fifth Edition. Strigolactones: The Unmasking of A New Branching Hormone. *School of Biological Sciences*, The University of Queensland, Brisbane, Australia.
- Torres Vera, R., Garcia, J.M., Pozo, M. ve Lopez Raez, J.A. (2014). Do Strigolactones Contribute to Plant Defence? *Molecular Plant Pathology*, 15 (2), 211-216.
- Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., Yoneyama, K., Kyojuka, J. ve Yamaguchi, S. (2008). Inhibition of Shoot Branching By New Terpenoid Plant Hormones. *Nature*, 455, 195-200.
- Verslues, P.E. ve Sharma, S. (2010). Proline Metabolism And Its Implications For Plant Environment Interaction. *The Arabidopsis Book*, 8, 140.
- Wang, H., Feng, T., Peng, G.X., Yan, M., Zhou, P. ve Tang, X. (2009). Ameliorative Effects of Brassinosteroid on Excess Manganese-Induced Oxidative Stress in *Zea mays* L. Leaves. *Agricultural Science China*, 8, 1063-1074.
- White, R.E. (2006). *Principles and Practice of Soil Science: The Soil as a Natural Resource*. No: 4th Edition, London: Wiley-Blackwell Scientific Publication, United Kingdom.
- Wilkinson, S., Clephan, A.L. ve Davies, W.J. (2001). Rapid Low Temperature Induced Stomatal Closure Occurs in Cold-Tolerant *Commelina communis* Leaves But Not in Cold-Sensitive Tobacco Leaves, Via A Mechanism That Involves Apoplastic Calcium But Not Absciscic Acid. *Plant Physiology*, 126(4), 1566-1578.
- Wolters, H. ve Jurgens, G. (2009). Survival of The Flexible: Hormonal Growth Control and Adaptation in Plant Development. *Nature Reviews Genetics*, 10, 305-317.
- Xie, X. ve Yoneyama, K. (2010). The Strigolactone Story. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 93-117.

- Yarden, R.I. ve Pollock, C.B. (2013). Abstract 5575: Strigolactones: A Novel Class of Plant Hormones Inhibit Cancer Cell and Cancer Stem-Like Cell Growth and Survival. *Cancer Research*, 73, 8.
- Yoneyama, K., Xie, X., Kusumoto, D., Sekimoto, H., Sugimoto, Y., Takeuchi, Y. ve Yoneyama, K. (2007). Nitrogen Deficiency As Well As Phosphorus Deficiency in Sorghum Promotes The Production and Exudation Of 5-Deoxystrigol, The Host Recognition Signal For Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Root Parasites. *Planta*, 227(1), 125-132.
- Yoshida, S., Kameoka, H., Tempo, M., Akiyama, K., Umehara, M., Yamaguchi, S., Hayashi, H., Kyojuka, J. ve Shirasu, K. (2012). The D3 F-Box Protein Is A Key Component in Host Strigolactone Responses Essential for Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *New Phytologist*, 196, 1208-1216.
- Zeren, İ., Cantürk, U. ve Yaşar, M.O. (2017). Bazı Peyzaj Bitkilerinde Klorofil Miktarının Değişimi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19 (2), 174-182.
- Zwanenburg, B., Mwakaboko, A.S., Reizelman, A., Anilkumar, G. ve Sethumadhavan, D. (2009). Structure and Function of Natural and Synthetic Signalling Molecules in Parasitic Weed Germination. *Pest Management Science*, 65, 478-491.