

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***Verticillium dahliae*'NİN VE TUZ STRESİNİN DOMATES BİTKİSİNİN  
GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Fatma Nurcan YÜCEL**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2008**



Yrd. Doç. Dr. Murat Dikilitaş danışmanlığında, Nurcan YÜCEL'in hazırladığı “*Verticillium dahliae*'nin ve Tuz Stresinin Domates Bitkisinin Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması” konulu bu çalışma 28/11/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

Üye: Prof. Dr. .M.Ertuğrul GÜLDÜR

Üye: Yrd. Doç. Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU

**Bu Tezin Bitki Koruma Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.**

**Prof. Dr. İbrahim BOLAT**  
Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
Proje No: 774

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

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Fungusların yetiştirilmesi.....	14
3.2.2. Spor solusyonunun hazırlanması.....	15
3.2.3. <i>V. dahliae</i> 'nin gelişimi için maksimum tuz konsantrasyonunun belirlenmesi.....	15
3.2.4. Saksı denemesi.....	16
3.2.5. Prolin analizi.....	17
3.2.6. Protein belirlenmesi.....	17
3.2.7. Peroksidaz analizi (POD).....	18
3.2.8. Polifenol oksidaz analizi (PPO).....	18
3.2.9. Katalaz analizi (CAT).....	18
3.2.10. Hastalık belirtilerinin değerlendirilmesi.....	19
3.2.11. Verilerin değerlendirilmesi ve analizlerin yapılması.....	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	21
4.1. <i>Verticillium dahliae</i> İçin Maksimum Tuz Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	21
4.2. Bitki boyu ve Simptom İndex Değerleri.....	22
4.3. Biyokimyasal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	24
4.3.1. Prolin aktivitesinin belirlenmesi.....	25
4.3.2. Protein belirlenmesi.....	26
4.3.3. Enzim aktivitelerinin (POD, PPO, CAT) belirlenmesi.....	27
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	29
5.1. Sonuçlar.....	29
5.2. Öneriler.....	30
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ.....	35
ÖZET.....	36
SUMMARY.....	37

## ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

### ***Verticillium dahliae*'NİN VE TUZ STRESİNİN DOMATES BİTKİSİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Fatma Nurcan YÜCEL**

**Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ  
Yıl: 2008, Sayfa: 37**

Bu araştırma, 2007-2008 yılları arasında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada materyal olarak domates bitkisi, solgunluk fungusu *Verticillium dahliae* ve farklı konsantrasyonlarda NaCl kullanılmıştır. Denemeler saksılarda 3 tekerrülü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Domatesler yetiştirildikten sonra bir gruba kök-daldırma yöntemi ile *V. dahliae* inokule edilmiş, diğer gruba ise fungus ile birlikte 50, 100, 150, 200 ve 250 mM NaCl uygulanmış, kontrol grubu ise sadece fungus ile inokule edilen veya ne fungus ne de tuz ile muamele gören grublardan oluşmuştur. Bitki gelişiminin yanı sıra, biyokimyasal metabolitlerden peroksidaz, polifenoloksidaz, katalaz ve prolin ölçülmüştür. Fungus ile inokule edilen ve artan tuz konsantrasyonlarına maruz bırakılan bitkiler, kontrol grubu bitkilere kıyasla gelişme geriliği göstermiş, buna bağlı olarak biyokimyasal metabolitler de etkilenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** *Verticillium dahliae*, Tuzluluk, Domates, Antioksidant enzimler.

## ABSTRACT

MSc Thesis

### ELUCIDATION OF *Verticillium dahliae* AND SALT ON THE DEVELOPMENT OF TOMATO PLANTS

Fatma Nurcan YÜCEL

Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Protection

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Murat DİKİLİTAŞ  
Year: 2008, Page:37

This research was carried out in 2007-2008 in the laboratories of Faculty of Agriculture in Harran University. In the study, tomato plants, the wilt fungus *Verticillium dahliae* and salt were used as materials. The trial was set up in a randomized block design with three replicates. After the growth of tomato, one group was inoculated with root-dipping method with *V. dahliae* and the other group was inoculated with *V. dahliae* followed by the treatments of various concentrations of NaCl (50, 100, 150 and 200 mM). As control groups only inoculated plants with *V. dahliae* or the plants with no treatment were used. Apart from plant development criteria, some biochemical parameters such as peroxidase polyphenoloxidase, catalase, and proline were measured. Inoculated plants with the fungus followed by exposed to various concentrations of NaCl showed drastic decline in growth parameters and their biochemical parameters were also affected compared to the control groups.

**KEY WORDS:** *Verticillium*, Salinity, Wilt, Tomato.

## TEŐEKKÖR

Öncelikle bu günlere gelmemde en büyük desteği sunan Anne ve Babam'a eşim Engin Yücel'e çalışmalarım boyunca bana destek veren danışmanım Murat Dikilitaş'a, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim üyelerine ve emeği geçen tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 3.1. Farklı tuz konsantrasyonları içeren Dox ortamındaki <i>V. dahliae</i> gelişimi.....	16
Şekil 3.2. Domates bitkilerine <i>Verticillium dahliae</i> inokulasyonu.....	16
Şekil 4.1. Farklı tuz konsantrasyonu uygulanan <i>V. dahliae</i> 'nin koloni çapları ölçüm sonuçları.....	21
Şekil 4.2. a) Artan tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin boy ölçüm değerleri.....	23
b) Artan tuz konsantrasyonlarına ve <i>V. dahliae</i> (Vd) enfeksiyonuna maruz kalan bitkilerin boy ölçüm değerleri.....	23



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 1.1. Sebzelerin tuz toleransı (FAO, 1976; Kotuby ve ark., 1997; Bayraklı, 1998; Kanber ve ark., 1992).....	2
Çizelge 1.2. Toprak tuz düzeylerine Göre (1:1 soil:water; toprak: saf su karışımı) Bitkilerin Duyarlılıkları (Soil Quality Test Kit Quide, 1999).....	5
Çizelge 3.1. Patates dekstroz agar (PDA).....	14
Çizelge 3.2. Czapek dox ortamı (Değiştirilmiş).....	14
Çizelge 4.1. Farklı tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin prolin değerleri.....	25
Çizelge 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarına ve <i>V. dahliae</i> etmenine birlikte maruz kalan domates bitkilerinin prolin değerleri.....	26
Çizelge 4.3. Farklı tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin protein değerleri.....	26
Çizelge 4.4. Farklı tuz konsantrasyonlarına ve <i>V. dahliae</i> etmenine birlikte maruz kalan domates bitkilerinin protein değerleri.....	26
Çizelge 4.5. Farklı tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin enzim değerleri <sup>ab</sup> .....	28
Çizelge 4.6. Farklı tuz konsantrasyonlarına ve <i>V. dahliae</i> etmenine birlikte maruz kalan domates bitkilerinin enzim değerleri <sup>ab</sup> .....	28

## 1. GİRİŞ

*Verticillium* cinsi Melouk (1992)'a göre 1816'da ilk kez tanımlanmış ve Deuteromycotina alt bölümü, Hypomycetes sınıfı içerisine yerleştirilmiştir. *Verticillium dahliae* Kleb. en yaygın olarak bilinen toprak kökenli fungal hastalık etmenidir. 40 farklı familyadan 160 bitki türünü hastalandırabilir. Etmenin yaşamı dormant, parazitik ve saprofitik dönemlere ayrılabilir. Enfeksiyona neden olan mikrosklerotlar ve hifsel gelişimler, kötü çevre koşullarında toprak ve bitki artıklarında dormant olarak 14 yıl gibi uzun bir süre canlılığını koruyabilir (Isaac,1967). Özellikle toprakta potasyum eksikliğinde şiddeti ağır olmaktadır. *V. dahliae* 25-28°C gibi yüksek sıcaklıklarda iyi gelişme göstermektedir. Rizosferde bulunan bu propagüller, kök salgıları ile çimlenmeye teşvik edilir. Ortalama 16 saat sonra mikrosklerotlardan çıkan hifler bitki köklerini enfekte ederler. Bitkiye genellikle kök ucundan giriş yapar, kök meristemine giren fungus hem hücre içi hem de hücreler arasında ilerleyerek merkezi silindire yönelir ve ksilem borularına ulaşır. Ksilem istilasından sonra üretilen konidiler ksilem akımı içinde bitkinin tüm diğer kısımlarına taşınır. *V. dahliae* floeme geçiş yapmaz ancak enfekteli ksilem borularında jel, sakız ve tylose gibi madde ve yapılar oluşturarak tıkanmasına sebep olur. Özellikle kurak koşullarda yapraklar pörsüyerek solarlar, alt yaprakların uç kısımları sararır ve bitki boylarında farklılıklar görülür. Genellikle yaprakların bir tarafı yeşil kalırken diğer yarısı solmuş olarak görülür. Alt yaprakların tamamı kurduğundan dolayı verimi büyük ölçüde düşürmektedir.

*V. dahliae* ile infekteli bitki organları ölmeye başladıklarında, bu organlarda fungusun dinlenme yapıları oluşmaya başlar. Gövde enine kesilirse iletim demetleri kahverengi noktalar halinde görülür. *V. dahliae* fungusun solgunluk oluşturmasının nedeni patojenin ksilem dokusunda yoğun olarak kolonize olması ve bitkinin, patojenin ilerlemesini engellemek için tylose oluşturması nedeniyle ksilemin tıkanarak besin maddelerinin engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Yaprak dokusunda meydana gelen kurumalar ise daha çok patojenin salgıladığı toksik maddelerden ileri gelmektedir. Hastalık etmeni bir toprak patojeni olması nedeniyle kimyasal mücadele olanağı yoktur (Milton ve ark., 1971).

Domates seralarda yetiştirilen ürünler arasında en başta yer almaktadır. İnsan sağlığı açısından yararlı olan antioksidant bileşikleri, vitaminleri ve mineralleri önemli

ölçüde içerdiği için domates pek çok ülkede günlük yemeklerin temel içeriğini oluşturmaktadır. Sera yetiştiriciliğinde gerek kalitesi düşük suların kulamı gerekse topraksız tarım tekniğinde besin çözeltilisinin çevirimi sonucu tuzluluk sorunları ortaya çıkmaktadır. Tuzluluk ise belirli bir düzeyden sonra verimde düşümlere neden olmakta ve iyi yönetilmemesi durumunda sürdürülebilir tarımı engellemektedir. Çizelge 1.1.'deki değerler tuz konsantrasyonundaki artma ile verim azalması arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu varsayılarak geliştirilmiştir.

Çizelge 1.1. Sebzelelerin tuz toleransı (FAO, 1976; Kotuby ve ark., 1997; Bayraklı, 1998; Kanber ve ark., 1992)

Bitki Çeşidi	Eşik Değer		Verimdeki Azalma (%)					
	ECe (dS/m)	ECw (dS/m)	10		25		50	
			ECe (dS/m)	ECw (dS/m)	ECe (dS/m)	ECw (dS/m)	ECe (dS/m)	ECw (dS/m)
Domates	2.5	1.7	3.5	2.3	5	3.4	7.6	5

Tuzluluk; özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanarak yeraltı suyuna karışan çözünebilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapilarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun topraktan ayrılarak tuzun toprak yüzeyinde ve yüzeye yakın bölümünde birikmesi olayıdır (Ergene, 1982; Kwiatowsky, 1998, Kara, 2002 ).

Tuzlulukla ilgili çalışmalardaki ana düşünce, tuzluluğun tüm canlı yaşamına olan etkisinin anlaşılmasını sağlayarak, yaşamın hangi ölçü içinde tuzluluktan etkilenmediğini ortaya koymaktır. Toprağın tuzluluğunun artması nedeniyle yaşamını tarıma bağlamış sayısız uygarlığın yok olduğunu tarih içerisinde anımsarız. Günümüzde en yeni ve çağdaş toprak, su, bitki ve çiftlik işletmeciliği tekniğine karşın tuzluluk nedeniyle tarım dışı kalmış alanlar oldukça yaygındır. Türkiye'de yaklaşık 1.5 milyon hektarda tuzluluk ve alkalilik sorunu bulunmaktadır. Bu, sulamaya uygun arazilerin yaklaşık % 32.5'ine denktir. Toprakların tuzlulaşma ve alkalileşmesini sulama, drenaj toprak özellikleri ve iklim etmenleri gibi etmenler önemli ölçüde etkilemektedir. FAO'nun tahminlerine göre, sulanan alanların yaklaşık yarısı "sessiz düşman" olan tuzluluk, alkalilik ve yüzeyde göllenme tehdidi altındadır (Kanber ve ark., 2005). Tuzluluk nedeniyle bitkisel üretimin ya da verimin düşmesinde bitkilerin, tuz düzeyi

sürekli artan çevreye uyum gösterememeleri ana etmen olmaktadır (Kanber ve ark., 1992).

Ülkemiz genelinin içinde bulunduğu sıcak ve kuru iklim koşulları, tuzluluk ve çoraklığın oluşumu için ideal ortamı oluşturmaktadır. Düşük yağış miktarı ile eriyen tuzlar, fazla sıcaklığın etkisi ile bitkilerin etkin olarak kullandığı alanlarda çökmekte veya toprak yüzeyinde birikerek tuz tabakaları oluşturmaktadır. Çözünabilir tuzlar, bitkiler tarafından kolayca alınabilirler. Bitki bünyesine giren tuz bileşikleri çeşidine ve miktarına göre belli bir konsantrasyonu aşınca bitkiye zararlı olmaktadır. Bitki üzerine, beslenme ve metabolizmayı bozmak yoluyla zehirleyici etki yaparlar. Ayrıca toprakta tuz konsantrasyonunun artmasıyla, bitkinin topraktan su alımı güçleşmekte, toprağın yapısı bozularak bitki gelişimi yavaşlamakta, hatta durmaktadır (Kanber ve ark., 1992; Güngör ve Erözel, 1994). Toprak içerisinde yeterli miktarda su bulunmasına rağmen bazı koşullar altında bitkilerin solmaya başladıkları görülmüştür. Bu durum genellikle yüksek toprak tuzluluğunun yarattığı "fizyolojik kuraklık" durumundan kaynaklanmaktadır. Fizyolojik kuraklık durumunda yüksek ozmotik basınç nedeniyle bitki kökleri topraktaki mevcut suyu alamamaktadırlar (Ayyıldız, 1990).

Bitki yetiştirme ortamındaki fazla tuz bitkinin gelişmesini önemli ölçüde sınırlar. Tuzlar bitki büyümesine üç şekilde etki ederler;

Fiziksel etki; Ozmotik basıncın yükselmesi sonucu bitkinin su alımı ve dolayısıyla beslenmesi yavaşlar veya tamamıyla durur. Bitki su alımında güçlük çeker. Buna ozmotik basınç etkisi de denir.

Kimyasal etki; Bir kısım tuzlar, bitki besin maddelerinin alımını zorlaştırıp, metabolizmayı bozarak bitkinin bünyesine zarar verirler. Buna özel iyonların toksisitesi de denir.

Dolaylı Etkiler; Tuzluluk veya sodyumluluğun toprak üzerinde meydana getirdiği değişiklikler, bitkilerin gelişmesine etki eder. Örneğin su alımının sağlanması için metabolik enerjinin kullanılması ve verimde düşme meydana gelmesidir (Ekmekçi ve ark., 2005).

Bitki hücrelerinin yarı geçirgen zarları, bitki besin maddelerini alırken sınırlı bir osmotik basınca sahiptir. Dış ortamdaki tuz yoğunluğunun bunun üzerinde olması

halinde, toprak çözeltisinden bitkiye doğru olan besin maddeleri akımı tersine döner, bitkiden toprağa doğru yönelir, bunun sonucu olarak bitkiler ölür. Kök bölgesinde tuz yoğunluğunun artması sonucu, bitkilerin kök bölgesindeki mevcut sudan yararlanabilme kapasiteleri çok azalır. Ortamda su olmasına rağmen bitkiler susuzluktan ölür. Bitki kök hücrelerinin plazmalarında çatlama, devamında plasmolis olayı ve ölümler meydana gelir.

Toprak suyu tuzluluğunun bitki gelişmesi üzerindeki zararlı etkileri;

- ✓ Yavaş ve yetersiz çimlenme,
- ✓ Fizyolojik kuraklık, solma ve kuruma,
- ✓ Bodurluk, küçük yapraklar, kısa gövde ve dallar,
- ✓ Mavimsi yeşil yapraklar
- ✓ Çiçeklenmenin gecikmesi, daha az çiçek açma ve tohumların daha küçük olması,
- ✓ Tuza dayanıklı yabancı otların gelişmesidir.

Toprak suyu tuzluluğunun bitkideki hormon dengesine etkileri;

- ✓ Oksinler: Tuzlu koşullarda azalır.
- ✓ Giberellinler: Tuz stresi altında oldukça azalır.
- ✓ Sitokininler: Tuz stresi altında yapraklardaki sitokinin seviyesi düşür.
- ✓ Etilen: Tuz stresi altında hemen artar. Bu olay bitki dokularını olumsuz etkiler ve bitkinin hastalıklardan kolay etkilenmesine neden olur.
- ✓ Absisik asit: Tuz stresi altında hemen artar.

Tuz stresi altında makro ve mikro besinlerin alınımı; Tuz stresi besin maddelerinin alınımına, rekabetine, taşınmasına etki etmektedir. Örneğin tuz fosfor (P) alınımını azaltmaktadır. Kalsiyum alınımını ise yalnızca azaltmakla kalmayıp bitkide taşınması ve hareketlerini de etkilemektedir. Tuz stresi altında, sodyumun (Na) potasyumun (K) alınımını azaltması ve klorun (Cl) nitrat (NO<sub>3</sub>) alınımını azaltması gibi besin maddelerinin alınımı da doğrudan etkilenir (Kotuby ve ark., 1997).

Bütün kültür bitkileri belli düzeylerdeki tuzluluğa karşı duyarlıdır. Bitkinin tuzluluğa duyarlı olmasının anlamı, düşük tuzluluk düzeylerinde dahi çözelti içerisinde oluşan ozmotik basınç değerlerinin bitki kökleri tarafından karşılanamamasıdır. Toprak tuz düzeylerine göre bitkinin dayanıklılıkları Çizelge 1.2.'de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Toprak tuz düzeylerine göre (1:1 soil:water; toprak:saf su karışımı) Bitkilerin duyarlılıkları (Soil Quality Test Kit Guide, 1999)

Tuzluluk (EC <sub>e</sub> , dS/m)	Bitki Tepkisi
0-0.98 Çok az tuzlu	Tuzluluk etkisi çoğunlukla ihmal edilebilir
0.98-1.71 Az tuzlu	Çok duyarlı bitkilerin ürün verimleri düşebilir
1.71-3.16 Tuzlu	Birçok bitkinin ürün verimi düşer
3.16-6.07 Çok tuzlu	Tuza dayanıklı bitkiler normal ürün verebilir
> 6.07 Aşırı tuzlu	Tuza çok dayanıklı birkaç bitki ürün verebilir

Tarımı yapılan kültür bitkilerinin tümü, tuzluluğa karşı aynı tepkiyi göstermezler. Bazı bitkiler tuzluluğa karşı daha hassas iken, bazı bitkiler daha dayanıklıdır. Dayanıklı bitkiler, tuzlu topraklarda su gereksinimlerini karşılamak amacıyla ozmotik etkiye karşı daha fazla güç geliştirebilen bitkilerdir. Bitkinin tuza dayanımlarının incelenmesi, özellikle toprak tuzluluğunun belirli bir düzeyin altına düşürülemediği alanlarda, ekonomik düzeyde ürün verebilecek bitkilerin seçilerek yetiştirilmesi amacıyla önemlidir (Kotuby ve ark., 1997).

Bitkiler biyotik veya abiyotik herhangi bir stres faktörü ile karşılaştıklarında biyokimyasal ve fizyolojik olarak bazı tepkiler göstermekte, bazı kimyasal bileşikler sentezlenmektedirler. Bitkilerin savunma mekanizmasında görev alan çeşitli enzimler sentezlenmekte ve gerekli durumlarda bitkiyi korumaktadır. Enzimler, stres ortamları olmadığı durumlarda bitkilerde büyüme ve hayat olaylarını düzenleyici role sahiptirler. Bununla birlikte, stres koşullarında ise bitkinin savunmasını üstlenirler. Tuz, kuraklık, pestisit, fungus, vb. gibi stres koşullarında bitkiler tarafından bazı enzimler salgılanır ve bitki bünyesindeki miktarları artırılır veya azaltılır (Lee ve ark. 1991; Fujita ve ark. 1991).

Son yıllarda tuzluluk sonucu oluşan biyokimyasal tepkiler yoğun olarak araştırılmaktadır. Bitkilerin tuzluluk ve diğer stres koşullarına göstermiş olduğu tepki mekanizmalarının anlaşılması halinde tuzlu koşullara adapte olabilen yeni çeşitler tespit edilecek; bu ise tarımsal açıdan olumlu ve önemli bir gelişme olacaktır.

Bu çalışma ile domates bitkisinde tuzluluk ve tuzluluk + fungus kombinasyonları gibi biyotik ve abiyotik stres koşullarında biyokimyasal faaliyetler incelenmiştir. Patojenlerin bitkileri enfekte edebilmek için geliştirdikleri uygun saldırı stratejilerine karşılık bitkinin savunma mekanizması tuz uygulamasıyla uyarıldığı zaman, patojen saldırısına karşı domates bitkisinin savunma mekanizmasında nasıl bir tepkiye neden olduğu araştırılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Banihashemi ve Saadatmand (2006), sera koşullarında (18-23°C) fındık ağaçlarında tuz ve su stresinin etkisini araştırdıkları çalışmada, üç farklı tuz konsantrasyonu ile sulama yapmışlardır. 0, 1200, 2400 mg NaCl/kg toprak şeklinde uygulama yapılmıştır. Su stresi için 3, 7 ve 14 sulama aralıklarında su verilmiştir. İki farklı fındık türü kullanılmıştır. Ayrıca infekteli toprak 50g *V. dahliae* mikrosklerotu içermiştir. Sekiz haftalık fındık fideleri infekteli ve infektesiz toprağa transfer edilmiştir. Önce tuz stresine daha sonra su stresine maruz bırakılmıştır. Tuz stresinde bitkide *V. dahliae* kolonileri, Azot (Na<sup>+</sup>), Potasyum (K<sup>+</sup>) ve Klor (Cl<sup>-</sup>) konsantrasyonu artmıştır. Sulama aralıklarının artmasıyla tuz zararı ve hastalık gelişiminin azaldığını bildirmişlerdir.

Venter (1994), 10 yıllık turunçgil bahçesine Symbex uygulaması yapılmıştır. Uygulamadan 3 ay sonra ağaçlardan toprak ve yaprak örneği alınmıştır. Uygulamadan sonraki örneklerde kontrol olarak bırakılan alandaki ağaçlarda daha az Fosfor (P) çıkmıştır. Tuzlu topraktaki Azot (Na) miktarının bitmek üzere olduğu belirtilmiştir.

Levin ve ark. (2003), *V. dahliae*'nin epidemiyolojisi ve tarla üzerindeki etkisinin görülmesi için 3 yıl 3 farklı zeytin bahçesinde çalışmışlardır. Öncelikle *V. dahliae*'ye hassas konukçu türleri seçilmiştir ve tuzlu su ile sulama yapılmıştır. Verilen suyun tuz konsantrasyonu 4.2 dSm<sup>-1</sup> dir. Simptom gösteren ağaçlardan *V. dahliae* izolasyonu yapılmıştır. 2 hafta 25°C de inkubasyona bırakılmıştır. Hastalık şiddeti mevsimsel değişiklik göstermiştir. 2001 yılı kış-sonbaharda hastalık şiddeti artmıştır. En yüksek izolasyon oranı %34 kış ayında ve %45 sonbaharda alınmıştır. Simptom gösteren ve göstermeyen ağaçlara göre sağlıklı ağaçlarda ağaç başına %46-48 kg verim gözlenmiştir. Hastalıklı ağaçlarda ise %6-13 kg ağaç başına meyve alınmıştır. Hastalıklı ve sağlıklı ağaçlar arasındaki verim farkı 18 kg'dır. Meyve veriminde %89 azalma gözlemlenmiştir.

Ünlükara (2004), domates bitkisinin farklı bitki gelişme dönemlerinde tuzlu sulama sularıyla yapılan sulamalara karşı tepkisini belirlemek amacıyla yaptığı bu çalışmada 2 ayrı tuz karışımı (NaCl+CaCl<sub>2</sub> ve KCl+CaCl<sub>2</sub>) kullanarak 2.5 ds/m ve 5.0



ds/m elektrisel iletkenlik düzeylerinde hazırlanan tuzlu sular uygulamıştır. Deneme süresince meyve ağırlığı, meyve boyu ve çapı, her bir gelişme dönemi sonunda bitki boy ölçümleri yapılmış ve hasatta ise bitki yaş ağırlıkları, yaprak alanları belirlenmiş, yapraklarda ve meyvelerde N, P, K, Ca, Mg, Na, ve Cl analizleri yapılmıştır. Denemenin her 2 yılında da çiçeklenme ve sonrada meyve olum dönemi tuzlu su uygulamalarında verimde önemli azalmalar belirlenirken, fide döneminde verim azalması daha az olmuştur. Kontrol konusuna göre sırayla fide, çiçeklenme ve meyve olum dönem tuzluluklarında; 1.yıl %84.7, %53.2 ve %67.4 ve 2.yıl %67.4, %30.1 ve %51.4 düzeylerinde verim alınmıştır. Konular arasında bitki boyu, yaş bitki ağırlığı ve yaprak alanlarında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir.. Meyve sayısı, ortalama meyve ağırlığı, meyve boyu ve çapı her 2 yılda da önemli değişiklikler göstermiştir. Yapraklarda N birikimi yalnızca 1.yılda bitki gelişme dönemlerine göre farklılık gösterirken, P birikimi her 2 yılda yüksek tuzlulukta azalmıştır. Potasyum en fazla çiçeklenme dönemi tuzluluğunda birikirken bu dönemde en az Ca ve Mg birikimi gerçekleşmiştir. Meyve olum dönemi tuzluluğunda yapraklarda Cl birikiminin yüksek olduğu belirlenmiştir. Meyvelerde N birikimi 1.yıl çiçeklenme 2.yıl meyve olum döneminde, P ve K birikimi çiçeklenme döneminde Na ve Cl birikimi meyve olum döneminde en fazla olduğunu belirtmiştir.

Hanson ve ark. (2005), bu çalışmada, büyüme ortamındaki 0, 2, 4, 6, 8 ve 10m Barlık osmotik basınçların mısır, yonca ve mavi ayrık gibi bitkilere ait çeşitleri erken gelişme döneminde çimlenme hızı ve gücü, kök uzunluğu ve fide boylarına etkisini incelemiştir. Sonuçlar, çimlenme hızı ve gücü açısından yoncanın en yüksek değerlere ulaştığını, bunu mısır çeşitlerinin izlediği ve mavi ayrığın en düşük değerlere sahip olduğunu göstermiştir. Kök uzunluğu ve fide boyu bakımından ise mısır çeşitlerinin en yüksek değerlere sahip olduğu saptanmış, buna karşılık mavi ayrığın 6 mBar'dan sonraki tuz (NaCl) yoğunluğunda bu karakterler açısından herhangi bir gelişme kaydedilmediğini bildirmişlerdir.

Katerji ve ark. (2003), tuzluluğun bitkilerin bütün gelişim periyodu boyunca yaprak alanı, kuru madde gelişimi ve verimi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, tuzluluğun bitkilerde su kullanımını, yaprak su potansiyelini, stoma hareketliliğini, evaporasyonunu, yaprak alanı ve verimi azalttığını belirtmektedirler.

Sönmez ve Yurtseven (1995), domates bitkisinde farklı gelişme dönemlerinde farklı tuzluluk düzeyinin etkisini araştırmışlardır. Gerek tuzluluk gerek SAR düzeyinin artması çimlenme oranlarını azaltmıştır ve 10 dS/m düzeyinde çimlenme olmamıştır. Fide gelişimi üzerine ise 4 dS/m'nin üzerindeki tuzluluk düzeyleri olumsuz etki yapmıştır. Çalışmalar sonunda ilk yıl verim değerlerinin ele alınan tuzluluk ve SAR değerlerinden etkilenmediği gözlenirken, ikinci yıl verim değerleri üzerine tuzluluğun etkisi önemli olmuştur. Üçüncü yıl verim değerleri üzerine tuzluluğun etkisinin daha büyük oranda olduğunu bildirmişlerdir.

Rhoades ve ark. (1992), tuz toleransı verilerinin her yerde tuzluluktan kaynaklanan verim kayıplarını doğru ve ölçülebilir şekilde sağlayamayacağını çünkü tuzluluğa karşı bitkinin gerçek tepkisinin iklim ve toprak şartları, tarımsal yönetim ve sulama yönetimi, bitki çeşidi ve gelişme dönemi gibi çeşitli şartlarla değişim göstereceğini bildirmişlerdir.

De Hayr ve ark. (1997), tarafından yapılan bir çalışmada, sulama suyu tuzluluğunun yıkama oranının 2.2 katına bölünmesiyle bulunan ortalama kök bölgesi tuzluluğu (EC<sub>se</sub>) terimi ortaya atılmış ve bu terime göre domateste eşik tuzluluk düzeyinin kumlu topraklarda 3.5 dS m<sup>-1</sup>, tınlı topraklarda 2.0 dS m<sup>-1</sup> ve killi topraklarda 1.2 dS m<sup>-1</sup> olduğunu saptamışlardır.

Sulama suyu tuzluluğunun CO<sub>2</sub> ile birlikte bitki büyüme, gelişme, verim ve meyve kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, yüksek CO<sub>2</sub> ve düşük EC uygulamasının, serada yetiştirilen domates bitkisinde, su ve ışık kullanım etkinliğini, fotosentez ve fotoassimilat birikimini artırmasına karşılık fazla su alımı nedeniyle meyve kalitesinin olumsuz yönde etkilendiği ve meyvelerde çatlamaya karşı hassaslığın arttığı bildirilmiştir. Yüksek CO<sub>2</sub> ve yüksek EC uygulanması durumunda ise; meyve kalitesi olumlu yönde etkilenecek, meyve renk indisi, toplam şeker, çözünebilir katılar ve olgunlaşmış meyvelerde pürüzsüzlük artmıştır. Böylece söz konusu araştırmada, tuza toleranslı bitkilerde CO<sub>2</sub>' e verilen bu tepkiden yararlanarak, tuzluluktan kaynaklanan verim kayıpları olmaksızın yüksek kalitede meyve üretiminin mümkün olabileceği bildirilmiştir (Dorais ve ark. 2001).

Mittova ve ark. (2004), domates bitkisi *Lycopersicon esculentum* ve domates bitkisi yabancı türü olan *Lycopersicon pennellii* (Lpa) de tuzluluğun antioksidatif sisteme etkisi üzerinde çalışılmıştır. Bitkiler serada 30/20°C (gündüz/gece) yetiştirilmiştir. Bitkilere tuz uygulaması 4 yapraklı dönemde iken başlanmıştır ve 25 mM dan 100 mM a kadar tuz konsantrasyonları direk olarak yapraklara uygulanmıştır. 14 gün sonra bitki köklerinden mitokondria ve peroksisom izole edilmiştir. *L. esculentum* mitokondrisinde tuz stresi lipid peroksidasyon ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyesini arttırarak oksidative sebep olmuştur. Bu değişimler glutathione (GSH) ve ascorbate (ASC)'yi de içine alan guaiacol peroksidaz (POD) ve superoksit dismutase (SOD) nin birlikte hareketini azaltmıştır. Tuza maruz bırakılmış *L. pennellii* bitkilerinin köklerinden izole edilen mitokondride lipid peroksidasyon ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyeleri düşmüş ve SOD, ascorbate peroksidaz (APX) ve katalaz aktiviteleri yükselmiştir. Tuz stresinde *L. esculentum* peroksisom'da antioksidasyon enzimleri aktivitelerinin düşmesine rağmen oksidative stresin diğer organellerde kesinlikle görülmediği bildirilmiştir.

Besri (2006), tuzlu su ile sulama yapılan domates bitkisinde *Verticillium* a tuzun etkisini çalışmıştır. *Verticillium* solgunluğu (*Verticillium dahliae*) özellikle plastik tünellerde yetiştirilen domateslerde ciddi bir problemdir. Toprak ve sulama suyu tuzluluğunun bitki hassasiyeti ve patojen virülensliği üzerinde etkisi çok fazladır. Tuz miktarı arttığında fungusun mikrosklerot ve konidi sayısı artmaktadır. Patojen miselial bir büyüme göstermektedir. Tuzlu su ile sulanan domates fideliklerindeki bitkiler tuzsuz su ile sulanan domates fideliklerindeki bitkilere göre patojene karşı daha hassastır. Patojene dayanıklı domates bitkisi ırk 1 tuzsuz toprakta ve suda patojen tarafından inokule edilmiştir ve hiçbir simptom göstermezken tuz ilave edilip sulama yapıldığında patojene dayanıklı domates çeşidi olan ırk 1 daha hassas hale geldiğini kaydetmişlerdir.

Delamor ve Martinez (2001), domates bitkisi tuz toleransının bitki gelişim dönmelerde etkisini araştırdıkları çalışmada serada perlit kültür ortamında yetiştirilen domateslere hafif tuzlu su kullanılarak sulama yapılmıştır. Bitkilere uygulanacak besin solüsyonları 0, 20, 40 ve 60 mM NaCl içermektedir. Üç farklı büyüme evresinde üç farklı yüksek tuz uygulaması yapılmıştır. Bu evreler, vejetatif büyüme erken dönem [bitkinin tarlaya şaşırtılmasından 16 gün sonra(DAT)], çiçeklenme başlangıcı (36 DAT)

ve meyve gelişimi başlangıcı (66 DAT). Tuzluluk uygulaması domates bitkisinin ileri dönemlerinde yapıldığında bitkinin tuz toleransı artmıştır. Özellikle tuzluluk meyve sayısı ve büyüklüğünü azaltmıştır. Fakat şeker ve toplam çözünebilir katı madde içeriği arttığı için meyve kalitesi artmıştır. Tuzluluk derecesi arttıkça özellikle yaprak ve meyvede kalsiyum ve potasyum konsantrasyonları azalmıştır. Tuz konsantrasyonu ve etkisi sürekli olarak dikkatlice gözlenir ve uygulanırsa çok az ürün kayıplarıyla domates bitkilerine hafif tuzlu su uygulamanın mümkün olacağı bildirilmiştir.

Asins ve ark. (1992), tarafından yapılan çalışmada bitkilerin ürün döneminde farklı NaCl konsantrasyonlarıyla (171.1 ve 325.1mM) 11 farklı cinslerin (*L. esculentum*, *L. cheesmanii*, *L. chmielewski*, *L. peruvianum* ve *L. pimpinellifolium*. 4 tane *L. pimpinellifolium* ve 2 tane *L. cheesmanii* ) analizi yapılarak tuz toleranslarını belirlemiştir. Öncelikle 171.1 mM NaCl ve daha sonra 325.1mM NaCl uygulaması yapılmıştır. Tuz uygulamasının sebep olduğu gen değişiklikleri *L. esculentum* ve *L. pimpinellifolium*'un bir tanesinde anther ve yaprak zymogramlarının, ve bütün çeşitlerde yaprak proteinogramları üzerinde tuz toleransı çalışılmıştır. Özellikle yapraklardaki değişimler PRX ve MHD enzimatik sistemlerle belirlenmiştir. Tuza hassas *L. esculentum* genotipi başta olmak üzere *L. cheesmanii* türlerine uygulanan 171.1 mM NaCl uygulaması sonunda peptidlerden bir tanesinde moleküler ağırlığı diğerlerinden yüksek olan 2'ye karşı polyclonal antibody yükseldiği bildirilmiştir.

Triky-Dotan ve ark. (2005), tuzlu su ile sulama yapılan domateste, kök çürüklüğü hastalığı, hastalığın canlı organlarda oluş derecesini ve şiddetini çalışmıştır. Domates fideleri tarlaya şaşırtılırken *Fusarium oxysporum* f. sp. *racidis-lycopersici* ile inokule etmişlerdir. Bu bitkiler tuzlu su ile sulandıklarında hastalığın şiddeti artmıştır. Birinci tarla denemesinde parsellere tuzlu su ile sulama yapılmış (elektriksel iletkenlik [EC]=3.2+-0.1dSm<sup>-1</sup>) hastalık oluş derecesinin %75 olduğu görülmüştür. Normal su ile sulama yapılan parsellerde ise hastalık oluş derecesi %38 dir. Tuzlu su (EC=0.4+-0.1dSm<sup>-1</sup>) ile sulama yapılan parsellerde verim düşmüş ve hastalık başlangıcı erken dönemde görülmüştür. Tuzlu su ile sulama yapılan (EC=4.6+- 0.1dSm<sup>-1</sup>) ikinci bir tarla denemesinde ise tohum ekimin den 250 gün sonra hastalık son oluş derecesi %12 dir.

Normal su ile sulama yapılan ( $EC=1.2+0.1dSm^{-1}$ ) bitkilerde ise %4 tür. Tuzlu su ile sulama yapılan bitkilerde hastalığın etkisinin arttığı belirtilmiştir.

Demiral ve ark. (2005), tuzluluğun iki farklı arpa çeşidinde (Kaya ve Scarlet) gelişim, kimyasal içerik, superokside dismutase (SOD) ve peroksidase (POX) aktiviteleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Tuz uygulaması, Kaya çeşidine kıyasla  $Na^+$  ve  $Cl^-$ 'nin köklerden alınıp yapraklara taşınması Scarlet çeşidinde daha fazla sınırlandırılmıştır. Tuz stresi altında genel olarak Scarlet çeşidi Kaya'ya göre daha yüksek miktarlarda klorofil üretmiştir. Ayrıca çeşitlerin (POX) aktivitelerinin,  $20 dSm^{-1}$  tuz düzeyine kadar azaldığını ve daha sonra arttığını belirtmişlerdir.

Yakıt ve Tuna (2006), tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine (membran geçirgenliği, nispi su içeriği, prolin, klorofil ve karotenoid miktarları ile yaprak ve köklerde makro elementler) kalsiyum (Ca), potasyum (K) ve magnezyum'un (Mg) etkilerini araştırmışlardır. Mısır bitkisine tuz ilave olarak verilen kalsiyum, magnezyum ve potasyumlu bileşikler membran geçirgenliği ve bağlı su içeriği üzerine iyileştirici etki yaptığını, tuzun olumsuz etkilerini kısmen hafiflettiğini, proline oranının tuz uygulamasıyla beraber arttığını, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarının tuz uygulamasından olumsuz etkilendiğini tespit etmişlerdir. Ancak besin çözeltisine ilave edilen kalsiyum, magnezyum ve potasyumlu bileşiklerin tuzun olumsuz etkisini kısmen hafiflettiğini, buna karşılık kontrol ve tuz grubuna göre iyileştirici etki yaptığını belirtmişlerdir.

Gadallah (1999), baklagil bitkilerini (*Vicia faba* L.sp. *Calvor* 103)  $NaCl$  ve  $CaCl_2$  ile ozmotik potansiyeli 0'dan 1.2 Mpa'ya kadar çıkarılan toprak konsantrasyonlarda tuz stresine tabii tutmuş, ayrıca proline ( $8.7 \mu M$ ) ve glycinebetaine ( $8.5 \mu M$ ) çözeltileriyle sprey edilmiştir. Baklaların yaprak su içeriğindeki ozmotik potansiyeli artan toprak tuzluluğuna bağlı olarak azalma gösterdiğini ve bunun bir çeşit tepki olduğunu belirtmişlerdir. Tuzluluğun, kuru ağırlığı, klorofil içeriğini, çözülebilir ve hidrolize edilebilir şeker içeriğini ve çözünebilir protein içeriğini azalttığını, toplam serbest amino asit içeriğini,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  ve  $Cl^-$  iyonlarını ise arttırdığını belirtmiştir.  $K^+/Na^+$  oranının tuzluluk ile birlikte arttığını saptamıştır.  $51^\circ C$ ' de tuz stresi altındaki bitkilere ait yaprak

diski zarlarının tuz stresi altında olmayan bitkilerden daha az stabil olduğunu saptamıştır. Proline ve glycinebetaine uygulaması membran zedelenmelerini azaltmış, K<sup>+</sup> alımı ile büyümeyi olumlu yönde etkilemiş ve her iki maddenin de klorofil içeriği artmış olarak tespit edilmiştir.

Serada saksılarda yapılan bir çalışmada 0.25, 2.5, 5.0 ve 10 dS m<sup>-1</sup> düzeylerinde tuzlu sulama sularıyla domates yetiştirilmiş ve tuzluluğun artmasıyla birlikte verimde düşüşler belirlenmiştir. Tuzluluğun 0.25 dS m<sup>-1</sup> den 10 dS m<sup>-1</sup> ye yükseltilmesi bitki başına verimin 1830 gramdan 268 grama düşüşüne neden olmuştur (Yurtseven ve ark., 2005). Söz konusu çalışmada tuzlulukla birlikte verim düşüşlerinin 2.5 dS m<sup>-1</sup> sulama suyu tuzluluk düzeyinden itibaren görüldüğü belirtilmiştir. Hoffman ve ark. (1992) saturasyon çamuru tuzluluğuna yani toprak tuzluluğuna (EC)'göre domates için eşik tuzluluk düzeyinin 2.5 dS m<sup>-1</sup>, eşik sonrası verim düşüşünün ise saturasyon çamuru tuzluluğunun birim artışı için %9.9 olduğunu saptamış ve domatesin tuzluluğa karşı orta derecede duyarlı bir bitki olduğunu belirtmiştir. Shalhevet ve Yaron (1973) suni olarak tuzlandırılmış saksılarda yetiştirilen endüstriyel domateslerin verimlerinde 2.0 dS m<sup>-1</sup> saturasyon çamuru tuzluluğundan sonra her 1.5 dS m<sup>-1</sup> artış için %10 düşüş olduğunu belirlemişlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

2006-2007 yıllarında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde yürütülen çalışmada bitki materyali olarak domates (*L. esculentum*) ve fungus olarak pamuktan izole edilmiş *V. dahliae* izolatu kullanılmıştır. Laboratuvar ortamındaki çalışmalar için PDA (Patates Dextrose Agar) ve 5 farklı NaCl konsantrasyonu (0, 50, 100, 150, 200 ve 250 mM) kullanılmıştır. Bitkiler 10 lt'lik saksılarda 23°C' de 16 saat aydınlıkta ve 8 saat karanlık iklim odasında yetiştirilmiştir.

Çalışma, tesadüf blokları deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Fungusların yetiştirilmesi

Çizelge 3.1. Patates dekstroz agar (PDA)

İçerik	Konsantrasyon (g/l)
Kabuğu soyulmuş, doğranmış patates	200
Glukoz	20
Oxoid Agar No:3	20

200 g soyulmuş patates küçük parçalara ayrılmış ve 1000 ml'lik saf su ile 30 dakika kaynatılmıştır. Elde edilen püre steril tülbentten (Calbiochem) süzülüş ve 20g glukoz süzüğe eklenmiştir (Çizelge 3.1). Bu ortam 250 ml hacime 6.25 g agar (Difco) içeren (%2.5 w/v) 4 adet 500 ml'lik konik beherlerin her birine aktarılmıştır. Bu ortam 121°C'de 20 dakika (2.68 kg/cm<sup>2</sup> basınçta) otoklavlanarak 12 Petri kabına dökülmüştür.

Çizelge 3.2. Czapek dox ortamı (Değiştirilmiş)

İçerik	Konsantrasyon (g/l)
Sukroz	30
NaNO <sub>3</sub>	2
KCl	0.5
Magnezyum gliserofosfat	0.5
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.01
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.35
Difco Agar	25

Czapek Dox ortamınının içeriğinde bulunan yukarıdaki elementler damıtılmış az hacimli bir suda çözdürülmüş ve bu hacim 1 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu ortam 250 ml'lik 6.25 g Difco agar içeren 4 adet 500 ml'lik konik beherlerin her birine aktarılmıştır. Bu ortam 121°C'de 20 dakika (2.68 kg/cm<sup>2</sup> basınçta) otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Her bir beherden elde edilen bu ortam 12 Petri kabına dökülmüştür.

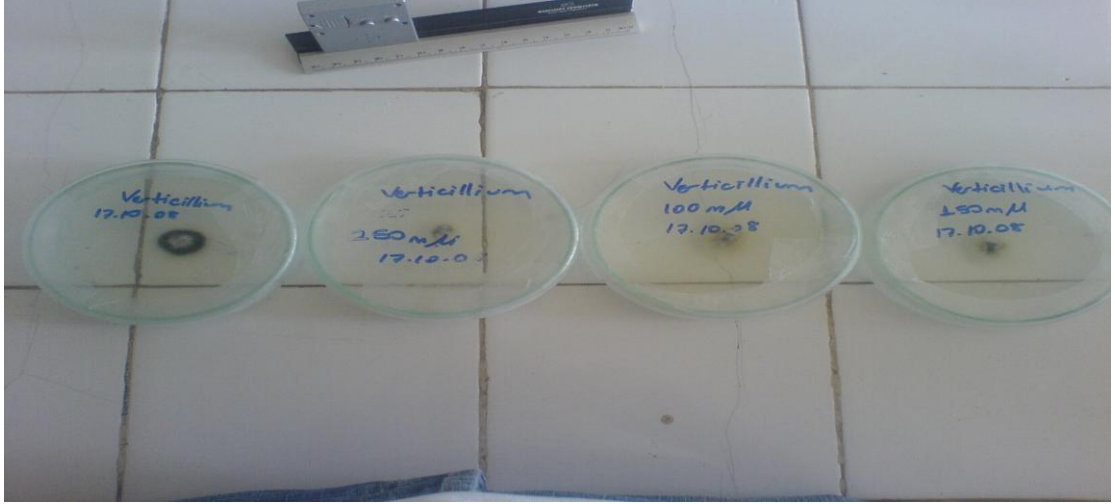
### 3.2.2. Spor solüsyonunun hazırlanması

Czapek Dox veya PDA ortamında tutulan ve her 23 günde bir alt kültüre alınan *V. dahliae* kültürleri inokulasyon için kullanılmıştır. Sporlar, 23 günlük Petri kabında büyüyen ortama 10 ml steril su ilave edilerek ve steril bir cam çubuk yardımı ile hafifçe serbest bırakılmıştır. Elde edilen süspansiyon bir behere aktarılmış ve spor konsantrasyonu Neubauer heamaocytometer ve counter ile sayılarak mikroskop altında belirlenmiştir. Süspansiyondaki spor konsantrasyonu, saf su ilave edilerek, yaklaşık olarak 10<sup>7</sup> konidi/ml olacak şekilde ayarlanmıştır.

### 3.2.3. *V. dahliae* gelişimi için maksimum tuz konsantrasyonunun belirlenmesi

Fungus 10 ml Dox ortamı içeren 9 cm'lik petri kutularında kültüre alınmıştır. 25°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca gelişen kolonilerden Dox ortamı içeren Petri kablarına saflaştırmalar yapmak amacıyla üç defa kültüre alınmıştır. Daha sonra kültürler 0, 50, 100, 150, 200, 250 mM tuz konsantrasyonları içeren Dox ortamına ekilmiştir (Şekil 3.1.). Çalışma, üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Fungusun maksimum tuz konsantrasyonuna tepkisi tespit edilmiştir. Bunun için inkübasyona bırakılan fungusların koloni çapları, inkübasyonun 5. gününden itibaren 3 er gün arayla 7 defa ölçülmüştür. Koloni çapının ölçümü fungus koloni çapının birbirine dik ayrı yönde ölçülmesi şeklinde yapılmıştır.





Şekil 3.1. Farklı tuz konsantrasyonları içeren Dox ortamındaki *V. dahliae* gelişimi

#### 3.2.4. Saksı denemesi

Bitkiler 3-5 yapraklı döneme geldiklerinde kök bandırma metodu ile inokule edilmiştir.

*Kökleri bandırma yöntemi:* Bitkiler saksılardan çıkartılıp ve hafifçe sallanarak kökleri üzerinde kalmış topraklar alınıp, musluk suyuyla yıkandıktan sonra, kökleri 10 dakika süreyle spor solüsyonu içinde bekletilmiştir (Şekil 3.2.). İnokule edilmiş bitkiler aynı toprak kullanılarak tekrar şaşırtılmıştır. Kontrol bitkilerinin kökleri spor solüsyonu yerine steril damıtılmış su ile muamele edilmiştir. İnokulasyonun ardından uygulama yapılan bitkilerde görülen belirtiler göz önünde tutulmuş, bitki boyları ve belirtiler indexleri, ilk belirtilerin görülmesinden itibaren kayıt altına alınmıştır.

Şekil 3.2. Domates bitkilerine *Verticillium dahliae* inokulasyonu



Farklı tuz konsantrasyonları (0, 50, 100, 150, 200, 250 mM), hem fungus ile bulaştırılmış bitkilere hem de sadece tuz solusyonu uygulanan bitkilere sulama suyu ile verilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olarak, tesadüf parselleri deneme desenine göre, 10 litrelik saksılarda yürütülmüştür. Sulama toprak doygunluk seviyesine göre belirlenen ölçüde yapılmış, inokulasyondan sonra bitki boyları her 7 günde bir cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Tuz konsantrasyonu ile yapılan sulamada bitkinin hastalığa karşı verdiği tepkiler, boy ölçümü ve enzim analizleri; prolin, peroksidaz, polifenol oksidaz, katalaz analizleri yapılarak tespit edilmiştir.

### 3.2.5. Prolin analizi

Prolin ekstraksiyonun belirlenmesi Bates ve ark. (1973)'e göre yapılmıştır. Acid-ninhydrin karışımı renk maddesi olarak kullanılmıştır. 1.25 g ninhydrin 30 ml glacial asetik asit ve 20 ml 6 M fosforik asit içerisinde çözülmüştür. 1 g ağırlığındaki yapraklar 10 ml %3'lük sulphosalicylic asit içinde homojenize edilmiş, homojenizasyon Whatman no:2 filtre kağıdından geçirildikten sonra 2 ml' lik karışım 100°C de 1 saat kaynatılarak reaksiyon buz içerisinde sonlandırılmıştır. Abrobans 515 nm toluen kontrolüne karşı okutulmuştur. Standart olarak önceden hazırlanmış olan L-prolin solüsyonu kullanılmıştır.

### 3.2.6. Protein belirlenmesi

Protein belirlenmesi Bradford (1976)'ya göre yapılmıştır. Buna göre; 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 (Sigma) 50 ml %95 lik ethanol içinde çözülmüş ve solusyon 100 ml %85 lik (w/v) phosphoric asit (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) karıştırılmış filtre edilerek 1 litre saf suya tamamlanmıştır. Hazırlanan solusyon oda sıcaklığında 2 hafta kadar kalabilmektedir.

100 µl içinde 10-100 µg protein içeren örnekler 5 ml Coomassie blue reagent içinde çözülmüşler, ve absorbans değerleri solusyon hazırlanmasından 10 dakika sonra ilk 1 saat içinde 3 ml lik küvetler içinde bakground okumasına karşı 595 nm dalga boyunda UV-1601 Shimadzu spektrofotometrede belirlenmiştir.

Örneklerin protein değerlerini hesaplamak için Bovine Serum Albumin fraction V (Sigma) kullanılmış, 10 ila 100 µg protein arasında linear olarak değişen protein miktarları 595 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen değerler linear olarak

bulunmuş, deneyde kullanılan örneklerin protein değerleri bu grafik yardımı ile hesaplanmıştır.

### 3.2.7. Peroksidaz analizi (POD)

Analizin yapılabilmesi için 50 mM'lık sodyum fosfat buffer, 13 mM quaiacol ve 5 mM hidrojen peroksida hazırlanmıştır. Elde edilen bitkilerden 0.5 g. örnek tartılmıştır. Tartılan örneklerden her biri porselen havanlar içerisine konulmuş ve üzerine 50 mM'lık 10 ml sodyum fosfat buffer'ı eklenmiştir. Porselen havanlarda ezilen örnekler daha sonra süzölmüştür. Elde edilen süzöklere ependorf tüplere konulmuş ve 5000 d/dak.'da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Absorbans değerleri Chance ve Maehly (1995)'nin önerilerine göre 470 nm dalga boyunda UV Shimadzu 1601 Spectrophotometer ile ölçölmüştür. Örnek hazırlık aşaması 4°C'de gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.8. Polifenol oksidaz analizi (PPO)

Analizin yapılabilmesi için 50 mM sodyum fosfat buffer, 5 mM 4-methylcatechol hazırlanmıştır. Daha önce alınmış ve ependorf tüplere konulmuş örnekler kullanılarak analiz yapılmıştır. Absorbans değerleri Zauberman ve ark. (1991)'nin önerilerine göre 410 nm dalga boyunda UV Shimadzu 1601 Spectrophotometer ile ölçölmüştür.

### 3.2.9. Katalaz analizi (CAT)

Katalaz enzimini ölçmede Milosevic ve Slusarenko (1996) metodundan faydalanılmıştır. Buna göre 50 µl protein ekstraktı 2.95 ml (10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 50 mM potasyum fosfat buffer (ph 7.0) ve 4 mM Na<sub>2</sub>EDTA) reaksiyon karışımına ilave edilerek, 240 nm de 25°C de 30 sn. süre ile ölçölmüştür. Reaksiyon ilk kinetiğini gösterdiği durumda  $\Delta A_{240} \text{protein min}^{-1}$  olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.10. Hastalık belirtilerinin değerlendirilmesi

Bitkiler hastalık belirtilerine göre Dixon & Doodson (1971) ve Moller ve ark. (1971)'den uyarlanan bir sistem kullanılarak aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır.

**0 – Solgunluk belirtisi yok**

**1 – Az miktarda enfeksiyon:** Kotiledonlar üzerinde gözle görülen klorotik sararma.

**2 – Hafif miktarda enfeksiyon:** Kloroz ve yaprakların % 50'sinden daha azını etkileyen epinasti.

**3 – Orta derecede enfeksiyon:** Kloroz, nekroz ve epinasti dahil olmak üzere her yerde görülen belirtiler.

**4 – Şiddetli derecede enfeksiyon:** Bitkiler zayıf ve gelişmeleri durmuş; hem gövdeleri hem de dalları ileri derecede simptom göstermekte.

**5 – Aşırı derecede şiddetli enfeksiyon:** Dallar ve gövde nekrozlu fakat sürgün ucunda hala biraz canlılık görülmekte.

**6 – Bitki tamamen ölür.**

Simptomlar ana kategoriye girmediği zaman aradaki yani 1.5 ve 2.5 gibi sınıflar kullanılmaktadır. Sınıflandırmada 0 ve 2 arasında yer alan bitkiler dayanıklı olarak kategorize edilmektedir. 2.5 – 3.5 arasında olanlar ise orta derecede hassas ve 4 – 6 arasında olanlar ise hassas olarak kategorize edilmektedir (Latunde – Dada ve ark. 1982).

Bu sınıflandırmadan, bitkilerdeki hastalık ilerleyişinin oranını ve simptomların başlangıç zamanını gösteren bir simptom indeksi, tek bir muameledeki her bir bitki grubu için yüzde olarak hesaplanmıştır. Herhangi bir değeri gösteren (0'dan 6'ya kadar) bitki sayısı o değerle ve bütün bitkiler için elde edilen sayıyla çarpılır ve toplam 100 ile çarpılır. Bu değer simptom kategorisindeki maksimum değere yani 6'ya bölünür, ve hastalık indeks değeri % olarak elde edilmiş olunur.

$$\% SI = \frac{\sum SI}{6 \times \sum n} \times 100$$

SI: Simptom indeksi

n: Bitki sayısı

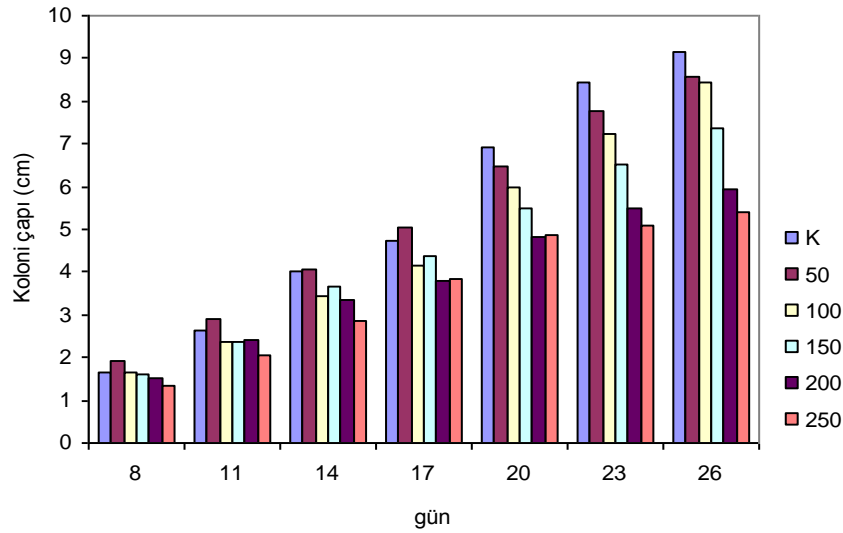
**3.2.11. Verilerin değerlendirilmesi ve analizlerin yapılması**

Veriler bir yönlü varyans analiz yöntemi (ANOVA) kullanarak Duncan Çoklu Test Yöntemi ile analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki farklar  $P < 0.050$  den düşük olduğu zaman önemli bulunmuştur. Veriler ayrıca Ortalama  $\pm$  Standart hata (SH) olarak ifade edilmiş, istatistik analizler SPSS veri analiz paket programı yardımı ile yapılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

##### 4.1. *V. dahliae* İçin Maksimum Tuz Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Fungusun farklı tuz konsantrasyonuna tepkisi koloni çaplarının ölçümü ile belirlenmiştir. İlk ölçüm inkübasyondan 5 gün sonra alınmıştır. 3'er gün aralıklarla 7 defa ölçüm yapılmıştır. Şekil 4.1'de Kontrol, 50, 100, 150, 200, 250 mM tuz içeren dox ortamındaki fungusun koloni çaplarındaki değişiklikler gösterilmiştir.



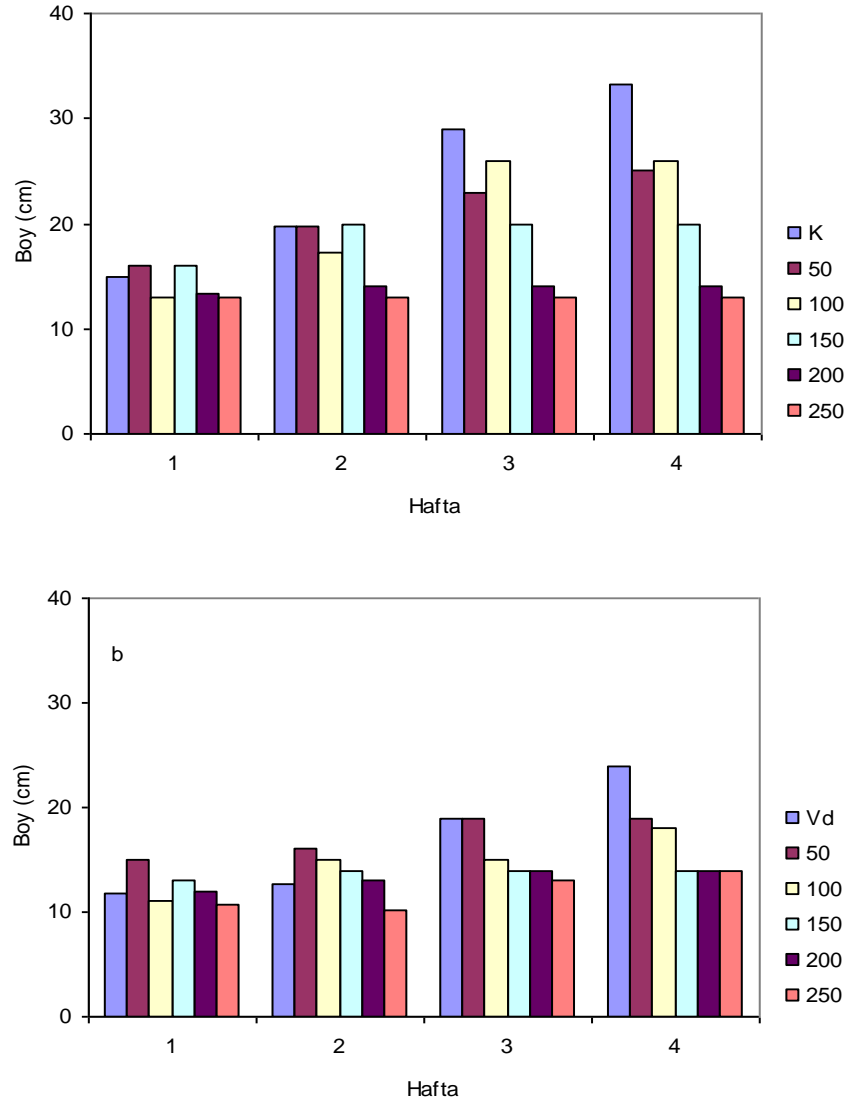
Şekil 4.1 Farklı tuz konsantrasyonu uygulanan *V. dahliae*'nin koloni çapları ölçüm sonuçları

Şekil 4.1 de görüldüğü gibi birinci ölçümde koloni çapları arasında büyük fark gözükmezken ikinci ölçümde kontrol ve 50 mM tuz konsantrasyonu uygulanan örneklerde koloni çapında diğerlerine göre gelişme görülmüştür. Devam eden ölçümlerde dördüncü ölçüme kadar koloni çapları artmaya devam etmiştir. Uygulamalar arasından kontrol ve 50 mM tuz uygulanan örneklerde yine diğerlerine göre daha geniş koloni çapı ölçülmüştür. Yine dördüncü ölçüme kadar 150 mM tuz uygulanan örnekler 100 mM tuz uygulanan örneklere göre biraz daha geniş koloni çapı ölçülmüştür. Beşinci ölçümde koloni çaplarındaki ortaya çıkan farklılık uygulanan tuz konsantrasyonu ile ters orantılı olarak görülmüştür. En büyük koloni çapı tuz uygulanmamış olan kontrol uygulamasında, en düşük koloni çapı en yüksek tuz konsantrasyonu olan 250 mM tuz uygulanan örneklerde görülmüştür. Devamında yapılan altıncı ve yedinci ölçümlerde

kontrol uygulamasıyla karşılaştırıldığında yine tuz konsantrasyonları yükseldikçe örneklerin koloni çaplarında gelişim düşük kalmıştır. Tüm örneklerin zaman içerisinde koloni çaplarında gelişme görülmüştür. Fakat uygulanan tuz konsantrasyonu arttıkça koloni çapındaki gelişimin yavaş olduğu gözlemlenmiştir. Tuz uygulanan tüm örneklerin koloni çapları 26 gün sonunda kontrol ile karşılaştırıldığında daha az büyüme göstermişlerdir. Ancak yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre tuz uygulanan fungus gruplarının (50 ve 100 mM NaCl) koloni çapındaki gelişim geriliği istatistik olarak farklı bulunmamış, diğer grupların göstermiş olduğu koloni gelişimi kontrol grubuna göre önemli bir fark göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Benzer sonuçlar Goudarzi ve ark. (2008) tarafından da elde edilmiştir. Strese maruz kalan fungusların negatif yönde etkilendiklerini ancak yine de gelişimine devam ettiklerini rapor etmişlerdir. Woods ve Duniway (1986) da *Fusarium* üzerine yaptıkları bir çalışmada stres durumunun su alımını zora soktuğunu ve dolayısı ile fungusların negatif yönde etkilendiklerini belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar bu çalışmada da görülmüş, funguslarda gelişme geriliğinin Na iyonlarının toksisitesi yanında funguslara iletilecek olan su alımının kısıtlandığından ileri geldiği düşünülmüştür.

#### 4.2. Bitki Boyu ve Simptom İndex Değerleri

Bitkilerinin boyları haftada bir kere 6 hafta süre ile ölçülmüş ve beşinci haftada bitkiler ölmeye başladığı için, ilk 4 hafta boyunca elde edilen veriler değerlendirmeye alınmıştır. Şekil 4.2 (a & b)'de fungus ile inokule edilmiş veya inokule edilmemiş bitkilerinin 4 hafta içindeki boylarındaki değişiklikler gösterilmiştir.



Şekil 4.2. a) Artan tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin boy ölçüm değerleri, b) Artan tuz konsantrasyonlarına ve *V. dahliae* (Vd) enfeksiyonuna maruz kalan bitkilerin boy ölçüm değerleri

Şekil 4.2.a da görüldüğü gibi fungus bulaştırılmamış sadece tuz uygulanmış bitkilerin boylarındaki değişiklikler hem uygulamalar içi hem de uygulamalar arasında görülmektedir. 1. hafta ölçümünde tüm bitkilerin boyları arasında herhangi bir farka rastlanmamış ancak ilerleyen haftalarda yapılan ölçümlerde ise kontrol ve 50 mM tuz uygulamasında bitkilerde boy uzamasının devam ettiği diğer uygulamalarda ise 2. haftadan sonra tuza maruz kalan bitkilerin gelişimlerinin gerilediği kaydedilmiştir. Artan tuz konsantrasyonu ile bitki gelişimi arasında negatif bir korelasyonun bulunduğu



tespit edilmiştir. Son haftada ise 50 mM tuz uygulanan bitkilerin de kontrol grubu ile kıyaslaması yapıldığında her iki grup arasında istatistiki olarak önemli fark bulunmuş, domates fidelerinin düşük tuz konsantrasyonlarında da hassas olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Diğer grup bitkilerde ise gelişme tamamen durmuş ve bitkiler denemenin devam etmesine izin vermeyecek derecede zarar görmüştür.

Bitkilerin simptom indeks değerleri alındığında, artan tuz konsantrasyonun bitkilerde artan simptom indeks değerlerine yol açtığı ve bu durumun ilerleyen haftalarda şiddetlendiği görülmüştür. Simptom index değerleri 100 mM ve üzerindeki tuz konsantrasyonuna maruz kalan bitkilerde ilk hafta dışında %30 luk değerlere ulaşmış, denemenin sonlarına doğru ise %100 e varan değerlere ulaşmıştır. 50 mM tuz konsantrasyonuna maruz kalan bitkilerde ise simptom index değerleri %30-50 arasında değişmiş, denemenin sonlarına doğru bu grup bitkilerde de görülmesi beklenen iyileşme belirtilerine rastlanmamıştır.

Şekil 4.2.b ise Artan tuz konsantrasyonlarına ve *V. dahliae* enfeksiyonuna maruz kalan bitkilerin durumunu göstermektedir. Yapılan ölçümlerde 1. haftada bitkiler arasında ciddi bir fark oluşmazken bu durum ilerleyen haftalarda değişmiş, tuz ve fungusu birlikte maruz kalan bitkiler istatistik olarak kontrol grubundan önemli fark göstermiş ( $P<0.05$ ), bitkilerde görülen gelişme geriliği her iki stres etmeninin yol açtığı gelişme geriliğinden daha fazla olmuş, oluşan simptom index değerleri de ayrı ayrı stres etmenlerinin yol açtığı belirtilerden daha fazla bulunmuştur. Sadece 50 mM tuz konsantrasyonuna maruz kalan bitkiler denemenin sonuna kadar gelişme göstermesine rağmen (Şekil 4.2.a) tuz ile birlikte bitkiye verildiğinde oluşturduğu simptom ve yol açtığı gelişme geriliği önemli bulunmuş, tuz ve fungusun birlikte oluşturduğu gelişme geriliği her iki stres etmenin birarada bulunabildiğini göstermiştir (Şekil 4.2.b).

Artan tuz konsantrasyonlarının fungus ile birlikte bitkiye verildiğinde ciddi gelişme geriliğine yol açmış, sadece tuzun yol açtığı stresin yanında fungusun da etkisi yine artan tuz konsantrasyonlarında görülmüştür.

### 4.3. Biyokimyasal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Enzim, protein yapısında olan, doğal olarak yalnız canlılar tarafından sentezlenebilen biyolojik katalizörlerdir. Hücre içerisinde meydana gelen tepkimelerin hızını ve özgülüğünü düzenler. Enzimler bitkilerin gelişim ve savunma

mekanizmasında önemli rol oynarlar. Bu bakımdan normal değerlerinin altında ya da üstünde çıkan sonuçlar, o canlının savunma mekanizması hakkında bilgi vermektedir.

#### 4.3.1. Prolin aktivitesinin belirlenmesi

Artan tuz konsantrasyonlarına maruz kalan veya hem tuz hem de fungusun etkisine maruz bırakılan bitkilerde biyokimyasal değişiklikleri izlemek amacı ile çeşitli parametreler alınmış, bu parametrelerden en önemlilerinde biri olan prolin ölçümü yapılmıştır. Prolin değerleri 3 hafta boyunca her hafta alınmış, ve muamele grupları arasında değerlendirmeler yapılmıştır (Çizelge 4.1. ve 4.2.).

Artan tuz konsantrasyonları domates fidelerinde prolin değerlerinin artmasına yol açmış, bu durum ilerleyen haftalar boyunca artarak devam etmiştir. İstatistik analizi yapıldığında kontrol grubu ile muamele grupları arasında önemli fark bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Prolin bir amino asit olup bitkide önemli bir stres göstergesi olduğundan, bitkinin dayanıklılığı hakkında doğrudan belirleyici olmasa bile stresin seviyesi hakkında önemli ipuçları vermektedir.

Fungus ile inokule edilen ve aynı zamanda artan tuz konsantrasyonlarına maruz bırakılan bitkilerde yine artan oranlarda prolin artışı görülmüş olup, stresin derecesi arttıkça sentezlenen prolin miktarı da artmıştır. Fungus ve tuz ile inokule edilen bitkilerde sentezlenen prolin miktarları her iki etmenin ayrı ayrı yol açtıkları prolin miktarlarından daha fazla olmuştur (Çizelge 4.2). Prolin miktarlarındaki artış Chaudhary (1996) tarafından da saptanmış, bunun stres sonucu oluşan metabolit oldukları yönünde görüş bildirmişlerdir.

Çizelge 4.1. Farklı tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin prolin değerleri

NaCl (mM)	Proline ( $\mu\text{g g}^{-1}$ yaş ağırlık) <sup>a, b</sup>		
	1. hafta	2. hafta	3. hafta
Kontrol (0 mM)	0.77 $\pm$ 0.01a	0.91 $\pm$ 0.02a	1.23 $\pm$ 0.02a
50	0.85 $\pm$ 0.02b	1.04 $\pm$ 0.01b	1.42 $\pm$ 0.02b
100	0.86 $\pm$ 0.02b	1.11 $\pm$ 0.02c	1.63 $\pm$ 0.02c
150	0.99 $\pm$ 0.03c	1.13 $\pm$ 0.02c	1.80 $\pm$ 0.03d
200	1.06 $\pm$ 0.03c	1.49 $\pm$ 0.01d	1.91 $\pm$ 0.02d

<sup>a</sup> Aynı harf grubu içinde yer alan bitkiler  $P<0.05$  seviyesinde istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır.

<sup>b</sup> Veriler iki tekerrürün ortalaması ve standart hatası olarak düzenlenmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarına ve *V. dahliae* etmenine birlikte maruz kalan domates bitkilerinin prolin değerleri

NaCl (mM)	Proline ( $\mu\text{g g}^{-1}$ yaş ağırlık) <sup>a, b</sup>		
	1. hafta	2. hafta	3. hafta
<i>V. dahliae</i>	0.89 ± 0.02a	1.04 ± 0.04a	1.34 ± 0.02a
50	0.99 ± 0.03b	1.08 ± 0.04b	1.45 ± 0.03b
100	1.10 ± 0.03c	1.33 ± 0.02c	1.74 ± 0.02c
150	1.21 ± 0.02d	1.33 ± 0.03c	1.84 ± 0.03d
200	1.31 ± 0.02d	1.61 ± 0.02d	1.99 ± 0.04d

<sup>a</sup> Aynı harf grubu içinde yer alan bitkiler  $P < 0.05$  seviyesinde istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır.

<sup>b</sup> Veriler iki tekerrürün ortalaması ve standart hatası olarak düzenlenmiştir.

Benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da elde edilmiş olup, örneğin, Thakur ve Sharma (2005) prolin değerlerinin tuzluluğa dayanıklılığı arttırdığı ve kontrol uygulamaları ile karşılaştırıldığında, tuz stresi altındaki bitkilerde çok fazla miktarda prolin birikiminin olduğunu rapor etmişlerdir.

#### 4.3.2. Protein belirlenmesi

Çizelge 4.3. Farklı tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin protein değerleri

NaCl (mM)	Protein ( $\text{mg g}^{-1}$ yaş ağırlık)		
	1. hafta	2. hafta	3. hafta
Kontrol (0 mM)	0.773	0.751	0.720
50	0.716	0.687	0.641
100	0.674	0.624	0.573
150	0.726	0.681	0.610
200	0.655	0.604	0.527

Çizelge 4.4. Farklı tuz konsantrasyonlarına ve *V. dahliae* etmenine birlikte maruz kalan domates bitkilerinin protein değerleri

NaCl (mM)	Protein ( $\text{mg g}^{-1}$ yaş ağırlık)		
	1. hafta	2. hafta	3. hafta
<i>V. dahliae</i>	0.745	0.715	0.660
50	0.645	0.590	0.529
100	0.571	0.520	0.479
150	0.546	0.489	0.445
200	0.529	0.477	0.424

Artan tuz konsantrasyonlarına maruz kalan bitkiler istatistik olarak ciddi fark göstermeseler bile gruplar arasında varyasyonlar görülmüştür. Ancak haftalar ilerledikçe bitkilerin sentezledikleri protein miktarları azalmıştır (Çizelge 4.3). Hem tuz hem de fungusa maruz kalan bitkiler ilk hafta içinde birbirlerinden sentezledikleri

protein bakımından farklı görülmeseler bile ilerleyen haftalarda stres etkisini göstermiş ve sentezledikleri protein miktarı azalmıştır (Çizelge 4.4).

#### 4.3.3. Enzim aktivitelerinin (POD, PPO, CAT) belirlenmesi

Peroksidaz bir enzim olup bir antioksidan olarak görev yapmaktadır. Bitkide herhangi bir stres koşulunda sentezi yavaşlar veya düşüş gösterir. Bu bitkide bulunan en önemli antioksidanlardan biri olup hidrojen peroksidaz'ın aktivasyonunu azaltarak hücrenin erken yaşlanmasını önlemekle görevlidir.

Domates bitkilerinden 3 hafta boyunca her hafta olmak üzere örnekler alınmış ve bu örneklerin enzim analizleri yapılmıştır. POD, PPO, CAT enzim aktiviteleri kontrol grubu dışında düşüş göstermiş olup stres etmenlerinin ayrı ayrı ya da birlikte etkisinden istatistik olarak önemli ölçüde etkilenmiştir (Çizelge 4.5). İlk haftalarda bütün enzim grupları için elde edilen değerler kontrol grubundan farklı olmasına rağmen takip eden haftalarda strese maruz kalan bitkilerin sentezlemiş oldukları enzim seviyesi düşüş göstermiştir. Enzim aktivitelerindeki önemli ölçüde düşüş 150 ve 200 mM NaCl a mauz kalan bitkilerde daha fazla olmuştur. Fungus ve tuza maruz bırakılan bitkilerde de aynı durum söz konusu olmuş, artan tuz konsantrasyonu fungus ile birlikte metabolitlerin sentezlenmesini önemli ölçüde kısıtlamıştır (Çizelge 4.6).

Bu durum bazı araştırmacıların bulgularıyla da desteklenmiştir. Örneğin, Agarwal ve Panday (2004) yaptıkları çalışmada tuz stresi altındaki sinameki fidelerinde artan PPO aktivitesinin fidelerde fenol birikimini azaltabileceğini belirtmişlerdir. Enzim sentezlenmesindeki azalışın en önemli nedenlerinden birisi bitkinin savunma mekanizmasının ciddi derecede zarar görmesi ile açıklanabilir. Kombine stres bitkinin savunma mekanizmasının çökmesine yol açmış, patojenin daha şiddetli hale gelmesine neden olmuştur.

Çizelge 4.5. Farklı tuz konsantrasyonlarına maruz kalan domates bitkilerinin enzim değerleri<sup>a,b</sup>

NaCl (mM)	POD aktivitesi ( $\Delta$ Absorbans/dak/mg protein)			PPO aktivitesi ( $\Delta$ Absorbans/dak/mg protein)			CAT aktivitesi ( $\Delta$ Absorbans/dak/mg protein)		
	1.hafta	2. hafta	3. hafta	1. hafta	2. hafta	3. hafta	1. hafta	2. hafta	3. hafta
Kontrol (0 mM)	3.12a	3.54a	3.75a	3.13a	3.70a	3.88a	2.48a	2.26a	2.50a
50	2.65b	2.21b	2.27b	2.76b	2.76b	2.77b	1.78b	1.77b	1.74b
100	2.76b	2.27b	2.34b	2.85b	2.85b	2.75b	1.78b	1.73b	1.67b
150	2.45b	1.99c	2.00b	2.67b	2.49b	2.32b	1.48b	1.32bc	1.27bc
200	2.62b	2.08b	2.20b	2.99b	2.61b	2.39b	1.28b	1.22bc	1.29bc

<sup>a</sup> Aynı harf grubu içinde yer alan bitkiler  $P < 0.05$  seviyesinde istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır.

<sup>b</sup> Veriler iki tekerrürün ortalaması olarak düzenlenmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı tuz konsantrasyonlarına ve *V. dahliae* etmenine birlikte maruz kalan domates bitkilerinin enzim değerleri<sup>a,b</sup>

NaCl (mM)	POD aktivitesi ( $\Delta$ Absorbans/dak/mg protein)			PPO aktivitesi ( $\Delta$ Absorbans/dak/mg protein)			CAT aktivitesi ( $\Delta$ Absorbans/dak/mg protein)		
	1.hafta	2. hafta	3. hafta	1. hafta	2. hafta	3. hafta	1. hafta	2. hafta	3. hafta
Kontrol (0 mM)	2.36	2.32	2.36	2.55	2.43	2.33	1.23	1.17	1.06
50	2.63	2.44	2.61	2.60	2.68	2.57	1.24	1.32	1.21
100	2.83	2.50	2.54	2.83	2.80	2.54	1.29	1.26	1.12
150	2.85	2.41	2.51	2.74	2.74	2.56	1.24	1.18	1.07
200	2.80	2.30	2.50	2.57	2.56	2.40	1.13	1.09	0.99

<sup>a</sup> Bu grupta yer alan bitkiler ürettikleri metabolit açısından istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır.

<sup>b</sup> Veriler iki tekerrürün ortalaması olarak düzenlenmiştir.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesinde yürütülen bu çalışma ile tuz ve fungusun (*V. dahliae*) domates bitkisi üzerinde ayrı ayrı ve kombine etkileri büyüme parametreleri, hastalık parametreleri ve biyokimyasal kriterler değerlendirilerek incelenmiştir.

Araştırmada, domates bitkisinden örnekler alınmış ve gerekli parametreler değerlendirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre tuzluluk, domates bitkisi üzerine olumsuz etkide bulunmuş ve özellikle 200 mM NaCl uygulanan bitkilerde önemli ölçüde büyümenin azaldığı görülmüştür.

Tuz ve fungus interaksiyonlarının prolin ve diğer biyokimyasal aktiviteler üzerine önemli derecede etki ettiği görülmüştür. Analiz sonuçlarına bakıldığında, fungus + 50 mM; fungus + 100 mM; fungus + 150 mM ve fungus + 200 mM uygulamalarında prolin içeriğinin kontrole göre önemli derecede arttığı görülmüştür.

Tuz ve fungus interaksiyonunun enzim aktiviteleri üzerine de etki ettiği yapılan çalışma ile belirlenmiştir. Alınan örnekler için peroksidaz (POD) aktivitelerinde artan tuzlulukla birlikte enzim aktivitenin azaldığı görülmüş ve fungus + 200 mM NaCl uygulaması kontrolden önemli derecede düşük bulunmuştur. Domates bitkisine ait PPO aktivitesine bakıldığında ise, alınan örneklerde fungus + 200 mM NaCl uygulamalarında enzim aktivitesi yine kontrolden önemli derecede düşük bulunmuştur. Bütün uygulamalarda PPO oranının kontrole göre azaldığı görülmüştür. Katalaz analiz sonuçlarına göre fungus + 200 mM NaCl uygulaması sonucunda kontrole göre önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.

Domates bitkisinin protein içeriği, tuz ve fungus interaksiyonu ile değişiklik göstermektedir.

## 5.2. Öneriler

Tuz yoğunluğunun arttığı ortamlarda yetiştirilen kültür bitkisi çeşitlerinin fizyolojik davranışları farklı gerçekleşmekte, artan tuz yoğunluğunun olumsuz etkilerini giderebilmek amacıyla bitkiler prolin içeriklerini arttırmakta polifenol oksidaz, peroksidaz ve katalaz içeriklerini azaltmakta ve dayanıklılık gösterebilen bitkilerde ise bu özellikler önem taşımaktadır. Bu özellikleri inceleyerek seçilecek çeşitlerin tuzluluk sorunu giderek artan bölgelerde yetiştirilmesi tarımsal üretime önemli katkılar sağlayacaktır.

Topraklarımızı korumak için bilinçsiz, yanlış ve aşırı sulamadan kaçınılmalıdır. Toprak tuzluluğu ile mücadele büy, özellikle karık sulama yöntemi yerine daha modern olan yağmur ve damla sulama yöntemi kullanılmalıdır. Kültürü yapılan bitki ük önem taşımakta dolayısı ile tuzluluğun diğer klasik boyutlarının yanında bu yeni gelişen konunun da gözardı edilmemesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- AGARWAL, S. and PANDEY, V., 2004. Antioxidant Enzyme Responses to NaCl Stress in *Cassia angustifolia*. Biol. Plant, 48: 555-60.
- ASINS, M. J., BRETO, M. P., CAMBRA, M. ve CARBONELL, E. A. 1993. Salt Tolerance Defined in Terms of Fruit under Different NaCl Concentration. IVIA, Apartado Oficial, 46113 Moncada, Valencia, Spain.
- AVCIOĞLU, R., KHALVATI, M.A., DEMİROĞLU, G., GEREN, H., 2003. Effects of Osmotic Pressure at Early Growing Stages of Some Crop Plants. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40(2): 9-16.
- AYYILDIZ, M., 1990. Sulama Suyu Kalitesi ve Tuzluluk Problemleri. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Kültürteknik Bölümü, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 1196, Ders Kitabı: 344, Ankara.
- BANIHASHEMI, Z., SAADATMAND, A.R., 2006. Effect of Osmotic and Matrix Potential on Sclerotial and Germination of *Verticillium dahliae* and Disease Development in *Pistacia vera*. Phytopathology 96:S8
- BATES, L.S., WALDREN, R.P. and TEARE ID., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water –Stress Studies. Plant and Soil, 39, 205-207.
- BAYRAKLI, F., 1998. Toprak Kimyası. O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:26, 1.Baskı, 214s.
- BESRI, M., 2006. Effect of Water Salinity on the Development of Tomato Verticillium Wilt. Institut Agronomique et Veterinaire Hassan II Rabat Morocco.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein –dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- CHANCE, B. and MAEHLI, C., 1995. Assay of catalase and peroxidases. Methods Enzymol., 11: 764-775.
- CHAUDHARY, M.T. 1996. Salt tolerance and toxicity in NaCl-selected and non-selected cells and regenerated plants of *Medicago media*. Ph.D. Thesis. University of Wales, Swansea.
- DE HAYR, R., DIATLOFF, N. and GORDON, I., 1997. Irrigation Water Quality, Salinity and Soil Structure Stability. Resource Sciences Center, NRQ 97089, ISSN 1327-5364, The State of Queensland.
- DELAMOR, F.M., MARTINEZ, V., CERDA, A., 2001. Salt Tolerance of Tomato Plants as Affected by Stage of Plant Development. HortScience, 36(7): 1260-1263
- DEMİRAL, M. ALİ, AYDIN, M. ve YORULMAZ, A., 2005. Tuzluluğun iki Maltlık Arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidinde Gelişim Kimyasal Bileşim ve Antioksidatif Enzim Aktivitesi üzerine Etkisi. Turk. J. Biol., 29: 117-123.
- DIXON, G. R., and DOODSON, J. K., 1971. Assessment Keys for Some Diseases of Vegetable, Fodder and Herbage Crops. Journal of The National Institute of Agricultural Botany, 12: 299-307.
- DORAIS, M., PAPADOPOULOS, P. A., and GOSSELIN, A., 2001. Influence of Electric Conductivity Management on Greenhouse Tomato Yield and Fruit Quality. INRA, EDP Sciences Agronomie, 21: 367 – 383.
- EKMEKÇİ, E., APAN, M. ve KARA, T., 2005. Tuzluluğun Bitki Gelişimine Etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(3): 118-125.



- ERGENE, A., 1982. Toprak Bilgisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 267, Erzurum.
- FAO, 1976. Water Quality for Agriculture. Irrigation and Drainage Paper, No: 29, Rome.
- FUJITA, S., TANO,T. and KAWAHARA,H., 1991. Purification and Properties of Polyphenol oxidase in Head Lettuce (*Lactuca sativa*), J.Sci. Food Agric.,55:643-651.
- GADALLAH, M. A. A., 1999. Effects of Proline and Glycinebetaine on *Vicia faba* Responses to Salt Stress. *Biologia Plantarum*, 42(2):249-257.
- GOUDARZI, A., BANIHASHEMI, Z., MAFTOUN, M. 2008. Effect of water potential on sclerotial germination and mycelial growth of *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathol. Mediterr.* (2008) 47, 107–114.
- GÜNGÖR, Y. ve ERÖZEL, Z., 1994. Drenaj ve Arazi Islahı. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1341
- HANSON, B., MAY, D., HUTMACHER, R., 2005. Drip İrrigation of Tomatoes and Cotton in Saline Soil. American Society of Agricultural and Biological Engineers Publishing.
- HOFFMAN, G.J., HOWELL, T.A. and SOLOMON, K.H., 1992. Management of Farm Irrigation Systems. ASAE Monograph number 9 published by ASAE.
- ISAAC, I., 1967. Speciation in *Verticillium*. *Annual Review of Phytopathology*, Vol. 5: 201-222.
- KANBER, R., ÇULLU, M. A., KENDİRLİ, B., ANTEPLİ, S. ve YILMAZ, N., 2005. Sulama, Drenaj ve Tuzluluk. [www.zmo.org.tr/etkinliler/6tk05/013rizakanber.pdf](http://www.zmo.org.tr/etkinliler/6tk05/013rizakanber.pdf)
- KANBER, R., KIRDA, C. ve TEKİNEL, O., 1992. Sulama Suyu Niteliği ve Sulamada Tuzluluk Sorunları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayınları No: 21
- KARA, T., 2002. İrrigation Scheduling to Present Soil Salinization from Shallow Water Table, *Acta Horticulture*, 573: 139-151
- KATERJI, N., HOORN, J.W., HAMDY, A., MASTRORILLI, M., 2003. Salinity Effect on Crop Development and Yield, Analysis of Salt Tolerance According to Several Classification Methods. *Agriculture Water Management*, 62(1): 37-66.
- KOTUBY, J., KOENING, R. And KITCHEN, B., 1997. Salinity and Plant Tolerance. Utah State University Extension. AG-SO-03., Utah.
- KWIATOWSKY, J., 1998. Salinity classification, Mapping and Managment in Alberta. <http://www.agric.gov.ab.ca/sustain/soil/salinity>.
- LATUNDE, A. O., LUCAS, J. A., 1982. Variation in Resistance to *Verticillium* Wilt within Seedling Populations of Some Varieties of Lucerne (*Medicago sativa*). *Department of Botany. Plant Pathology*, 31: 179-186.
- LEE, P.M., LEE, K. and KARIM, M.I.A., 1991. Biochemical Studies of Cocoa Bean Polyphenol Oxidase, *J. Sci. Food Agric.*, 55:251-260.
- LEVIN, A.G., LAVEE, S. and TSROR, L., 2003. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on Olive (cv. Picual) and its Effect on Yield under Saline Conditions. *Plant Pathology*, 52(2): 212.
- MELOUK, H. A., 1992. Methods for Research on Soil-Borne Phytopathogenic Fungi. (L. L. Singleton , J. D. Mihall, C. M. Rush eds. Aps. St. Paul) *Verticillium*, 175-177p.
- MILOSEVIC, N., SLUSARENKO, A. J., 1996. Active Oxygen Metabolism and Lignification in the Hypersensitive Response in Bean. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 49:143-158.

- MILTON, J.M., ROHERS, W.G., Isaac, I. 1971. Application of acrylamide gel electrophoresis of soluble fungal protein to taxonomy of *Verticillium* species. Transactions of the British Mycological Society, 56(1): p61-63.
- MITTOVA, V., GUY, M., TAL, M., and VOLOKITA, M., 2004. Salinity up-Regulates the Antioxidative System in Root Mitochondria and Peroxisomes of Wild Salt-Tolerant Tomato Species *Lycopersicon pennellii*. Journal of Experimental Botany, 55 (399): 1105-1113.
- MOLLER NIELSEN, H. J. and ANDREASEN, B., 1971. *Verticillium albo-atrum* in Lucerne: 1. The Effect of Different Methods of Inoculation. Kongelige Veterinaer-og Landbohoiskoles Aaarksskrft, Kobenhaun 1971, 35-49.
- PANCHABAN, S. and TA-OUN, M., 2002. Fertilizer Management for Tomatoes Groving in Saline Soil of the Northeast Thailand. Department of Land Resources and Environment, Pg: 352.
- RHOADES, J. D., KANDIAH, A., MASHALI, A. M., 1992. The Use of Saline Waters for Crop Production, FAO Irrigation and Drain Paper No: 48, 131s.
- SHALHEVET, J. and YARON, B., 1973. Effect of Soil and Watet Salinity on Tomato Quality. Plant and Soil, 39: 285-292.
- SOIL QUALITY TEST KIT QUIDE, 1999. USDA.United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
- SÖNMEZ, B. ve YURTSEVEN, E., 1995. Değişik Tuzluluk ve SAR Değerlerine Sahip Suların Toprak Tuzluluğu ve Sodyumluluğu ile Domates Bitkisinin Gelişme ve Verimine Olan Etkilerinin Belirlenmesi. Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, 202/R119, Ankara.
- THAKUR, M. and SHARMA, A. D., 2005. Salt-Stress Induced Proline Accumulation in Germinating Embryos: Evidence Suggesting a Role of Proline in Seen Germination, Journal of Arid Environments, 62: 517-523.
- TRIKY-DOTAN, S., YERMIYAHU, U., KATAN, J. and GAMLIEL, A., 2005. Development of Crown and Root Rot Disease of Tomato Under İrrigation with Saline Water. Phytopathology, 95:1438-1444.
- ÜNLÜKARA, A., 2004. Farklı Gelişme Dönemlerinde Uygulanan Değişik Tuzlulukta Sulama Sularının Domateste Meyve Verimi ve Kalitesi Üzerine Etkileri. Ankara üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- ÜNLÜKARA, A., CEMEK, B. ve KARADAVUT, S., 2006. Farklı Çevre Koşulları ile Sulama Suyu Tuzluluğu İlişkilerinin Domatesin Büyüme, Gelişme, Verim ve Kalitesi Üzerindeki Etkileri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(1): 15-23.
- VENTER, M.W., 1994. Improving Water Penetration, Water Retention and Salinity Levels in Soil. Agricultural Research, 94-017.
- WHITING, D., WILSON, C., CARD, A., 2005. Saline Soils. Colorado State University, Cooperative Extention –Horticulture.
- WOODS, D.M., AND DUNİWAY, J.M. 1986. Some effects of water potential on growth, turgor, and respiration of *Phytophthora cryptogea* and *Fusarium moniliforme*. Phytopathology, 76: 1248–1254.
- YAKIT, S ve TUNA, A. L., 2006. Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine Ca, Mg ve K'un etkileri. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(1):59-67.

- YURTSEVEN, E., KESMEZ, G. D. ve UNLUKARA, A., 2005. The Effects of Water Salinity and Potassium Levels on Yield, Fruit Quality and Water Consumption of a Native Central Tomato Species (*Lycopersicon esculentum*), *Agricultural Water Management*, 78: 128-135.
- ZAUBERMAN, G., RONEN, R., AKERMAN, M., WEKSLER, A., ROT, I. and FUCHS, Y., 1991. Postharvest Retention of The Red Color of Litchi Fruit Pericarp. *Sci. Hort.*, 47:89-97.

## **ÖZGEÇMİŞ**

29.07.1979 yılında Mersin-Erdemli İlçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Mersin’de tamamladı. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümünden mezun oldu.

## ÖZET

Bu araştırma, 2007-2008 yılları arasında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada materyal olarak domates bitkisi, solgunluk fungusu *V. dahliae* ve farklı konsantrasyonlarda NaCl kullanılmıştır. Denemeler saksılarda 3 tekerrülü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Domatesler yetiştirildikten sonra bir gruba kök-daldırma yöntemi ile *V. dahliae* inokule edilmiş, diğer gruba ise fungus ile birlikte 50, 100, 150, 200 ve 250 mM NaCl uygulanmış, kontrol grubu ise sadece fungus ile inokule edilen veya ne fungus ne de tuz ile muamele gören grublardan oluşmuştur. Bitki gelişiminin yanı sıra, biyokimyasal metabolitlerden peroksidaz, polifenoloksidaz, katalaz ve prolin ölçülmüştür. Fungus ile inokule edilen ve artan tuz konsantrasyonlarına maruz bırakılan bitkiler, kontrol grubu bitkilere kıyasla gelişme geriliği göstermiş, buna bağlı olarak biyokimyasal metabolitler de etkilenmiştir. Artan tuz konsantrasyonlarının bitkilerde prolin sentezini arttırdığı ancak enzim değerlerini düşürdüğü tespit edilmiştir. Tuz ve fungusun birlikte etkisi ayrı ayrı etkilerinden daha fazla bulunmuştur.

## SUMMARY

This research was carried out in 2007-2008 in the laboratories of Faculty of Agriculture in Harran University. In the study, tomato plants, the wilt fungus *V. dahliae* and salt were used as materials. The trial was set up in a randomized block design with three replicates. After the growth of tomato, one group was inoculated with root-dipping method with *V. dahliae* and the other group was inoculated with *V. dahliae* followed by the treatments of various concentrations of NaCl (50, 100, 150 and 200 mM). As control groups only inoculated plants with *V. dahliae* or the plants with no treatment were used. Apart from plant development criteria, some biochemical parameters such as peroxidase, polyphenoloxidase, catalase, and proline were measured. Inoculated plants with the fungus followed by exposed to various concentrations of NaCl showed drastic decline in growth parameters and their biochemical parameters were also affected compared to the control groups. Increase in concentrations of NaCl increased the accumulation of proline, however, decreased the contents of enzymes. The combined effect of salt and the fungus was more detrimental than those of each stress agent.