



**EKSTREM HALOFİT *SALSOLA CRASSA*'NIN TOHUM ÇİMLENMESİ  
VE ERKEN FİDE EVRESİNDE TUZ TOLERANSI ÜZERİNE  
BAZI ÇEVRESEL FAKTÖRLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ünal ALTUĞ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mustafa YILDIZ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI**

**Mart, 2018**

Bu tez çalışması **14.HIZ.DES.78** numaralı proje ile **Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi** tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EKSTREM HALOFİT *SALSOLA CRASSA*'NIN TOHUM ÇİMLENMESİ VE ERKEN FİDE EVRESİNDE TUZ TOLERANSI ÜZERİNE BAZI ÇEVRESEL FAKTÖRLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Ünal ALTUĞ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mustafa YILDIZ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI**

**Mart, 2018**

## TEZ ONAY SAYFASI

Ünal ALTUĞ tarafından hazırlanan “Ekstrem Halofit *Salsola crassa*’nın Tohum Çimlenmesi ve Erken Fide Evresinde Tuz Toleransı Üzerine Bazı Çevresel Faktörlerin Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 09/03/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Başkan : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Barış UZILDAY  
Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hakan TERZİ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

imza

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun

...../...../..... tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. İbrahim EROL

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**09.03.2018**

**Ünal ALTUĞ**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### EKSTREM HALOFİT *SALSOLA CRASSA*'NIN TOHUM ÇİMLENMESİ VE ERKEN FİDE EVRESİNDE TUZ TOLERANSI ÜZERİNE BAZI ÇEVRESEL FAKTÖRLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ünal ALTUĞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Halofit bitki türlerinde tohum çimlenmesi özellikle ışık, sıcaklık ve tuzluluk gibi çevresel faktörler tarafından kontrol edilmektedir. *Salsola crassa* oldukça tuzlu topraklara adapte olmuş tek yıllık halofitik bir türdür. Bu türün tuz stresine karşı tolerans seviyesi fide evresinde değerlendirilmiş olmasına karşın çimlenme evresindeki tuz toleransı hakkında herhangi bir literatür bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu araştırmada *S. crassa*'nın tohum çimlenmesi üzerine 9 tuz konsantrasyonu (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 ve 800 mM NaCl), 6 sıcaklık uygulaması (10, 15, 20, 25, 30 ve 35°C) ve fotoperiyodun (12 saat fotoperiyot ve tamamen karanlık) etkileri araştırılmıştır. En yüksek çimlenme yüzdeleri (%98-99) distile suda, 20 ve 25°C sıcaklık uygulamalarında ve 12 saatlik fotoperiyotta elde edilmiştir. Tuz konsantrasyonundaki artış özellikle düşük ve yüksek sıcaklık uygulamalarında tohum çimlenmesinde belirgin bir azalışa neden olmuştur. Düşük (10 ve 15°C) ve yüksek (35°C) sıcaklık uygulamaları hem kontrol hem de tuz uygulamalarında tohum çimlenmesinde belirgin bir şekilde inhibisyona neden olmuştur. Tüm sıcaklık uygulamalarında ve özellikle tuz uygulamalarında ışık ve karanlık uygulamaları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Bu sonuçlar, *S. crassa*'da çimlenme evresi stres toleransının ışık, sıcaklık ve tuzluluk etkileşimleri tarafından etkilendiğini göstermektedir.

Bu çalışmanın ikinci aşamasında, hidroponik olarak büyütülen *S. crassa* fidelerinde bazı büyüme parametreleri (taze ve kuru ağırlık),  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  içerikleri ve süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) aktivitesi üzerine farklı NaCl konsantrasyonlarının (0, 100 ve 300 mM) etkisi araştırılmıştır. Kontrole göre 100 ve 300 mM NaCl konsantrasyonu gövde dokusunun büyüme parametrelerini arttırırken, kök dokusunda sadece 100 mM NaCl uygulaması artışa neden olmuştur. Tuz konsantrasyonundaki artışla  $\text{Na}^+$  içeriği artarken,  $\text{K}^+$  içeriği azalmıştır. Ayrıca toprak üstü dokularda daha fazla  $\text{Na}^+$  birikimi belirlenmiştir. Tuz stresi sadece kök dokusunun POD ve CAT aktivitesinde artışa neden olurken, yaprak dokusunda inhibisyona neden olmuştur. Bu sonuçlar, *S. crassa*'nın tuz stresine oldukça toleranslı olduğunu ileri sürebilir.

**2018, x + 50 sayfa**

**Anahtar kelimeler:** Çimlenme, Fotoperiyot, Sıcaklık, *Salsola crassa*, Tuz toleransı

## ABSTRACT

M.Sc. Thesis

### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME ENVIRONMENTAL FACTORS ON SEED GERMINATION AND EARLY SEEDLING STAGE SALT TOLERANCE OF EXTREME HALOPHYTE *SALSOLA CRASSA*

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

**Supervisor:** Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Germination of halophyte plant species is controlled by several environmental factors, in particular light, temperature and salinity. *Salsola crassa* is an annual halophytic species adapted to highly saline soils. Although salinity tolerance level of this species was evaluated at seedling stage, there is no literature on salinity tolerance at germination stage. In this study, therefore, effects of 9 salt concentrations (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 and 800 mM NaCl), 6 temperature treatments (10, 15, 20, 25, 30 and 35°C) and photoperiod (12 h photoperiod and continuous darkness) on seed germination of *S. crassa* were investigated. The highest germination percentages (98-99%) were obtained in distilled water, at 20 and 25°C temperature applications and 12 h photoperiod. An increase in salt concentration caused marked decrease in seed germination especially at low and high temperature treatments. Lower (10 and 15°C) and higher (35°C) temperature treatments caused marked inhibition in seed germination at both control and salt treatments. There were significant differences between the light and dark treatments in all temperature and salt treatments ( $P < 0.05$ ). These results show that the stress tolerance of *S. crassa* at germination stage is affected by the interaction of light, temperature and salinity.

In the second stage of this study, the effects of different NaCl concentrations (0, 100 and 300 mM) on some growth parameters (fresh and dry weights), Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> content, and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in

the hydroponically grown *S. crassa* were investigated. As compared to control, 100 and 300 mM NaCl concentrations increased growth parameters of shoot tissue, while only 100 mM NaCl application caused an increase in root tissue. Na<sup>+</sup> accumulation increased with increasing salinity concentration, while K<sup>+</sup> accumulation decreased. Moreover, more Na<sup>+</sup> accumulation was detected in the aerial parts. Salt stress caused an increase in POD and CAT activity of root tissue, while it led to inhibition in leaf tissue. These results suggest that *S. crassa* is highly tolerant to salt stress.

**2018, x + 50 pages**

**Keywords:** Germination, Photoperiod, Temperature, *Salsola crassa*, Salt tolerance

## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince desteğini esirgemeyen ve tez çalışmamın her aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a, tez dönemimde bilgisi ve laboratuvar deneyimini benimle paylaşan ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan TERZİ'ye, deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşım Uzman Biyolog Sayın Emre PEHLİVAN'a, her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını 14.HIZ.DES.78 numaralı proje ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim sürecim boyunca ve bu araştırma sürecinde maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme, canım annem Akile ALTUĞ'a, yine bu süreçte varlığını her zaman yanımda hissettiğim canım eşim Emine ALTUĞ'a çok teşekkür ederim.

Ünal ALTUĞ

AFYONKARAHİSAR, 2018

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....	5
2.1 <i>Salsola crassa</i> 'nın Sistematığı .....	5
2.2 Halofitik Türlerde Tohum Çimlenmesi.....	6
2.3 Halofitlerde Tuz Toleransı.....	10
3. MATERYAL ve METOT.....	15
3.1 Tohum Çimlenmesi ve Stres Uygulamaları .....	15
3.2 Fide Büyümesi Üzerine NaCl Uygulamalarının Etkisi .....	17
3.3 Sodyum ve Potasyum İçeriğinin Belirlenmesi.....	17
3.4 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	18
3.4.1 Enzim Ekstraksiyonu.....	18
3.4.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi .....	18
3.4.3 Guaiakol Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	18
3.4.4 Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	19
3.5 İstatistik Analizler .....	19
4. BULGULAR.....	20

4.1 Tuz, Sıcaklık ve Işık Etkileşimlerinin Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi .....	20
4.2 <i>Salsola crassa</i> Fidelerinde Tuz Stresinin Büyüme ve Na-K İçerikleri Üzerine Etkisi .....	24
4.7 <i>Salsola crassa</i> Fidelerinde Tuz Stresinin Antioksidan Enzimlerin Aktivitesi Üzerine Etkisi .....	26
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	28
6. KAYNAKLAR .....	34
ÖZGEÇMİŞ .....	50



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

$dH_2O$	Distile su
$H_2O_2$	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
$\cdot OH$	Hidroksil radikali
$\mu M$	Mikromolar
mM	Milimolar
$\mu g$	Mikrogram
$\mu L$	Mikrolitre
$O_2^{\cdot -}$	Süperoksit radikali

### Kisaltmalar

---

CAT	Katalaz
KA	Kuru ağırlık
POD	Guaiakol peroksidaz
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TA	Taze ağırlık

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 <i>Salsola crassa</i> 'nın Türkiye'deki yayılış alanları (İnt. Kay. 1).....	6
Şekil 3.1 <i>Salsola crassa</i> tohumlarının toplandığı alan.....	15
Şekil 3.2 <i>Salsola crassa</i> çiçek durumu, periantlı ve periantı uzaklaştırılmış tohum.....	16
Şekil 4.1 <i>Salsola crassa</i> 'nın tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk, sıcaklık ve ışığın etkileri.....	21
Şekil 4.2 <i>Salsola crassa</i> 'nın tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk, sıcaklık ve ışığın etkileri.....	22
Şekil 4.3 <i>Salsola crassa</i> 'nın zamana bağlı tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk ve sıcaklık uygulamalarının ışığın etkileri.....	23
Şekil 4.4 Farklı sıcaklık ve tuz uygulamaları altındaki <i>S. crassa</i> 'nın çimlenme oranları.	24
Şekil 4.5 <i>Salsola crassa</i> fidelerinin kök taze ve kuru ağırlıkları üzerine tuz stresinin etkisi.....	25
Şekil 4.6 <i>Salsola crassa</i> fidelerinin gövde taze ve kuru ağırlıkları üzerine tuz stresinin etkisi.....	25
Şekil 4.7 <i>Salsola crassa</i> fidelerinin kök ve yaprak dokularında (A) süperoksit dismutaz (SOD), (B) guaiakol peroksidaz (POD) ve (C) katalaz (CAT) aktivitesi üzerine tuz stresinin etkisi.....	27

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1.</b> <i>Salsola crassa</i> 'nın taksonomisi .....	5
<b>Çizelge 4.1.</b> <i>Salsola crassa</i> 'nın tohum çimlenmesi üzerine sıcaklık, tuzluluk, fotoperiyot ve etkileşimlerinin etkileri için varyans analizi.....	20
<b>Çizelge 4.2.</b> <i>Salsola crassa</i> 'nın kök ve gövde dokularında Na <sup>+</sup> ve K <sup>+</sup> içerikleri üzerine tuz stresinin etkisi .....	26



## 1. GİRİŞ

Toprak tuzluluğu, dünya çapında bitki verimliliğini etkileyen önemli bir abiyotik strestir ve birçok tarımsal bitki türü yüksek tuzluluktan olumsuz etkilenmektedir (Wang *et al.* 2008, Golladack *et al.* 2014). Dünya genelinde 80 milyon hektar ekili arazinin toprak tuzluluğundan etkilendiği tahmin edilmektedir (Zhang *et al.* 2012). Bu nedenle, tarımsal bitkilerin tuzluluğa olan direncini arttırmak amacıyla bitkilerde tuz toleransı ile ilgili geniş çaplı araştırmalar yapılmıştır (Ashraf and Harris 2004). Aşırı toprak tuzluluğu, su eksikliği, iyon toksisitesi, besin eksikliği, büyüme hızındaki hızlı düşüşe neden olabilir ve moleküler hasara yol açan birçok metabolik değişikliğe neden olarak, tuza duyarlı bitkilerin ve hatta bazı halofitlerin genel büyümesini etkiler (Hasegawa *et al.* 2000, Zhu 2002, Flowers 2004, Wang *et al.* 2007, Sobhanian *et al.* 2011). Tuz stresi teşvikli su eksikliğine fotosentetik aktivitedeki azalma, reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı üretimi, çeşitli inorganik iyon ve organik metabolitlerin birikimi eşlik etmektedir (Ashraf and Harris 2004).

Bitkilerde tuz stresine tolerans, belirli bir tuz konsantrasyonuna uzun süre maruz kalmadan sonra bitki büyümesindeki azalma veya belirli bir tuz konsantrasyonuna maruz kalmadan sonra bitkinin hayatta kalma oranı olarak tanımlanmaktadır (Munns 2005). Büyümedeki azalma ve stres koşuluna tolerans seviyesi bitki türleri arasında farklılık göstermektedir. Bu bağlamda, bitkiler tuz stresine tolerans derecelerine göre glükofitler ve halofitler olmak üzere temel olarak iki gruba ayrılmaktadır. Halofitler aşırı sıcaklık değerlerinin olduğu, su kullanılabilirliğinin sınırlı olduğu ve toprak tuzluluğunun diğer bitkilerin yaşamını sınırlayacak seviyede olduğu habitatlarda doğal olarak yayılış gösteren bitkilerdir (Gul *et al.* 2013). Tuz seven bitkiler olarak da adlandırılan halofitler, tuzluluk stresine dayanma yeteneğine sahip ve tuz stresine cevap verebilen genlere ve proteinlere sahip olan bitkilerdir (Askari *et al.* 2006, Yu *et al.* 2011), buna karşın tuza duyarlı bitkiler olarak da adlandırılan glükofitler yüksek tuzluluğu tolere edemezler. Tolerans seviyeleri ve sodyum tuzlarına olan taleplerine bağlı olarak, halofitler obligat (zorunlu) ve fakültatif (seçici) halofitler olarak ayrılabilir. Obligat halofitler büyüme ve gelişme için bir miktar tuza ihtiyaç duyarken, fakültatif halofitler tatlı su koşulları

altında da büyüebilmektedir. Obligat halofitler, düşük morfolojik ve taksonomik çeşitlilik ile karakterize olup, nispi büyüme oranları deniz suyunda %50'ye kadar artmaktadır. Fakültatif halofitler ise tuzlu ve tuzsuz araziler arasındaki sınır boyunca nispeten daha az tuzlu yaşam alanlarında bulunmaktadır ve daha geniş fizyolojik çeşitliliğe sahiptir (Parida and Jha 2010).

Tuzlu koşullar altında halofitlerin hayatta kalma stratejileri çeşitli mekanizmaları kapsamaktadır: (i) iyonların seçici birikimi veya dışarda tutulması (Mahajan and Tuteja 2005), (ii) özellikle  $K^+$  gibi iyonların alımının ve yapraklara taşınımının kontrolü (Mahajan and Tuteja 2005), (iii) hücrel ve tüm bitki seviyesinde iyonların kompartımanlaştırılması (Shabala and Mackay 2011), (iv) uyumlu çözünenlerin ve ozmotik koruyucuların sentezi (Gagneul *et al.* 2007, Sanchez *et al.* 2008, Slama *et al.* 2015), (v) fotosentetik yolaktaki değişimler (Stepien and Johnson 2009, Uzilday *et al.* 2015), (vi) antioksidan enzimlerin aktivasyonu ve antioksidan bileşiklerin sentezi (Ozgur *et al.* 2013, Wang *et al.* 2013), (vii) poliaminlerin sentezi (Takahashi and Kakehi 2010), (viii) nitrik oksit (NO) üretimi (Luis 2015) ve (ix) bitki hormonlarının teşviki ve düzenlenmesi (Parida and Das 2005, Gupta and Huang 2014). Halofitlerin tuz stresine tolerans seviyeleri türler arasında farklılık göstermektedir. Daha az toleranslı halofitleri tuz stresinin üstesinden gelebilmek için tuzlu koşullarda büyümelerini azaltırken tuzsuz koşullarda daha iyi büyüme göstermektedir (Zhu 2001). Büyümedeki bu azalma enerjinin korunmasına ve ROT'ların üretiminin azaltılmasına katkıda bulunmakta ve protein sentezi için amino asit talebini azaltarak ozmotik düzenleme için serbest amino asitlerin kullanılabilirliğini arttırmaktadır (Flowers 2004). Zıt olarak, bazı halofitler yüksek tuzlu koşullarda yetişir ve ekstremofiller olarak adlandırılırlar (Kosová *et al.* 2013).

Evrimsel süreçte halofitler, yüksek tuzlu koşullarda hayatta kalmalarını sağlamak için büyümeyi ve gelişmeyi düzenleyen çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları geliştirmiştir (Flowers and Colmer 2015). Halofitlerin yaşam döngülerindeki en önemli basamak tohum çimlenmesidir (Ungar 1995). Doğal koşullarda halofitlerin tohum

çimlenmesi özellikle ışık, sıcaklık ve tuzluluk gibi çevresel faktörler tarafından kontrol edilmektedir (Khan *et al.* 2002, Yıldız *et al.* 2008, Guma *et al.* 2010, Orlovsky *et al.* 2011, Wang *et al.* 2013). Bununla birlikte, halofitik türler tohum çimlenmesi sırasında tuz stresine toleransta farklılık gösterebilmektedir (Khan *et al.* 2002, Yıldız *et al.* 2008). Sıcaklık tohum çimlenme periyodunun belirlenmesinde ve türlerin dağılımında önemli rol oynamaktadır (Baskin and Baskin 1988). Tuz stresi, çimlenmeyi engelleyici veya geciktirici ozmotik etkilerle veya tohum canlılığını etkileyen iyon toksisitesi ile tohum çimlenmesini inhibe etmektedir (Welbaum *et al.* 1990, Huang and Reddman 1995).

Tuzluluk, ozmotik strese neden olarak ve besin dengesini bozarak bitkileri etkilemektedir (Munns and Tester 2008). Her iki durumda da, farklı metabolik yollar arasındaki koordinasyon kaybindan dolayı ROT'ların üretimi artmaktadır (Asada 2006). Reaktif oksijen türleri proteinler, lipidler ve DNA'da oksidatif zarara neden olur ve böylelikle hücre membran bütünlüğünü, enzimlerin aktivitelerini ve fotosentetik aygıtları etkilemektedir (Yu *et al.* 2011). Bununla birlikte, bitkilerde ROT'lar yüksek tuz seviyelerine adaptasyon için antioksidan enzimlerin arttırılması için sinyal molekülleri olarak kabul edilebilmektedir (Abogadallah 2010, Jaspers and Kangasjärvi 2010). Reaktif oksijen türlerinin aşırı seviyede birikimlerinin önlenmesi için bitkiler, enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri içeren kompleks bir antioksidan savunma sistemi geliştirmiştir. Reaktif oksijen türlerinin detoksifiye edilmesinde süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), tiyoredoksinler (Trx) ve peroksiredoksinler (PRx) gibi enzimler rol oynamaktadır (Yu *et al.* 2011, Wang *et al.* 2013, Bose *et al.* 2014a).

*Salsola* türleri (Chenopodiaceae) yaygın olarak Orta ve Güneybatı Asya, Kuzey Afrika ve Akdeniz'in kurak bölgelerinde yayılış göstermektedir (Guma *et al.* 2010). *Salsola crassa* tek yıllık halofitik bir türdür ve birçok tür için toksik olan tuzlu topraklarda yayılış göstermektedir. *Salsola vermiculata* (Guma *et al.* 2010), *Salsola ferganica* (Wang *et al.* 2013), *Salsola affinis* (Wei *et al.* 2008) ve *Salsola ikonnikovii* (Xing *et al.* 2013) gibi türlerin tohum çimlenmesi üzerine bazı çevresel stres faktörlerinin etkileri incelenmiş

olmasına karşın *S. crassa*'nın tohum çimlenmesi üzerine çevresel faktörlerin etkilerinin incelendiği bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle, bu araştırmada laboratuvar koşullarında *S. crassa* tohum çimlenmesi üzerine farklı NaCl konsantrasyonları (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 ve 800 mM), sıcaklık uygulamaları (10, 15, 20, 25, 30 ve 35°C) ve ışığın (12 saat fotoperiyot ve sürekli karanlık) etkileri incelenmiştir. Bununla birlikte, hidroponik olarak büyütülen *S. crassa* bitkilerinde fide büyümesi, sodyum ve potasyum içerikleri ve SOD, CAT ve guaiakol peroksidaz (POD) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesi üzerine farklı NaCl konsantrasyonlarının (0, 100 ve 300 mM) etkileri incelenmiştir.



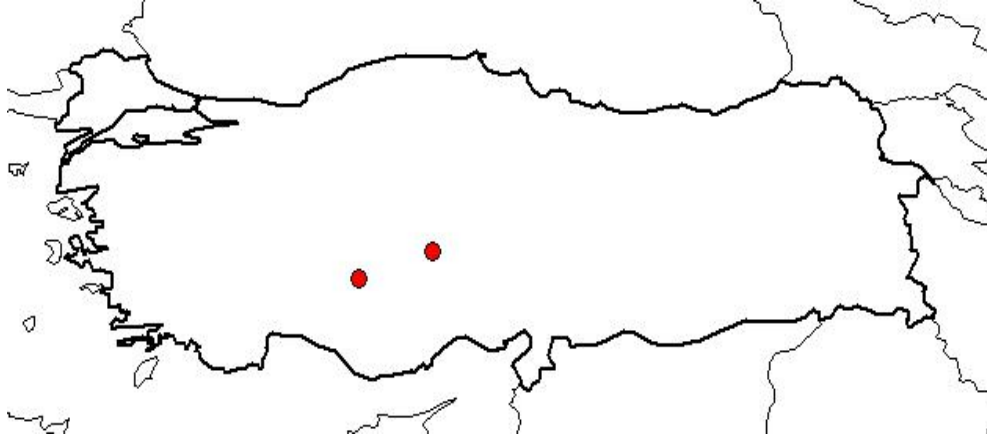
## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 *Salsola crassa*'nın Sistematığı

Chenopodiaceae familyası genellikle halofit ve sukkulent otsu veya çalıları içermektedir. Loplu veya pinnat parçalı, alternat veya oppozit dizimli yapraklar, silindirik, etli veya pul şeklindedir. Aktinomorf çiçek simetrisinin görüldüğü bitkide çiçekler hermafrodit veya tek eşeylidir. Çiçek örtüsü (periant) tek serili 2-5 birleşik sepalden oluşmuştur ve petalleri yoktur. Sepal sayısı kadar stamen (erkek organ) vardır ve bir adet pistil (dişi organ) bulunmaktadır. Genellikle üst durumlu ovaryuma sahip olmakla birlikte nadiren de alt durumludur. Periantla sarılmış olan meyve küçük bir nuks veya kapsula şeklindedir. Bu familya ılıman ve subtropik bölgelerde genellikle tuzlu ortamlarda yayılış gösteren 102 cins ve yaklaşık 1.400 kadar tür içermektedir (Seçmen vd. 2008). Ülkemizde 33 cins ve 129 türü vardır. Bu familyaya ait *Salsola* cinsi ise özellikle tuzlu ve yarı tuzlu habitatlarda yayılan bir cinstir. *Salsola* cinsi ülkemizde 17 takson ile temsil edilmektedir. *Salsola crassa* (Etli soda otu) ise Tuz Gölü çevresindeki tuzlu topraklarda yayılış göstermektedir (Çizelge 2.1 ve Şekil 2.1).

Çizelge 2.1. *Salsola crassa*'nın taksonomisi

<b>Alem</b>	Plantae
<b>Alt alem</b>	Tracheobionta
<b>Şube</b>	Magnoliophyta
<b>Sınıf</b>	Magnoliopsida
<b>Altsınıf</b>	Caryophyllidae
<b>Ordo</b>	Caryophyllales
<b>Familya</b>	Chenopodiaceae
<b>Genus</b>	<i>Salsola</i>
<b>Tür</b>	<i>Salsola crassa</i> BIEB.



Şekil 2.1 *Salsola crassa*'nın Türkiye'deki yayılış alanları (İnt. Kay. 1).

## 2.2 Halofitik Türlerde Tohum Çimlenmesi

Halofitik türlerin tohumları yüksek tuz konsantrasyonlarında dahi çimlenebilmelerinden dolayı tuz stresine oldukça toleranslıdır. *Suaeda aralocapsica* (1.5 M NaCl, Wang *et al.* 2008), *Limonium vulgare* (1.5 M NaCl, Woodell 1985), *Sarcocornia perennis* (1.3 M NaCl, Redondo *et al.* 2004), *Haloxylon ammodendron* (1.3 M NaCl, Huang *et al.* 2003), *Haloxylon persicum* (1.3 M NaCl, Tobe *et al.* 2000), *Tamarix* sp. (1 M NaCl, Ungar 1967), *Kochia scoparia* (1 M NaCl, Khan and Ungar 2001), *Arthrocnemum macrostachyum* (1 M NaCl, Khan and Gul 1998), *Suaeda torreyana*, *Salicornia rubra* (1 M NaCl, Khan *et al.* 2001), *Salsola iberica* (1 M NaCl, Khan *et al.* 2002) ve *Halogeton glomeratus* (1 M NaCl, Khan *et al.* 2001) gibi halofitik türlerin yüksek NaCl konsantrasyonlarında çimlenebildikleri rapor edilmiştir.

*Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae) türünde tohum çimlenmesi üzerine farklı NaCl konsantrasyonları (0-1,400 mM), sıcaklık uygulamaları (5-30°C) ve fotoperiyodun etkileri araştırılmıştır. Distile su koşullarında optimum çimlenme sıcaklığı 10°C olarak belirlenirken, ışık ve karanlık uygulamaları arasında önemli farklılıklar belirlenmemiştir. Bununla birlikte, 400 mM ve üzeri NaCl konsantrasyonlarında tohum çimlenmesinin önemli düzeyde inhibe olduğu bildirilmiştir (Huang *et al.* 2003).

Duan vd. (2007), *Suaeda salsa* (Chenopodiaceae) türünde tohum çimlenmesi üzerine farklı tuzların (NaCl, MgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve MgSO<sub>4</sub>) artan konsantrasyonlarının (0, 50, 100, 200, 300, 400 ve 600 mM) etkisini değerlendirmiştir. Mevcut araştırmada en yüksek tohum çimlenmesi kontrol uygulamasında belirlenirken tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak tohum çimlenmesinin azaldığı rapor edilmiştir (Duan *et al.* 2007). Diğer bir *Suaeda* türünde (*S. aralocaspica*), 4 M NaCl konsantrasyonunda bile %61 oranda tohum çimlenmesinin gerçekleştiği bildirilmiştir. Ayrıca, 5/15, 5/25, 10/25, 15/30 ve 20/35°C sıcaklık rejimi uygulamalarının etkisi değerlendirilmiş ve sadece 5/15°C uygulamasının tohum çimlenmesini inhibe ettiği belirtilmiştir (Wang *et al.* 2008).

*Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae) türünde tohum çimlenmesi üzerine farklı tuz konsantrasyonları (0-4 M NaCl), sıcaklık uygulamaları (15, 20, 25, 30 ve 35°C) ve ışığın etkileri değerlendirilmiştir. En yüksek çimlenme distile su uygulamasında belirlenirken optimum sıcaklık 25°C olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, 600 mM ve üzerindeki NaCl konsantrasyonlarının tohum çimlenmesini tamamen inhibe ettiği ve ışık uygulamasının karanlıktaki tohumlara göre daha iyi çimlenme gösterdikleri bildirilmiştir (Qu *et al.* 2008).

Assaeed (2001), *Salsola villosa* türünde farklı gündüz/gece sıcaklık uygulamaları (5/20, 10/25, 15/30 ve 25/40°C) ve tuz konsantrasyonlarının (0-300 mM NaCl) tohum çimlenmesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, optimum sıcaklık rejiminin 10/25°C olduğunu ve en düşük çimlenmenin 25/40°C'de belirlendiği bildirilmiştir. Ayrıca artan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak çimlenme yüzdesinin kademeli olarak azaldığı belirtilmiştir.

*Salsola vermiculata* bitkisinin tohum çimlenmesi üzerine farklı gece/gündüz sıcaklıklarının ve tuz stresinin etkisi değerlendirilmiş ve sıcaklık ve tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak tohum çimlenmesinin azaldığı rapor edilmiştir. Bu araştırmada, maksimum tohum çimlenmesi 10/20°C sıcaklıkta ve distile su ve 200

mM NaCl uygulamalarında elde edilirken, en yüksek tuz konsantrasyonu olan 800 mM NaCl'de tohumların sadece %1'i 15/25°C uygulamasında çimlenebilmiştir (Guma *et al.* 2010).

Halofitik *Salsola imbricata* türünün tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk (0-800 mM NaCl), sıcaklık (10-35°C) ve fotoperiyodun etkileri değerlendirilmiştir. Kontrol koşullarında tohum çimlenmesinin sıcaklık ve ışık uygulamalarından etkilenmediği bildirilmiştir. Diğer taraftan, tohum çimlenmesinin 100 ve 200 mM NaCl konsantrasyonlarından etkilenmediği ancak 400 mM ve üzerindeki konsantrasyonlarda tohum çimlenmesinin neredeyse tamamen inhibe olduğu rapor edilmiştir (Zaman *et al.* 2010).

*Salsola imbricata* türünde tohum çimlenmesi üzerine farklı tuz konsantrasyonları (0, 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 mM NaCl), sıcaklık uygulamaları (15, 20, 25 ve 35°C) ve ışığın etkileri araştırılmıştır. En yüksek çimlenme oranı (%77.5) 20°C'de, en düşük çimlenme oranının ise (%23.3) 35°C uygulamasında belirlenmiştir. Işık uygulaması sadece 15°C uygulamasında tohum çimlenmesinde artışa neden olmuştur. Bununla birlikte, tuz konsantrasyonunun artışına bağlı olarak tohum çimlenmesinin azaldığı bildirilmiştir (El-Keblawy *et al.* 2007). Bu tür ile yapılan farklı bir çalışmada, tohum çimlenmesi üzerine dört sıcaklık rejimi (10/20, 15/25, 20/30 ve 25/35°C), beş tuz konsantrasyonu (0, 200, 400, 600 ve 800 mM NaCl) ve fotoperiyodun etkileri araştırılmıştır (Nisa *et al.* 2007). Kontrol koşullarında maksimum çimlenme belirlenirken, tohum çimlenmesi tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kademeli olarak azalmıştır. Optimum sıcaklık rejiminin 10/20°C olduğu ve ışık uygulamasının tohum çimlenmesi üzerine küçük bir etki gösterdiği belirtilmiştir.

*Salsola ferganica*'da tohum çimlenmesi için optimum sıcaklığın 25°C olduğu ve bu sıcaklıkta tohum çimlenmesinin 200 mM NaCl konsantrasyonuna kadar yüksek oranda çimlenme gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca 1000 mM NaCl uygulamasında düşük oranla da olsa tohum çimlenmesinin görüldüğü belirtilmiştir (Wang *et al.* 2013). Wei vd.

(2008), *Salsola affinis*'de tohum çimlenmesinin 400 mM NaCl uygulamasından etkilenmediği, buna karşın artan tuz konsantrasyonunun tohum çimlenmesini önemli düzeyde azalttığını bildirmiştir. Bununla birlikte, 2000 mM NaCl uygulamasında düşük oranla da (%2) olsa tohum çimlenmesi gözlemlenmiştir.

El-Keblawy vd. (2013), *Salsola rubescens* tohumlarının çimlenmesi üzerine farklı tuz konsantrasyonlarının (0, 100, 300 ve 500 mM NaCl), sıcaklık uygulamalarının (15/25°C, 20/30°C ve 25/35°C), ışığın ve tohum renginin etkilerinin araştırmışlardır. Sarı periantlı tohumların kırmızı periantlı tohumlara göre daha iyi çimlendiği ve periantı uzaklaştırılmasının tohum çimlenmesini arttırdığı bildirilmiştir. Düşük sıcaklık rejiminde periantın varlığı çimlenmeyi artırırken, periantın uzaklaştırılması yüksek sıcaklıklarda çimlenmeyi arttırmıştır. Kırmızı periantlı tohumların çimlenme sırasında ışık gereksinimlerinin olmadığı buna karşın sarı periantlı tohumların karanlığa göre ışıkta daha iyi çimlendikleri belirtilmiştir. Bununla birlikte, sarı periantlı tohumlara göre kırmızı periantlı tohumların tuz stresine daha toleranslı olduğu rapor edilmiştir. Her iki tohum tipinde periantın uzaklaştırılmasının tuz toleransını arttırdığı belirtilmiştir (El-Keblawy et al. 2013). Xing vd. (2013), farklı tuz konsantrasyonları (0-1000 mM) ve periantın *Salsola ikonnikovii*'de tohum çimlenmesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Tohum çimlenmesinin artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı ve periantın uzaklaştırılmasının tohum çimlenmesini arttırdığı bildirilmiştir.

Farklı popülasyonlardan toplanan *Salsola affinis*, *S. korshinskyi*, *S. brachiata* ve *S. nitraria* türlerinde tohum çimlenmesi üzerine dört farklı sıcaklık rejiminin (0/10°C, 5/15°C, 10/25°C ve 20/35°C) etkileri araştırılmıştır. Dört türde de sıcaklığın artışına bağlı olarak tohum çimlenmesinin inhibe olduğu ve optimum sıcaklık rejiminin 0/10°C olduğu bildirilmiştir (Ning et al. 2015). Rasheed vd. (2015), *Salsola drummondii* tohum çimlenmesi üzerine farklı tuz konsantrasyonları (0, 200, 400, 600, 800 ve 1,000 mM NaCl), termoperiyot uygulamaları (10/20, 15/25, 20/30 ve 25/35°C) ve ışık uygulamalarının etkilerinin araştırmıştır. Tuz konsantrasyonu ve sıcaklık uygulamalarındaki artışa bağlı olarak tohum çimlenmesinin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca

tohumların kısmen fotoblastik olduğu ve karanlık uygulamasına göre ışıktaki tohum çimlenmesinin genellikle daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

*Salsola ferganica*'da tohum çimlenmesi üzerine farklı tuz konsantrasyonları (0-1,000 mM NaCl), sıcaklık rejimleri (5/15, 10/20, 15/25 ve 20/30°C) ve ışığın etkileri araştırılmıştır (Ma et al. 2016). Sıcaklık uygulamalarının periantı uzaklaştırılmış tohumlarda önemli bir etki göstermediği, buna karşın periantlı tohumlarda düşük ve yüksek sıcaklık rejimlerinin çimlenmeyi olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Ayrıca periantı uzaklaştırılmış tohumların 1,000 mM NaCl konsantrasyonunda da çimlenebildiği ve tohumların çimlenebilmek için ışık gereksinimi olduğu belirtilmiştir (Ma et al. 2016). Benzer olarak, periantı uzaklaştırılmış *Salsola vermiculata* tohumlarının tuz stresi koşullarında daha iyi çimlendiği bildirilmiştir (Bhatt et al. 2017). *Salsola drummondii*'de 800 mM NaCl konsantrasyonuna kadar çimlenmenin gözlemlendiği, optimum çimlenme sıcaklığının 20/30°C olduğu ve ışık uygulamasının tohum çimlenmesini karanlığa göre arttırdığı bildirilmiştir (Rasheed et al. 2016).

*Salsola foetida* türünde sıcaklığın artışına bağlı olarak tohum çimlenmesinin azaldığı, distile su koşullarında maksimum (%95) çimlenmenin 15/25°C'de ve minimum (%35) çimlenmenin 30/40°C'de gözlemlendiği bildirilmiştir. Tohum çimlenmesinin karanlıkta en yüksek seviyede (%95) olduğu ve ışık uygulamasının çimlenme oranını %72'ye düşürdüğü belirtilmiştir. Ayrıca tohum çimlenmesinin 100 mM NaCl konsantrasyonunda %67'ye, 500 mM NaCl'de ise %12'ye kadar düştüğü bildirilmiştir (Hanif et al. 2017).

### **2.3 Halofitlerde Tuz Toleransı**

Farklı filogenetik gruplardaki yüksek bitkiler arasında halofitlerin geniş alanlara yayılmış olması, tuz toleransının polifiletik orijinini göstermekte ve glükofitlerle karşılaştırıldığında büyüme profillerindeki çeşitliliği açıklamaktadır. Bu nedenle, bu organizmalarda tek bir tuz tolerans mekanizması bulunmaması muhtemeldir (Himabindu et al. 2016). Birçok çalışmada, halofitlerdeki tuz tolerans genlerinin

glikofitlerdekiyle homoloji gösterdiği, ancak halofitlerdeki tuz tolerans mekanizmalarının çeşitli açılardan farklılık gösterebildiği gösterilmiştir (Rozema and Schat 2013, Cabot *et al.* 2014, Bose *et al.* 2015). Halofitlerdeki tuz tolerans mekanizmalarıyla ilgili adaptasyonların ozmotik tolerans, iyonların hariç tutulması ve doku toleransı gibi bir dizi mekanizmayı içerebileceği bildirilmiştir (Radyukina *et al.* 2007, Ellouzi *et al.* 2011, Bose *et al.* 2014a, b, Shabala and Pottosin 2014).

Çeşitli glikofitik ve halofitik bitki türlerinin tuzluluğa tepkilerinin transkriptom ve proteom analizlerini de içeren son çalışmalar bu bitkiler arasındaki farklar ortaya çıkarmıştır (Jithesh *et al.* 2006, Wang *et al.* 2008a, Barkla *et al.* 2012, Dinakar and Bartels 2013, Yang *et al.* 2013, Very *et al.* 2014). Glikofitler ve halofitlerin aynı gen setlerine sahip olabilirler, ancak bu genler farklı şekilde ifade olarak veya halofitler ve glikofitler arasındaki post-translasyonel düzenlemedeki farklılıkların tuza toleranslı fenotiplerin oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir (Edelist *et al.* 2009, Bonales-Alatorre *et al.* 2013a, b).

Dikotil halofitlerde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  hücresel ozmotik potansiyelin önemli bileşenleridir. Dokulardaki yüksek  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  konsantrasyonlarının bu iyonların hücre içerisinde kompartımanlaştırılması veya ozmotik çözünenlerin sentezi ile sağlandığı düşünülmektedir. Bu iyonların büyük çoğunluğu vakuollerde depolanmakta ve organik çözünenler sitoplazmanın ozmotik potansiyelini düzenlemektedir (Flowers and Colmer 2008). Vakuollerde başarılı bir şekilde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının alıkonulması, tonoplastta bulunan özel taşıyıcı proteinlere ve elektrokimyasal bir gradiyentin oluşmasını sağlayan  $\text{H}^+$  pompalarının varlığına bağlıdır (Flowers and Colmer 2008, Munns and Tester 2008, Hasegawa 2013, Shabala 2013). Tüm bitkiler  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonların ksilem akıntısında girişini düzenleyebilirler ve bu yetenek tuz toleransında belirleyici bir faktör olabilir (Munns and Tester 2008). Halofitler yüksek tuz konsantrasyonlarında dahi iyonlarının dokularından uzak tutabilmektedir (Flowers and Colmer 2008).

Önemli bir besin elementi olan  $K^+$  turgor basıncının oluşturulmasında önemli fonksiyona sahiptir ve büyük çoğunluğu vakuollerde tutulur (Kronzucker *et al.* 2013). Tuz stresi genellikle bitki dokularındaki  $K^+$  konsantrasyonlarını azaltmaktadır. Büyümede inhibisyona neden olan tuz konsantrasyonları sitoplazmik  $K^+$  konsantrasyonlarını azaltabilmekte ve bu azalmanın kök dokularında membran depolarizasyonunun ve potasyumunu dışarı atan kanalların reaktif oksijen türleri tarafından aktivasyonunun bir sonucu olduğu ileri sürülmüştür (Shabala *et al.* 2013). Bitkilerde  $Cl^-$  alımı ve taşınımı sıkı bir şekilde düzenlenmektedir (White and Broadley 2001). Bununla birlikte halofitlerdeki  $Cl^-$  taşıyıcıları hakkında bilgiler sınırlıdır ve  $Cl^-$  kanallarının rolleri hakkındaki bilgiler halofitlerdeki tuz toleransı hakkında önemli bilgiler sağlayabilir (Barbier-Brygoo *et al.* 2011, Wege *et al.* 2014). Ayrıca  $Cl^-$  iyonlarının  $Na^+$  iyonlarına göre protein sentezini daha fazla inhibe etmektedir (Flowers and Dalmond 1992). Bu bilgiler ışığında, sitoplazmik  $Na^+$  konsantrasyonunun yanı sıra  $Cl^-$  konsantrasyonunun düzenlenmesi tuz toleransı için önemlidir (Flowers and Yeo 1986).

Bitkiler genellikle su kaybını en aza indirmek için stoma iletkenliklerini azaltarak tuz stresine cevap verirler. Bu durum Calvin döngüsüyle karbon fiksasyonu için karbon dioksit alımını azaltır ve fotosentez için gerekli olandan daha fazla ışık enerjisinin absorpsiyonuna neden olur (Jithesh *et al.* 2006b, Ozgur *et al.* 2013). Sitozolde yüksek konsantrasyonlarda  $Na^+$  ve  $Cl^-$  iyonlarının birikimi ile birlikte, aşırı ışık fotosistemlerde elektron taşınım hızlarını etkiler ve reaktif oksijen türlerinin üretimini artırır (Allahverdiev *et al.* 2002). Ayrıca sınırlı karbondioksit fotorespirasyonu arttırarak daha fazla reaktif oksijen türünün üretimine neden olur (Foyer and Noctor 2003).

Oksijen kullanan tüm organizmalar için üretilen bu reaktif oksijen türleri zararlıdır. Bitkiler aşırı reaktif oksijen türü üretimini kontrol etmek ve sinyalleme için belirli bir seviyede tutmak için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Oksidatif zarara neden olan eşik konsantrasyon glükofitler ve halofitler arasında farklılık göstermektedir. Örneğin, halofitlerin gövde dokularında lipid peroksidasyonundaki artış 150 mM ve üzerindeki NaCl

konsantrasyonlarında belirlenmiştir (Ozgun *et al.* 2013). Bu konsantrasyon birçok glikofit için öldürücüdür. Halofitlerdeki yüksek antioksidan kapasitenin, bu bitkilerdeki yüksek tuz toleransı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Jithesh *et al.*, 2006b, Flowers and Colmer, 2008, Kosov *et al.*, 2013, Ozgun *et al.*, 2013).

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalının hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen enzimdir ve bitkilerde oksidatif strese karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilmektedir (Alscher *et al.* 2002). Glikofit türlerde SOD aktivitesi ve tuz toleransı arasında bir ilişkinin olduğuna dair farklı görüşler (Maksimovic *et al.* 2013) olmasına karşın, halofitlerin ekstrem çevre koşullarına adaptasyonda SOD enziminin önemli rolü olduğu düşünülmektedir (Jithesh *et al.* 2006b, Ozgun *et al.* 2013). Bazı halofitik türlerde Fe-SOD ve Mn-SOD aktivitesindeki artış ile tuz toleransı arasında bir korelasyonun olduğu (Jithesh *et al.*, 2006b), buna karşın Cu/Zn-SOD aktivitesinin belirgin bir farklılık göstermediği belirtilmiştir (Bose *et al.* 2014a). Bununla birlikte, halofit *Avicennia marina* Cu/Zn-SOD genini aşırı ifade eden çeltik bitkilerinde tuz toleransının arttığı ve Cu/Zn-SOD enziminin tuz toleransında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Prashanth *et al.* 2008).

Bitkilerde katalaz (CAT) enzimi, hidrojen peroksidin su ve oksijene parçalanmasından sorumludur (Willekens *et al.* 1997). Birçok halofitik türde CAT aktivitesinin farklı ifade profillerine (artış, azalış veya değişim yok) sahip olduğu gösterilmiştir (Jithesh *et al.* 2006b). Bununla birlikte, halofitler ve glikofitler arasında CAT enziminin ifadesi veya aktivitesini değerlendiren birkaç çalışma bulunmaktadır (Seçkin *et al.* 2010, Ellouzi *et al.* 2011). Bu çalışmalarda, glikofitik türlere göre halofitik türlerde CAT aktivitesinin daha yüksek seviyelerde olduğu ve tuz stresi koşullarında bu enzimin adaptasyon mekanizmalarına katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Apoplastta lokalize olan peroksidazlar (POD) da hidrojen peroksidin temizlenmesinde fonksiyon görmektedir (Fagerstedt *et al.* 2010). Glikofit türlere göre halofitlerde POD aktivitesinin daha yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir (Radyukina *et al.* 2007, Seçkin *et al.* 2010, Ellouzi *et al.* 2011). *Salsola ikonnikovii* bitkilerinde, yüksek NaCl konsantrasyonunun (500 mM) SOD,

CAT ve POD aktivitesinde artışa neden olduğu ve bu enzimlerin reaktif oksijen turlerini temizleyerek tuz toleransına katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (Jing *et al.* 2013).



### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1 Tohum Çimlenmesi ve Stres Uygulamaları

*Salsola crassa* tohumları doğal yayılış gösterdiği Tuz Gölü'nün Batısındaki (35°36'K, 33°09'D) tuzlu topraklardan 2014 yılı Kasım ayı içerisinde toplanmıştır (Şekil 3.1). Bu bölgedeki ortalama yıllık sıcaklık 11.7°C, en soğuk (Ocak) ve en sıcak (Temmuz) aylardaki ortalama sıcaklıklar sırasıyla –3.9°C ve 30.2°C'dir. Yıllık ortalama yağış miktarı ise 26.6 kg/m<sup>2</sup>'dir.



Şekil 3.1 *Salsola crassa* tohumlarının toplandığı alan.

Tohumların çimlenme oranını arttırmak için periant uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.2). Fungal enfeksiyonun önlenmesi için tohumlar %1'lik sodyum hipoklorür çözeltisi ile 20 dakika muamele edildikten sonra 3 kez steril distile su ile yıkanmıştır. Çimlenme testleri, 5 mL NaCl çözeltileri (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 ve 800 mM) ile ıslatılmış iki kat

filtre kağıdı bulunan 9 cm çapındaki steril plastik petri kaplarında gerçekleştirilmiştir. Evaporasyonla su kaybının önlenmesi için her bir petri sıkıca parafilm ile kapatılmıştır. Her birinde 25 tohum bulunan 4 tekrarlı petri kapları farklı sıcaklık uygulamaları (10, 15, 20, 25, 30 ve 35°C), 12 saat fotoperiyot ( $250 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) veya sürekli karanlık uygulamalarında 14 gün inkübe edilmiştir. Çimlenen tohumlar 12 saat fotoperiyot uygulamasında iki güne bir, karanlık uygulamasında ise 14. günün sonunda kaydedilmiştir.



**Şekil 3.2** *Salsola crassa* çiçek durumu, periantlı ve periantı uzaklaştırılmış tohum.

Çimlenme oranı, çimlenme hızının Timson's indeksi kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Çimlenme hızı} = \Sigma G/t$$

"G" iki gün arayla alınan çimlenme yüzdesini, "t" ise toplam çimlenme süresini ifade etmektedir (Khan and Ungar 1984).

### 3.2 Fide Büyümesi Üzerine NaCl Uygulamalarının Etkisi

*Salsola crassa* tohumları %1'lik sodyum hipoklorür çözeltisi ile 20 dakika muamele edildikten sonra 3 kez steril distile su ile yıkanmıştır. Steril tohumlar, 5 mL distile su ile ıslatılmış iki kat filtre kağıdı bulunan 9 cm çapındaki steril plastik petri kaplarında, 25°C'de ve 12 saat fotoperiyotta ( $250 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 5 gün süreyle çimlendirilmiştir. Yaklaşık aynı kök ve gövde uzunluğuna sahip fideler içerisinde modifiye Hoagland besin çözeltisi bulunan hidroponik kültür kaplarına transfer edilmiştir. Fideler 3 gün süreyle 25°C, %60 nem ve 12 saat fotoperiyota ( $250 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ayarlanmış iklim kabininde büyütülmüştür. Bu süre sonunda fideler 0 (kontrol), 100 ve 300 mM NaCl konsantrasyonları içeren besin çözeltilerine transfer edilmiş ve 14 gün boyunca iklim kabininde büyütülmüştür. Besin çözeltileri iki günde bir değiştirilmiştir. Bu süre sonunda fideler hasat edilmiş, gövde ve kök dokuları ayrılarak taze ağırlıkları (mg/fide) belirlenmiştir. Kuru ağırlıklar (mg/fide) ise dokular 80°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra belirlenmiştir.

### 3.3 Sodyum ve Potasyum İçeriğinin Belirlenmesi

Kök ve toprak üstü organlarda  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  içerikleri NMKL (1998)'e göre belirlenmiştir. Kuru bitki örnekleri (0.5 g), 10 mL %65'lik  $\text{HNO}_3$  kullanılarak mikrodalga fırında (Berghof Products + Instruments, Germany) yakılmıştır. Yakma işlemi sonucunda örnekler filtre edilmiş ve hacimleri bidistile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Stok Na ve K çözeltileri (Inorganic Ventures, Christiansburg, Virginia, USA) seyreltilerek hazırlanan kör dahil dört farklı konsantrasyondaki çözelti ile kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ( $r^2 = 0.999$  ve üzeri) ve örneklerin  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  konsantrasyonları, Winlab32 paket programı kullanan ICP/OES (Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry, Perkin Elmer 2100 DV) cihazı ile hesaplanmıştır. Toprak üstü ve kök dokularında Na ve K içerikleri  $\text{mg g}^{-1}$  KA olarak hesaplanmıştır.

### **3.4 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi**

#### **3.4.1 Enzim Ekstraksiyonu**

*S. crassa* fidelerinin kök ve yaprak dokuları (500 mg) 1 mM EDTA, %1 (w/v) polivinilpirrolidon (PVP) içeren 5 mL 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 7.0) homojenize edilmiştir. Homojenat +4°C ve 14,000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar süperoksit dismutaz (SOD), guaiakol peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Süpernatantlardaki protein miktarı Bradford (1976)'a göre belirlenmiştir.

#### **3.4.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi**

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi, nitroblue tetrazolium (NBT) metoduna göre (Beauchamp and Fridovich 1971) NBT'nin fotoindirgenmesinin 560 nm'de ölçülmesi ile belirlenmiştir. Aktivite tayini için 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 0.1 mM EDTA, 13 mM metiyonin, 75 µM NBT ve %1'lik Triton X-100 içeren karışıma 70 µl enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışıma ve 2 µM riboflavin eklenmiş ve test tüplerinin 10 dakika için beyaz ışık kaynağı altına yerleştirilmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Örneklerin absorbans değerleri 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik (TU-1880 Double Beam UV-VIS) olarak belirlenmiştir. Bir ünite SOD, deneysel koşullar altında NBT indirgenmesinde %50 inhibisyona neden olan enzim miktarı olarak ifade edilmiştir. Toplam SOD aktivitesi U mg<sup>-1</sup> protein olarak hesaplanmıştır.

#### **3.4.3 Guaiakol Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi**

Guaiakol peroksidaz (POD, EC 1.11.1.7) aktivitesi Mika ve Lüthje (2003)'ye göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 25 mM sodyum-asetat-HCl (pH 5.0), 51.3 mM guaiakol, 12.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstraktı içermektedir. Reaksiyon enzim ekstraktının ilavesiyle başlatılmış ve absorbanstaki değişim 470 nm'de 3 dakika süre boyunca takip

edilmiştir. Toplam POD aktivitesi, guaiakolun ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  protein olarak belirlenmiştir.

#### **3.4.4 Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi**

Toplam katalaz aktivitesi (CAT, EC 1.11.1.6) Aebi (1984)'ye göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) ve 10.6 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  içermektedir. Reaksiyon 25  $\mu\text{L}$  enzim ekstraktının ilave edilmesi ile başlatılmıştır. CAT aktivitesi,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in 3 dakika için 240 nm'de ( $\epsilon = 39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) bozunması ile  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  protein olarak belirlenmiştir.

#### **3.5 İstatistik Analizler**

Varyans homojenitesini sağlamak için istatistiksel analizlerden önce çimlenme verilerine arcsin dönüşümü uygulanmıştır. Veriler SPSS ver. 17.0 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Çimlenme üzerine tuzluluk, sıcaklık ve ışık uygulamalarının etkisi varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiştir. Tuzluluk ve sıcaklık uygulamalarındaki çimlenme yüzdesi ortalamaları arasındaki önemli farklılıklar ( $P < 0.05$ ) Bonferroni testi kullanılarak belirlenirken, ışık ve karanlık uygulamaları arasındaki önemli farklılıklar Student-T testi kullanılarak belirlenmiştir. Büyüme denemeleri ve antioksidan enzim aktivitelerinin ölçümlerinden elde edilen en az üç tekrarlı olarak düzenlenmiş üç bağımsız denemeden elde edilmiştir. Veriler arasındaki önemli farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

## 4. BULGULAR

### 4.1 Tuz, Sıcaklık ve Işık Etkileşimlerinin Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi

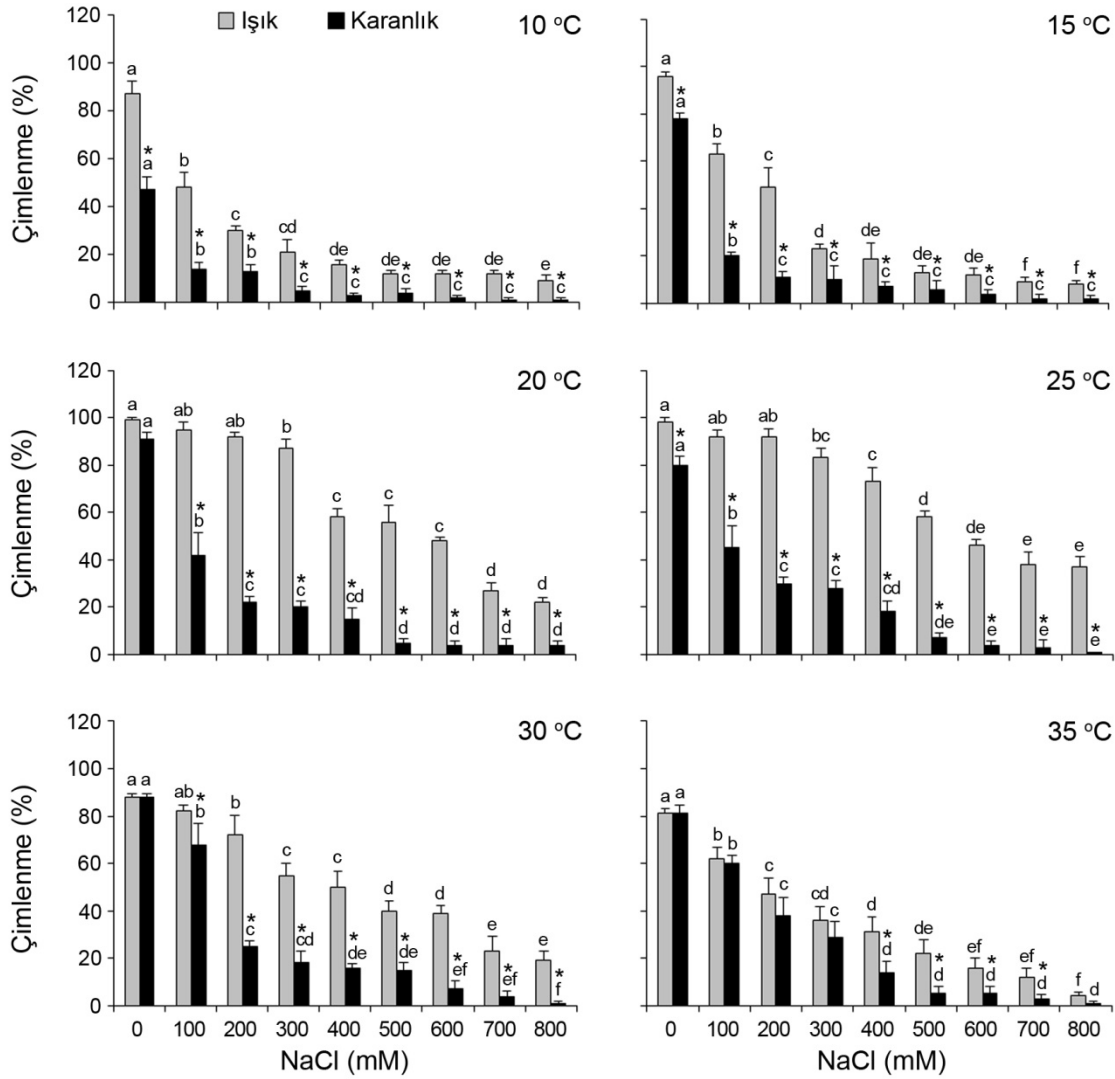
Bu araştırmada, *Salsola crassa*'nın tohum çimlenmesi üzerine farklı NaCl konsantrasyonları (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 ve 800 mM), sıcaklık uygulamaları (10, 15, 20, 25, 30 ve 35°C) ve ışığın (sürekli karanlık ve 12:12 fotoperiyot) etkileri incelenmiştir. Üç yönlü ANOVA analizleri *S. crassa* tohum çimlenmesinin tuzluluk ( $F=459.54$ ,  $P < 0.0001$ ), sıcaklık ( $F=141.959$ ,  $P < 0.0001$ ), ışık ( $F=1.12$ ,  $P < 0.0001$ ) ve bu faktörlerin etkileşimleri tarafından önemli düzeyde etkilendiğini göstermiştir ( $P < 0.0001$ ) (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1** *Salsola crassa*'nın tohum çimlenmesi üzerine sıcaklık, tuzluluk, fotoperiyot ve etkileşimlerinin etkileri için varyans analizi

Değişken	Sum of Squares	df	Mean Square	F-değeri	P-değeri
Sıcaklık (S)	45155,296	5	9031,059	141,959	0.0001
Tuz (T)	233878,074	8	29234,759	459,541	0.0001
Işık (I)	71456,333	1	71456,333	1,123E3	0.0001
S * T	12037,037	40	300,926	4,730	0.0001
S * I	19143,444	5	3828,689	60,183	0.0001
T * I	7697,333	8	962,167	15,124	0.0001
S * T * I	11632,889	40	290,822	4,571	0.0001

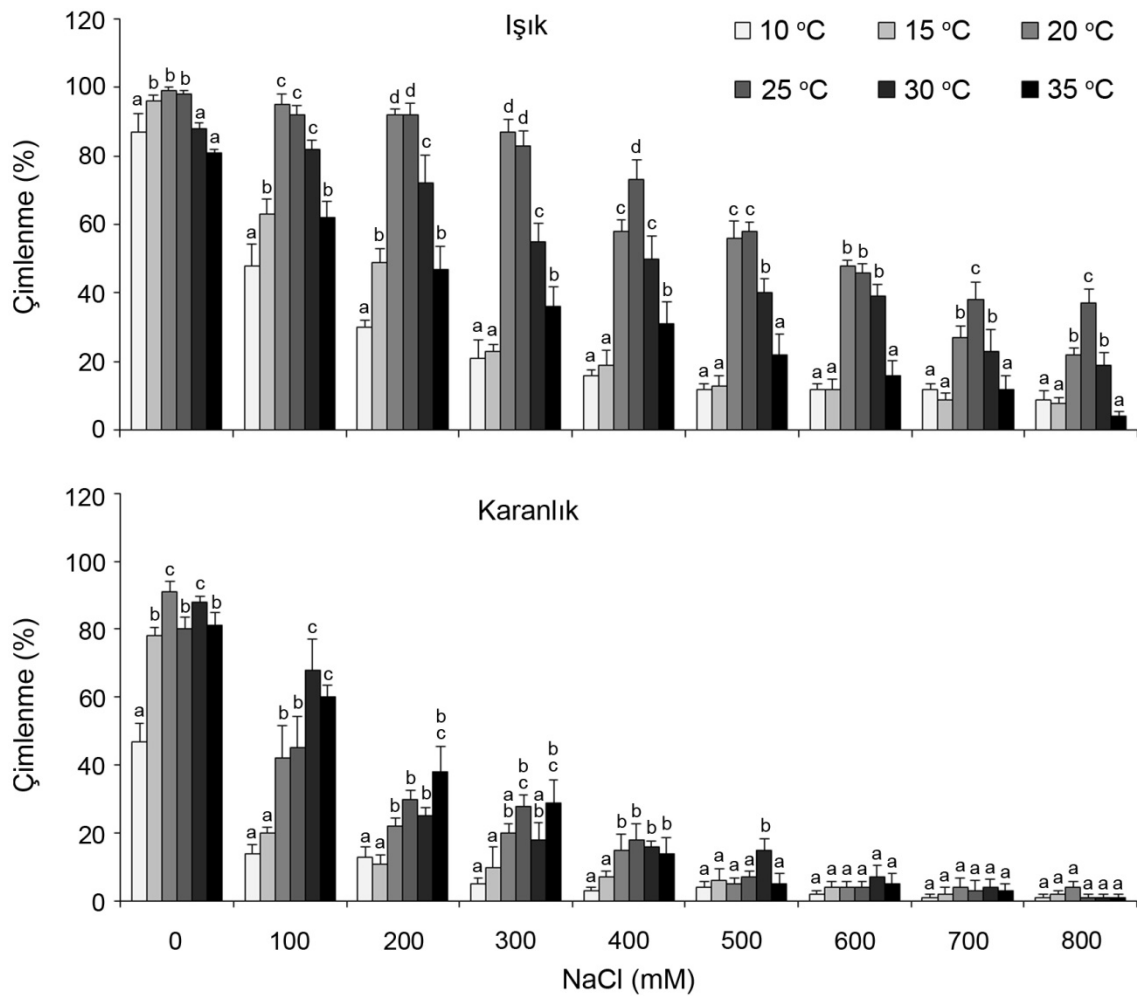
*Salsola crassa*'da en yüksek tohum çimlenmesi (%98-99) distile suda 20 ve 25°C uygulamalarında elde edilmiştir (Şekil 4.1). NaCl konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak tohum çimlenmesinde yüzdesinde azalmaya neden olmuştur ve bu azalmalar sıcaklık ve ışık uygulamalarına bağlı olarak farklılık göstermiştir. 20 ve 25°C sıcaklık uygulamalarında, kontrole göre 100 ve 200 mM NaCl uygulamaları tohum çimlenmesinde önemli bir farklılığa neden olmamıştır. Bununla birlikte, 20 ve 25°C sıcaklık ve ışık uygulamalarında, 500 mM NaCl uygulamasında %50'nin üzerine

çimlenme yüzdesi (%56-58) belirlenmiştir. Genellikle tüm NaCl ve sıcaklık uygulamalarında, ışık ve karanlık uygulamaları arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu farklılıklar özellikle optimum sıcaklık uygulamalarında (20 ve 25°C) daha belirgin bulunmuştur (Şekil 4.1).



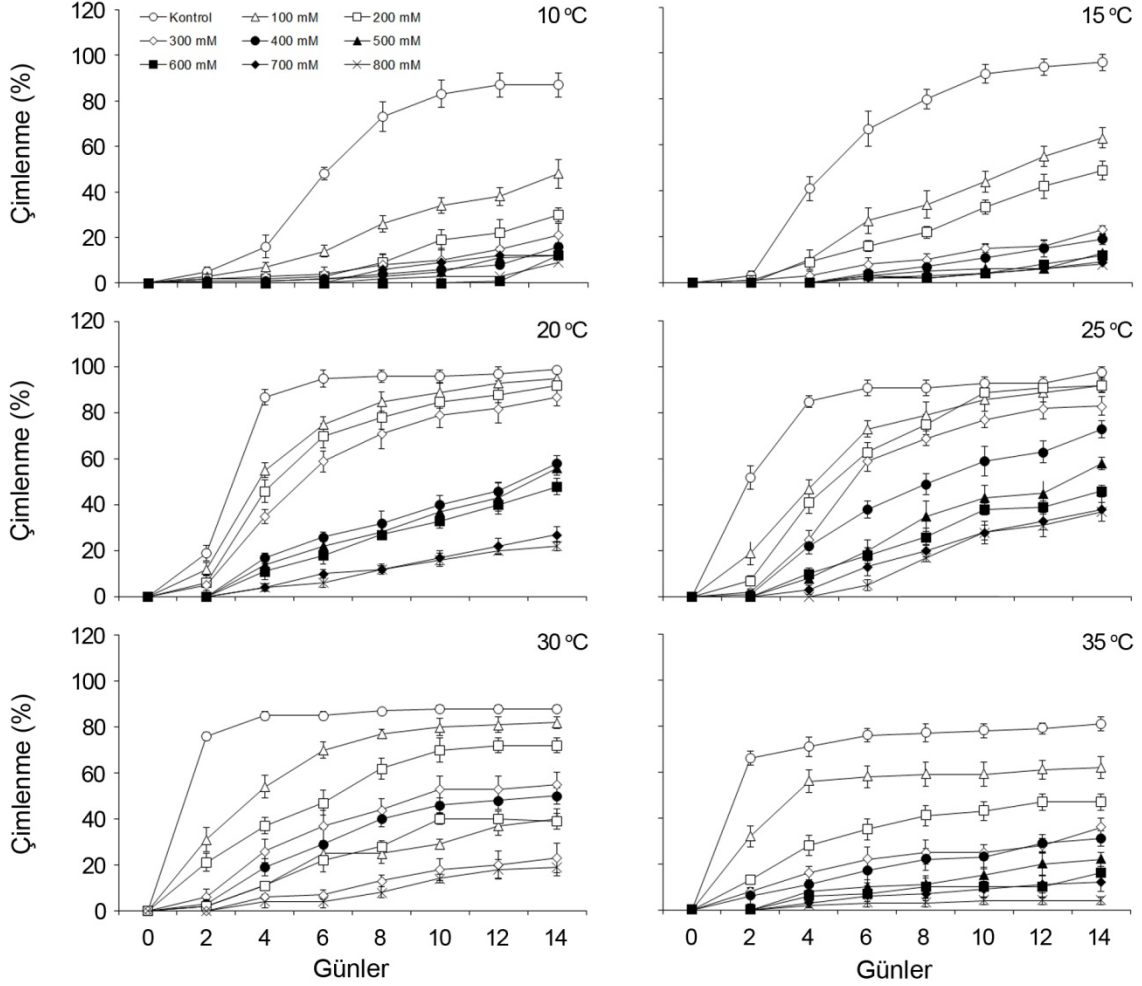
**Şekil 4.1** *Salsola crassa*'nın tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk, sıcaklık ve ışığın etkileri. Barlar standart hatayı göstermektedir. Farklı harfler (a-f), Bonferroni testine göre NaCl konsantrasyonları arasındaki önemli farklılıkları, yıldızlar (\*) ise Student-T testine göre ışık ve karanlık uygulamaları arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Işık uygulamasında *S. crassa* tohum çimlenmesi düşük sıcaklık (10 ve 15°C) ve yüksek sıcaklık (30 ve 35°C) uygulamalarında önemli düzeyde ( $P < 0.05$ ) azalmıştır ve bu azalmalar NaCl konsantrasyonlarında daha belirgin bulunmuştur (Şekil 4.2). Bununla birlikte, karanlık uygulamasında tohum çimlenmesi düşük sıcaklık (10 ve 15°C) uygulamalarından önemli düzeyde etkilenmiştir. Diğer taraftan, karanlık koşullarında sıcaklık uygulamalarının etkisi 600 mM ve üzeri NaCl konsantrasyonlarında ortadan kalkmıştır (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2** *Salsola crassa*'nın tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk, sıcaklık ve ışığın etkileri. Barlar standart hatayı göstermektedir. Farklı harfler (a-d), Bonferroni testine göre her bir NaCl konsantrasyonunda sıcaklık uygulamaları arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

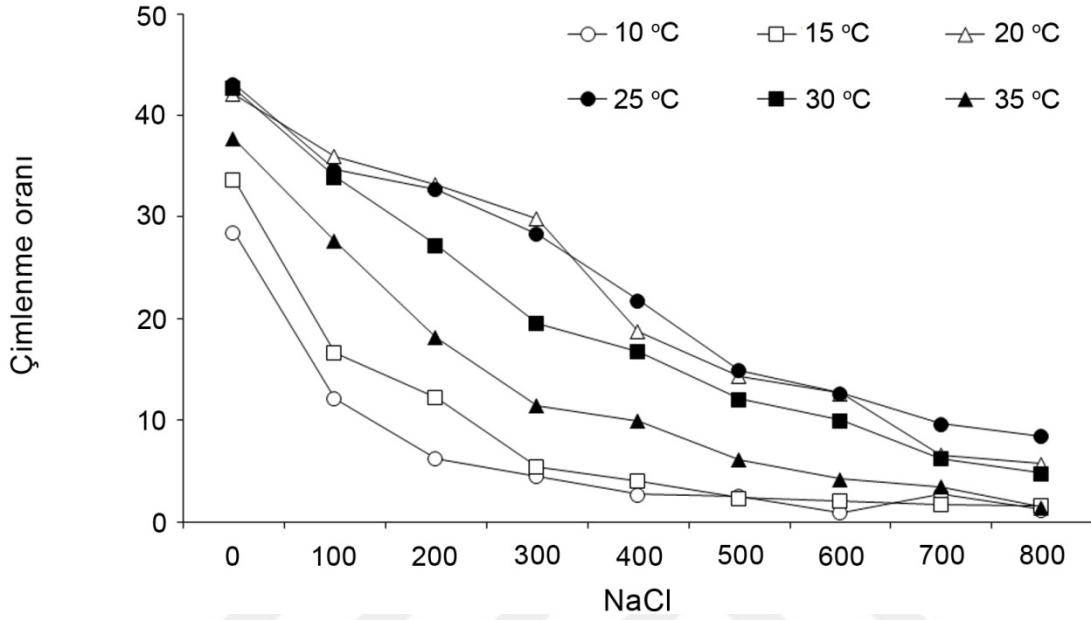
Maksimum çimlenme yüzdeleri 6-8. günlerde optimum sıcaklık uygulamalarında elde edilmiştir (Şekil 4.3). Düşük sıcaklık uygulamalarında (10 ve 15°C) maksimum çimlenme yüzdesine 12. günde distile su uygulamasında ulaşılmıştır.



**Şekil 4.3** *Salsola crassa*'nın zamana bağlı tohum çimlenmesi üzerine tuzluluk ve sıcaklık uygulamalarının ışığın etkileri. Barlar standart hatayı göstermektedir.

*Salsola crassa*'nın çimlenme oranları en yüksek olarak distile su uygulamasında ve optimum sıcaklık uygulamalarında (20 ve 25°C) belirlenirken, NaCl konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak çimlenme oranları azalmıştır (Şekil 4.4). Düşük

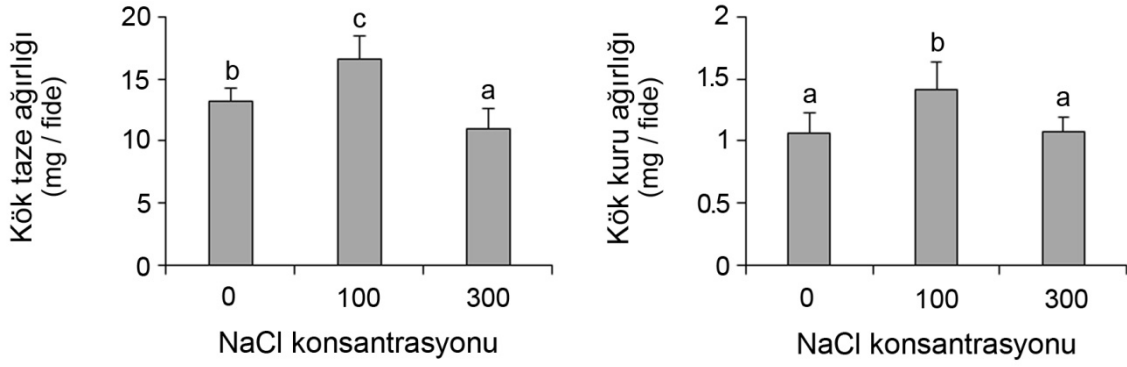
sıcaklık (10 ve 15°C) ve yüksek sıcaklık (35°C) uygulamalarında çimlenme oranları diğer uygulamalara göre daha düşük seviyede bulunmuştur.



Şekil 4.4 Farklı sıcaklık ve tuz uygulamaları altındaki *S. crassa*'nın çimlenme oranları.

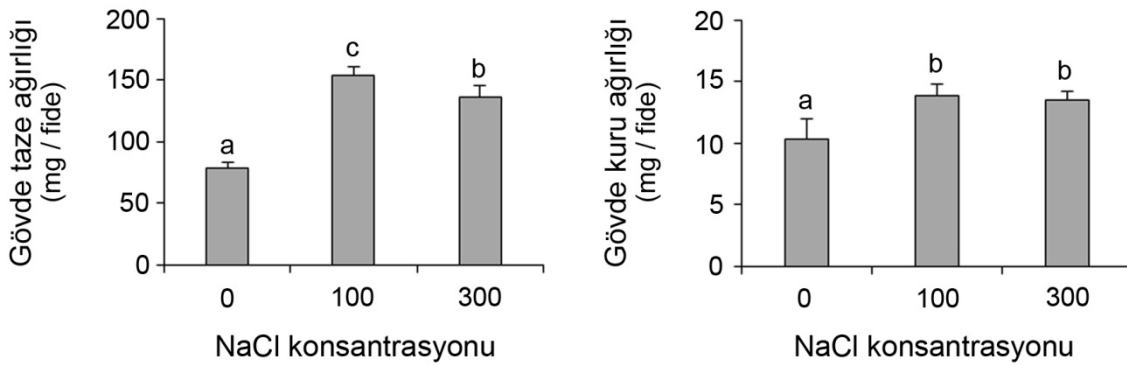
#### 4.2 *Salsola crassa* Fidelerinde Tuz Stresinin Büyüme ve Na-K İçerikleri Üzerine Etkisi

Hidroponik kültür ortamında büyütülen *S. crassa* bitkilerinde kök ve gövde dokularının büyüme parametreleri (taze ve kuru ağırlıklar) üzerine farklı tuz konsantrasyonlarının (0, 100 ve 300 mM) etkisi Şekil 4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir. Kontrole (0 mM NaCl) göre 100 mM NaCl uygulaması *S. crassa* fidelerinin kök taze ağırlıklarında %25.6 oranda artışa neden olurken, 300 mM NaCl uygulaması %17'lik azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte, kontrole göre 100 mM NaCl uygulaması kök kuru ağırlıklarında %33.2'lik bir artışa neden olurken, 300 mM NaCl uygulamasının önemli bir etkisi belirlenmemiştir (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5** *Salsola crassa* fidelerinin kök taze ve kuru ağırlıkları üzerine tuz stresinin etkisi. Barlar standart hatayı göstermektedir. Farklı harfler (a-c), Duncan çoklu karşılaştırma testine göre her bir NaCl konsantrasyonu arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Kontrole göre 100 ve 300 mM NaCl uygulamalarında gövde taze ağırlıkları sırasıyla 1.95 ve 1.72 kat artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Benzer olarak, gövde kuru ağırlıkları da kontrole göre 100 ve 300 mM NaCl uygulamalarında önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu artış sırasıyla %35.0 ve %31.5 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6** *Salsola crassa* fidelerinin gövde taze ve kuru ağırlıkları üzerine tuz stresinin etkisi. Barlar standart hatayı göstermektedir. Farklı harfler (a-c), Duncan çoklu karşılaştırma testine göre her bir NaCl konsantrasyonu arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

*S. crassa* fidelerinin kök ve gövde dokularında Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> içerikleri ve Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> oranı üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkisi Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. NaCl konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kök ve gövde dokularında Na<sup>+</sup> içerikleri önemli seviyede artarken, K<sup>+</sup> içerikleri azalmıştır. Kök dokularına göre gövde dokularında daha yüksek seviyede Na<sup>+</sup> iyonları birikmiştir. Buna karşın, NaCl stresi kök dokularına göre gövde dokularındaki K<sup>+</sup> içeriklerinde daha fazla azalmaya neden olmuştur. Bu durum, gövde dokularında daha yüksek Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> oranlarıyla sonuçlanmıştır (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2** *Salsola crassa*’nın kök ve gövde dokularında Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> içerikleri üzerine tuz stresinin etkisi

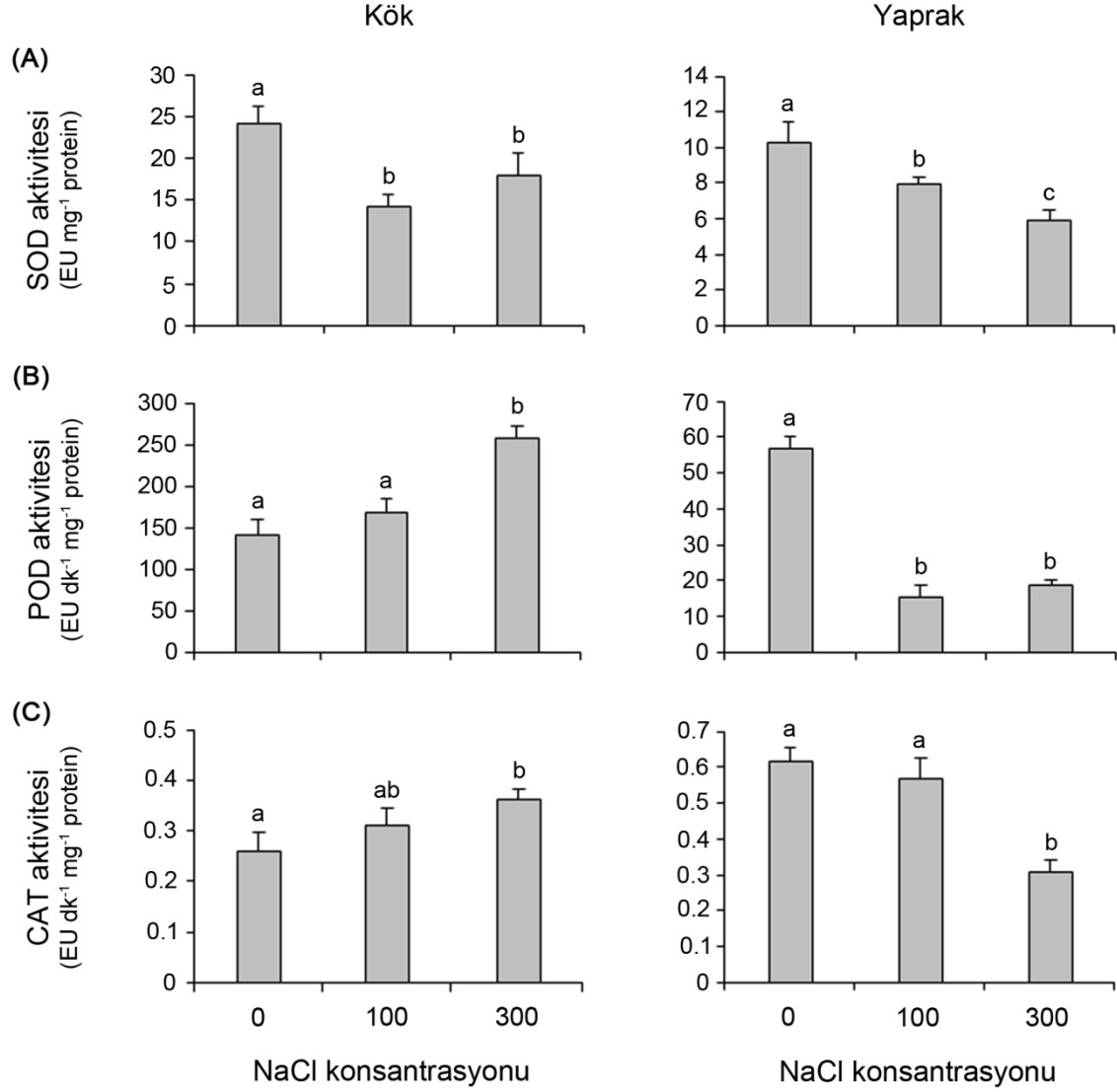
Doku	NaCl kons.	Na <sup>+</sup> (mg/g KA)	K <sup>+</sup> (mg/g KA)	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>
Kök	0	4.26 ± 0.90 <sup>a</sup>	67.7 ± 10.9 <sup>a</sup>	0.06
	100	24.3 ± 2.11 <sup>b</sup>	50.4 ± 8.09 <sup>b</sup>	0.48
	300	42.9 ± 5.01 <sup>c</sup>	47.0 ± 7.55 <sup>b</sup>	0.91
Gövde	0	3.55 ± 0.75 <sup>a</sup>	30.6 ± 4.91 <sup>a</sup>	0.1
	100	64.8 ± 3.62 <sup>b</sup>	13.0 ± 2.09 <sup>b</sup>	5.0
	300	90.9 ± 9.12 <sup>c</sup>	8.92 ± 1.43 <sup>c</sup>	10.2

Farklı harfler (a-c), Duncan çoklu karşılaştırma testine göre her bir NaCl konsantrasyonu arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir (P < 0.05).

#### **4.7 *Salsola crassa* Fidelerinde Tuz Stresinin Antioksidan Enzimlerin Aktivitesi Üzerine Etkisi**

*S. crassa* fidelerinin kök ve yaprak dokularında süperoksit dismutaz (SOD), guaiakol peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) aktivitesi üzerine farklı NaCl konsantrasyonlarının etkisi Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Kontrole göre 100 ve 300 mM NaCl uygulamaları kök ve yaprak dokularının SOD aktivitesinde önemli düzeyde azalışa neden olmuştur (P < 0.05) (Şekil 4.7A). Kontrole göre 300 mM NaCl uygulaması kök dokusunun POD aktivitesinde artışa neden olurken, yaprak dokusunun POD aktivitesi her iki NaCl konsantrasyonunda da önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.7B). Bununla birlikte, 300

mM NaCl uygulaması kök dokusunda CAT aktivitesini önemli seviyede arttırırken, yaprak dokusunda azaltmıştır (Şekil 4.7C).



**Şekil 4.7** *Salsola crassa* fidelerinin kök ve yaprak dokularında (A) süperoksit dismutaz (SOD), (B) guaiakol peroksidaz (POD) ve (C) katalaz (CAT) aktivitesi üzerine tuz stresinin etkisi. Farklı harfler (a-c), uygulamalar arasında Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemli düzeydeki ( $P < 0.05$ ) farklılıkları göstermektedir. Barlar standart hatayı ( $\pm SH$ ) göstermektedir.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yağışın az olduğu ve yüksek oranda evaporasyonun görüldüğü kurak bölgelerde toprak yüzeyinde tuzların birikimine neden olmaktadır. Bu olumsuz koşullar halofitik bitkilerin yaşam döngülerinin tüm evrelerinde adaptasyon ve hayatta kalma stratejileri geliştirmesine neden olmuştur (Gutterman 2002). Bu evreler arasında tohumlar ekstrem çevresel faktörlere karşı oldukça yüksek dirence sahiptir. Bu tip topraklarda başarılı bitki gelişimi başarılı çimlenmeye bağlıdır. *Salsola crassa* zorlu çevresel koşullarda yaşam döngüsünü tamamlayan halofit türlerden biridir. Bu araştırmada, artan tuz konsantrasyonlarına cevap olarak *S. crassa* bitkisinin tohum çimlenme yüzdesinde azalma ve çimlenme zamanında gecikme belirlenmiştir. Optimum çimlenme yüzdeleri distile su uygulamalarında elde edilmiştir ve artan tuz konsantrasyonu tohum çimlenmesini inhibe etmiştir. Bununla birlikte, 20 ve 25°C uygulamalarında 100 ve 200 mM NaCl konsantrasyonu çimlenme yüzdelerinde önemli etki göstermemiştir. Zıt olarak, *Suaeda salsa* (Song *et al.* 2008) ve *Salsola ikonnikovii* (Xing *et al.* 2013) gibi halofitik türlerde 100 mM ve üzerindeki NaCl konsantrasyonlarının tohum çimlenmesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Diğer taraftan, *Salsola ferganica* türünde 200 mM ve *S. affinis* türünde ise 400 mM NaCl uygulamasında tohum çimlenmesinin kontrolle benzer olduğu bildirilmiştir (Wei *et al.* 2008, Wang *et al.* 2013). Tuz stresinin tohum çimlenmesi üzerine olan bu olumsuz etkisinin ozmotik stres ve iyon toksisitesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Song *et al.* 2005).

Çimlenme sırasında yüksek seviyede tuza toleranslı türler diğer gelişimsel evreler de yüksek tolerans seviyesine de sahiptir. Khan (1999) halofit türleri çimlenme sırasındaki tuz toleransına göre üç kategoriye ayırmıştır: düşük seviyede toleranslı (125 mM NaCl'nin altında düşük çimlenme yüzdesi), orta seviyede toleranslı (500 mM NaCl'ye kadar çimlenebilme) ve yüksek seviyede toleranslı (800 mM ve üzerindeki konsantrasyonlarda çimlenebilme). Bu sınıflandırmaya göre, 25°C uygulamasındaki *S. crassa* tohumları 800 mM NaCl konsantrasyonunda %37 çimlenme yüzdesine sahip olmasından dolayı üçüncü grup olan yüksek seviyede tuza toleranslı kategorisinde

değerlendirilebilir. Guma vd. (2010) ve Assaeed (2001), 150 mM ve üzeri NaCl konsantrasyonlarında tohum çimlenme yüzdeleri önemli seviyede inhibe olan *S. vermiculata* ve *S. villosa* türlerini orta seviyede tuza toleranslı olarak sınıflandırmışlardır.

Sıcaklık ve termoperiyot tohum olgunlaşması, dormansi ve çimlenmeyi etkileyen önemli çevresel faktörlerdir (Ungar 1995, Copeland and Mc Donald 2004). Baskin ve Baskin (2001), halofitik türlerin çimlenme sırasında sıcaklığa farklı cevaplar verdiğini ve türe özgü optimum sıcaklıkların 5 ila 35°C arasında değiştiğini bildirmiştir. Araştırmamızda farklı sıcaklık uygulamaları ve tuz konsantrasyonlarının etkileşim içinde olduğu ve çimlenme cevaplarını etkilediği belirlenmiştir. Artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak düşük (10 ve 15°C) ve yüksek sıcaklık (30 ve 35°C) tohum çimlenmesinde önemli inhibisyonlara neden olmuştur. Yüksek tuz konsantrasyonlarında daha yüksek çimlenme yüzdelerinden dolayı optimum çimlenme sıcaklığı olarak 25°C belirlenmiştir. *Salsola vermiculata* için 10/20°C termoperiyot optimum çimlenme sıcaklığı olarak belirlenmiştir (Guma et al. 2010). Partzsch (2009), kışlık tek yıllık halofit türlerin çimlenme için soğuk koşulları tercih ettiğini bildirmiştir. Heard ve Ancheta (2011), tek yıllık halofit *Symphyotrichum laurentianum*'in en iyi çimlenme sıcaklığının 30°C olduğunu ve sıcaklığın düşmesiyle birlikte çimlenmenin kuvvetli şekilde azaldığını belirtmiştir. Diğer taraftan, *Salsola affinis*'de tohum çimlenmesi üzerine farklı sıcaklıkların (5-30°C) önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Wei et al. 2008). Mevcut araştırmanın sonuçları, *S. crassa*'da tohum çimlenmesi için nispeten ılıman sıcaklıkların gerekli olduğunu göstermektedir.

Işık (fotoperiyot) tohum çimlenmesinde önemli bir belirleyici faktördür; çünkü birçok tohumda fitokrom aracılı cevaplar çimlenme zamanının belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Halofitik türlerin tohum çimlenmesi sırasında ışığa verdikleri cevaplar farklılık göstermektedir. Bazı halofitik türlerde ışık tohum çimlenmesini inhibe ederken bazı türlerin çimlenebilmesi için ışık gereklidir (El-Keblawy and Al-Shamsi 2008, Yıldız et al. 2008, Ahmed and Khan 2010, El-Keblawy et al. 2011, Saeed et al. 2011). Mevcut araştırmada, *S. crassa* tohum çimlenmesi üzerine ışığın etkisi önemli bulunmuştur ve

genellikle karanlık uygulaması tohum çimlenmesini inhibe etmiştir. Bu sonuç tohum çimlenmesinin ışık tarafından teşvik edildiğini göstermektedir. Çimlenme için ışık gereksinimi 23 halofitik türde belirlenmiştir (Baskin and Baskin 1998). Zaman vd. (2009) *Tamarix aucheriana* tohumlarının karanlık uygulamasına göre ışıkta daha iyi çimlendiklerini bildirmişlerdir. Diğer taraftan, kontrol ve tuz uygulamaları altındaki *Salsola imbricata* bitkisinin ışık ve karanlıktaki tohum çimlenmeleri arasında önemli farklılık belirlenmemiştir (Mehrunnisa *et al.* 2007). Bazı halofitik türlerde tek başına ışık tohum çimlenmesini kontrol ederken bazı türlerde tuzluluk ve sıcaklık ile etkileşim halindedir (Gutterman *et al.* 1995). Halofitik türlerde ışık genellikle kontrol koşullarında çimlenmeyi etkilememektedir (Wei *et al.* 2008, Redondo-Gomez *et al.* 2011). Araştırmamızda, distile su uygulamasındaki tohum çimlenmesi üzerine ışığın etkisi düşük sıcaklık uygulamalarında (10 ve 15°C) belirlenmiştir. Bununla birlikte, tohum çimlenmesi üzerine ışığın etkisi 35°C uygulamasında yüksek tuz konsantrasyonlarında ( $\geq 400$  mM) belirlenirken, diğer sıcaklık uygulamalarında tüm tuz konsantrasyonlarında belirlenmiştir. Benzer şekilde, tuz stresi altındaki *Aeluropus lagopoides*, *Dicanthium annulatum*, *Limonium iconicum*, *Limonium lilacinum* *Sporobolus ioclados* ve *Urochondra setulosa* gibi halofitik türlerde karanlık uygulamasının tohum çimlenmesini kısmen veya tamamen inhibe ettiği bildirilmiştir (Khan and Gulzar 2003, Yıldız *et al.* 2008).

Bir bitki türünün farklı aşamalarındaki tuzluluk direncinin mutlaka birbiriyle ilişkili olmadığı bildirilmiştir (Lutts *et al.* 1995). Buğday bitkilerinin iyonik ve ozmotik streslere verdiği cevaplar değerlendirildiğinde, stres koşulları altındaki tohum çimlenmesi özelliklerinin daha sonraki evrelerde ortaya konulacak tuz toleransı ile ilişkili olmayacağı gösterilmiştir (Almansouri *et al.* 2001). Mevcut araştırmada, *S. crassa* fidelerinin büyümesi ve fizyolojik cevapları üzerine kısa süreli tuz stresinin etkileri incelenmiş ve bu bitkinin nispeten yüksek NaCl konsantrasyonlarını tolere edebildiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, düşük tuz konsantrasyonları (100 mM NaCl) ve hatta 300 mM NaCl konsantrasyonu fide büyümesinde artışa neden olmuştur. Benzer sonuç, optimum büyüme için 100 mM'lık NaCl konsantrasyonuna gereksinim duyan ve

oldukça yüksek tuz konsantrasyonlarında bile büyüme yeteneğine sahip bir halofit olan *Theellungiella halophila* türünde de belirlenmiştir (Zhao *et al.* 2009). Ayrıca, *Salsola ikonnikovii* türünde 50–100 mM NaCl konsantrasyonunun fide büyümesini arttırdığı, buna karşın 500 mM gibi yüksek NaCl konsantrasyonunun inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir (Xing *et al.* 2013). Tuz stresi tarafından büyümenin teşvik edilmesi çok yıllık halofit *Sueda fruticosa* türünde de rapor edilmiştir (Khan *et al.* 2006). Bununla birlikte, 40 günlük *S. crassa* fidelerinde 15 gün süreyle uygulanan farklı NaCl konsantrasyonlarının (0-1,500 mM) fide büyümesini etkilemediği, buna karşın 30 günlük uygulamanın inhibisyona neden olduğunu bildirmiştir (Yıldıztuğay *et al.* 2014). Bu sonuçlar *S. crassa*'nın oldukça kurak ve tuzlu alanlarda yaşayabilecek tuza dayanıklı bir bitki türü olduğuna işaret etmektedir.

Tuz stresine tolerans, toksik iyonların vakuollerde biriktirebilme ve dolayısıyla sitozol ve nükleustaki önemli enzimlerin tuz tarafından inhibe edilmesinin önlenmesi yeteneğine bağlıdır (Gupta and Huang 2014). Mevcut araştırmada, kök dokusundaki Na<sup>+</sup> içeriğinin kontrole göre 300 mM NaCl uygulamasında yaklaşık 10 kat arttığı, gövde dokusunda ise yaklaşık 25 kat arttığı belirlenmiştir. Benzer olarak, 500 mM NaCl stresine maruz kalan *Juncus acutus* bitkilerinin toprak üstü dokularında kontrole göre 20 kat daha yüksek oranda Na<sup>+</sup> biriktiği rapor edilmiştir (Boscaiu *et al.* 2011). Bu durum, halofitlerin tuz stresine olan temel bir tepkisidir, aksine glikofitler sodyum iyonlarını köklerden uzak tutma eğilimindedir (Flowers *et al.* 1986). Diğer taraftan, tuz stresine bağlı olarak *S. crassa* bitkilerinin kök ve gövde dokularında K<sup>+</sup> içeriğinde azalma ve Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> oranında önemli bir artış belirlenmiştir. Benzer sonuçlar tuz stresi altındaki bazı *Salsola* türleri ve *Sesuvium portulacastrum* türünde de belirlenmiştir (Heidari-Sharifabada and Mirzaie-Nodoushan 2006, Yi *et al.* 2014). Bitkilerin tuzlu koşullarla mücadele yeteneği K<sup>+</sup> beslenmesine bağlıdır ve Na<sup>+</sup> iyonları K<sup>+</sup> iyonlarının yerine geçemez (Volkov and Amtmann 2006, Wingler *et al.* 2006). Bu nedenle, hem glikofitlerde hem de halofitlerde önemli bir besin elementi ve ozmotik basınca katkıda bulunan önemli bir çözünen olarak kabul edilmektedir (Blumwald 2000). Mevcut araştırmada, NaCl stresi altındaki fidelerin gövde dokularındaki K<sup>+</sup> içeriğinin Na<sup>+</sup> içeriğinden oldukça düşük

olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar, *Sesuvium portulacastrum* (Yi et al. 2014), *Suaeda maritima* (Moghaieb et al. 2004), *S. europaea* (Balnokin et al. 2005, Lv et al. 2012), *S. aegyptiaca* (Askari et al. 2006), *Climacoptera lanata* and *Atriplex micrantha* (Balnokin et al. 2005) gibi halofitik türlerde de belirlenmiştir. Chenopodiaceae familyasına ait birçok halofitik türde NaCl stresine bağlı olarak K<sup>+</sup> alımında bir azalma, Na<sup>+</sup> alımında ise dramatik bir artış olduğu bildirilmiştir (Ushakova et al. 2005, Lv et al. 2012). Sonuç olarak, *S. crassa*'nın da bulunduğu Chenopodiaceae familyasına ait türlerin yüksek Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> oranlarını tolere edebilecek şekilde adaptasyon mekanizmalarına sahip olduğu ileri sürülebilir.

Bitkilerde tuz stresi, reaktif oksijen türlerinin üretimini arttıarak bir sekonder stres olan oksidatif stresin oluşumuna neden olmaktadır (Hernandez et al. 2001, Xiong and Zhu 2002). Bitkilerdeki tuz toleransı, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde fonksiyon gören antioksidan enzimlerin ve enzimatik olmayan antioksidanların etkinliği ile ilişkilendirilmiştir (Rout and Shaw 2001). Ayrıca tuza hassas genotiplere göre toleranslı genotiplerin daha yüksek enzim aktivitelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Khan and Panda 2008). Detoksifikasyon sürecinde, süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikalinin oksijen ve hidrojen peroksit dönüşümünü katalizleyen ilk savunma hattıdır (Ashraf 2009). Oluşan hidrojen peroksit ise peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) tarafından temizlenmektedir (Azevedo Neto et al. 2006). Mevcut araştırmada, tuz stresi altındaki *S. crassa* fidelerinin yaprak dokularında SOD, POD ve CAT enzimlerinin aktiviteleri kontrole göre azalmıştır. Bununla birlikte, POD ve CAT aktiviteleri kök dokusunda arttarken, SOD aktivitesi azalmıştır. Halofitik *Salsola ikonnikovii* bitkilerinde 50-300 mM NaCl uygulamalarının SOD, POD ve CAT aktivitesinde önemli değişikliğe neden olmadığı, buna karşın 500 mM gibi yüksek NaCl konsantrasyonunun bu enzimlerin aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir (Xing et al. 2013). Tuz stresi altındaki *S. crassa* bitkilerinde 15 ve 30 günlük tuz stresi uygulamalarının yaprak dokularında SOD ve POD aktivitesini arttırdığı, CAT aktivitesini ise azalttığı belirtilmiştir (Yıldıztugay et al. 2014).

Sonuç olarak, 800 mM gibi yüksek NaCl konsantrasyonunda çimlenebilme yeteneğinden dolayı *Salsola crassa*'nın çimlenme evresinde yüksek seviyede tuza toleranslı bir tür olduğu söylenebilir. Ayrıca bu çalışma *S. crassa*'nın daha iyi çimlenebilmesi için uygun çevresel koşullar hakkında temel bilgi sağlamıştır. Bununla birlikte, *S. crassa* bitkilerinin büyümesi için belirli bir oranda tuza ihtiyacı olduğu belirlenmiştir.



## 6. KAYNAKLAR

- Abogadallah, G.M. (2010). Antioxidative defense under salt stress. *Plant Signaling and Behavior*, **5**: 369–374.
- Ahmed, M.Z. and Khan, M.A. (2010). Tolerance and recovery responses of playa halophytes to light, salinity and temperature stresses during seed germination. *Flora*, **205**: 764–771.
- Allakhverdiev, S.I., Nishiyama, Y., Miyairi, S., Yamamoto, H., Inagaki, N., Kanesaki, Y. and Murata, N. (2002). Salt stress inhibits the repair of photodamaged Photosystem II by suppressing the transcription and translation of psbA genes in *Synechocystis*. *Plant Physiology*, **130**: 1443–1453.
- Almansouri, M., Kinet, J.K. and Lutts, S. (2001). Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil*, **231**: 243–254.
- Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, **53**: 1331–1341.
- Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, **141**: 391–396.
- Askari, H., Edqvist, J., Hajheidari, M., Kafi, M. and Salekdeh, G.H. (2006). Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves. *Proteomics*, **6**: 2542–54.
- Ashraf, M. and Harris, P.J.C. (2004). Potential biochemical induction of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, **166**: 3–16.
- Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advance*, **2**: 84–93.

- Assaeed, A. (2001). Effect of temperature and water potential on germination of *Salsola villosa* Del. ex Roem. et Schult. *Assiut Journal of Agricultural Science*, **32**: 173–183.
- Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Braga de Abreu, C.E. and Gomes-Filho, E. (2006). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, **56**: 87–94.
- Balnokin, Y.V., Myasoedov, N.A., Shamsutdinov, Z.S. and Shamsutdinov, N.Z. (2005). Significance of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> for sustained hydration of organ tissues in ecologically distinct halophytes of the family Chenopodiaceae. *Russian Journal of Plant Physiology*, **52**: 882–890.
- Barbier-Brygoo, H., De Angeli, A. and Filleur, S. (2011). Anion channels/transporters in plants: from molecular bases to regulatory networks. *Annual Review of Plant Biology*, **62**: 25–51.
- Barkla, B.J., Vera-Estrella, R. and Pantoja, O. (2012). Protein profiling of epidermal bladder cells from the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*. *Proteomics*, **12**: 2862–2865.
- Baskin, J.M. and Baskin, C.C. (1998). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, Calif., U.S.A.
- Baskin, C.C. and Baskin, J. M. (2001). *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Chapman and Hall.
- Bhatt, A., Phartyal, S.S., Phondani, P.C. and Gallacher, D.J. (2017). Perianth colour dimorphism is related to germination properties and salinity tolerance in *Salsola vermiculata* in the Arabian deserts. *Nordic Journal of Botany*, **35**: 609–617.
- Blumwald, E. (2000). Sodium transport and salt tolerance in plants. *Current Opinion in Cell Biology*, **12**: 431–434.

- Bonales-Alatorre, E., Pottosin, I., Shabala, L., Chen, Z.H., Zeng, F.R., Jacobsen, S.E. and Shabala, S. (2013a). Differential activity of plasma and vacuolar membrane transporters contributes to genotypic differences in salinity tolerance in a halophyte species, *Chenopodium quinoa*. *International Journal of Molecular Science*, **14**: 9267–9285.
- Bonales-Alatorre, E., Shabala, S., Chen, Z.H. and Pottosin, I. (2013b). Reduced tonoplast fast-activating and slow-activating channel activity is essential for conferring salinity tolerance in a facultative halophyte, quinoa. *Plant Physiology*, **162**: 940–952.
- Boscaiu, M., Ballesteros, G., Naranjo, M.A., Vicente, O. and Boira, H. (2011). Responses to salt stress in *Juncus acutus* and *J. maritimus* during seed germination and vegetative plant growth. *Plant Biosystems*, **145**: 770–777.
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A. and Shabala, S. (2014a). ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, **65**: 1241–1257.
- Bose, J., Shabala, L., Pottosin, I., Zeng, F., Velarde-Buendía, A.M., Massart, A., Poschenrieder, C., Hariadi, Y. and Shabala, S. (2014b). Kinetics of xylem loading, membrane potential maintenance, and sensitivity of K<sup>(+)</sup>-permeable channels to reactive oxygen species: physiological traits that differentiate salinity tolerance between pea and barley. *Plant Cell and Environment*, **37**: 589–600.
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Lai, D., Xie, Y., Shen, W. and Shabala, S. (2015). Rapid regulation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity is essential to salinity tolerance in two halophyte species, *Atriplex lentiformis* and *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany*, **115**: 481–494.
- Cabot, C., Sibole, J.V., Barcelo, J. and Poschenrieder, C. (2014). Lessons from crop plants struggling with salinity. *Plant Science*, **226**: 2–13.

- Copeland, L.O. and McDonald, M.B. (2004). Principles of Seed Science and Technology. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Dinakar, C. and Bartels, D. (2013). Desiccation tolerance in resurrection plants: new insights from transcriptome, proteome and metabolome analysis. *Frontiers in Plant Science*, **28**: 482.
- Duan, D.Y., Li, W.Q., Liu, X.J., Quyang, H. and An, P. (2007). Seed germination and seedling growth of *Suaeda salsa* under salt stress. *Annales Botanici Fennici*, **44**: 161–169.
- Edelist, C., Raffoux, X., Falque, M., Dillmann, C., Sicard, D., Rieseberg, L.H. and Karrenberg, S. (2009). Differential expression of candidate salt-tolerance genes in the halophyte *Helianthus paradoxus* and its glycophyte progenitors *H. annuus* and *H. petiolaris* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, **96**: 1830–1838.
- El-Keblawy, A., Al-Ansari, F., Hassan, N. and Al-Shamsi, N. (2007). Salinity, temperature and light affect germination of *Salsola imbricata*. *Seed Science and Technology*, **35**: 272–281.
- El-Keblawy, A. and Al-Shamsi, N. (2008). Effects of salinity, temperature and light on seed germination of *Haloxylon salicornicum*, a common perennial shrub of the Arabian deserts. *Seed Science and Technology*, **36**: 679–688.
- El-Keblawy, A., Al-Ansari, F. and Al-Shamsi, N. (2011). Effects of temperature and light on salinity tolerance during germination in two desert glycophytic grasses, *Lasiurus scindicus* and *Panicum turgidum*. *Grass and Forage Science*, **66**: 173–182.
- El-Keblawy, A., Bhatt, A. and Gairola, S. (2013). Perianth colour affects germination behaviour in wind-pollinated *Salsola rubescens* in Arabian deserts. *Botany*, **92**: 69–75.
- Ellouzi, H., Ben Hamed, K., Cela, J., Munne-Bosch, S. and Abdelly, C. (2011). Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritima*

- (halophyte) and *Arabidopsis thaliana* (glycophyte). *Physiologia Plantarum*, **142**: 128–143.
- Fagerstedt, K.V., Kukkola, E.M., Koistinen, V.V., Takahashi, J. and Marjamaa, K. (2010). Cell wall lignin is polymerised by class III secretable plant peroxidases in Norway spruce. *Journal of Integrative Plant Biology*, **52**: 186–194.
- Flowers, T.J. and Yeo, A.R. (1986). Ion relations of plants under drought and salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, **13**: 75–91.
- Flowers, T.J. and Dalmond, D. (1992). Protein-synthesis in halophytes – the influence of potassium, sodium and magnesium in vitro. *Plant and Soil*, **146**: 153–161.
- Flowers, T.J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, **55**: 307–319.
- Flowers, T.J. and Colmer, T.D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, **179**: 945–963.
- Flowers, T.J. and Colmer, T.D. (2015). Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of Botany*, **115**: 327–331.
- Foyer, C.H. and Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, **119**: 355–364.
- Gagneul, D., Aïnouche, A., Duhazé, C., Lugan, R., Larher, F. R. and Bouchereau, A. (2007). A reassessment of the function of the So-Called compatible solutes in the halophytic Plumbaginaceae *Limonium latifolium*. *Plant Physiology*, **144**: 1598–1611.
- Golldack, D., Li, C., Mohan, H., and Probst, N. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. *Frontiers in Plant Science*, **5**: 151.

- Gul, B., Ansari, R., Flowers, T. J. and Khan, M.A. (2013). Germination strategies of halophyte seeds under salinity. *Environmental and Experimental Botany*, **92**: 4–18.
- Guma, I. R., Padrón-Mederos, M. A., Santos-Guerra, A. and Reyes-Betancort, J.A. (2010). Effect of temperature and salinity on germination of *Salsola vermiculata* L. (Chenopodiaceae) from Canary Islands. *Journal of Arid Environments*, **74**: 708–711.
- Gupta, B. and Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, **2014**: 1–18.
- Gutterman, Y. (2002). *Survival Strategies of Annual Desert Plants: Adaptations of Desert Organism*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Gutterman, Y., Kamenetsky, R. and Van Rooyen, M. (1995). A comparative study of seed germination of two *Allium* species from different habitats in the Negev desert highlands. *Journal of Arid Environments*, **29**: 305–315.
- Hanif, Z., Naeem, M., Ali, H.H., Tanveer, A., Javaid, M.M., Peerzada, A.M. and Chauhand, B.S. (2017). Effect of environmental factors on germination of *Salsola foetida*: Potential species for rehabilitation of degraded rangelands. *Rangeland Ecology & Management*, **70**: 638–643.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Reviews in Plant Physiology and Molecular Biology*, **51**: 463–499.
- Hasegawa, P.M. (2013). Sodium (Na<sup>+</sup>) homeostasis and salt tolerance of plants. *Environmental and Experimental Botany*, **92**: 19–31.
- Heard, S. B. and Ancheta, J. (2011). Effects of salinity and temperature on ex situ germination of the threatened Gulf of St Lawrence Aster, *Symphyotrichum laurentianum* Fernald (Nesom). *Plant Species Biology*, **26**: 158–162.

- Heidari-Sharifabad, H. and Mirzaie-Nodoushan, H. (2006). Salinity-induced growth and some metabolic changes in three *Salsola* species. *Journal of Arid Environments*, **67**: 715–720.
- Hernandez, J.A., Ferrer, M.A., Jimenez, A., Barcelo, A.R. and Sevilla, F. (2001). Antioxidant systems and  $O_2^-$  / $H_2O_2$  production in the apoplast of pea leaves. Its relation with NaCl-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiology*, **127**: 817–831.
- Himabindu, Y., Chakradhar, T., Reddy, M.C., Kanygin, A., Redding, K.E. and Chandrasekhar, T. (2016). Salt-tolerant genes from halophytes are potential key players of salt tolerance in glycophytes. *Environmental and Experimental Botany*, **124**: 39–63.
- Huang, J. and Redman, R.E. (1995). Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seedling growth. *Canadian Journal of Plant Science*, **75**: 815- 819.
- Huang, Z., Zhang, X., Zheng, G. and Gutterman, Y. (2003). Influence of light, temperature, salinity and storage on seed germination of *Haloxylon ammodendron*. *Journal of Arid Environments*, **55**: 453–464.
- Jaspers, P. and Kangasjärvi, J. (2010). Reactive oxygen species in abiotic stress signalling. *Physiologia Plantarum*, **138**: 405–413.
- Jithesh, M.N., Prashanth, S.R., Sivaprakash, K.R. and Parida, A.K. (2006a). Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative, light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. by mRNA analysis. *Plant Cell Reports*, **25**: 865–876.
- Jithesh, M.N., Prashanth, S.R., Sivaprakash, K.R. and Parida, A.K. (2006b). Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. *Journal of Genetics*, **85**: 237–254.

- Khan, M.A. (1999). Comparative influence of salinity and temperature on the germination of subtropical halophytes. In: Lieth, H., Moschenko, M., Lohman, M., Koyro, H.-W., Hamdy, A. (Eds.), *Halophyte Uses in Different Climates. I: Ecological and Ecophysiological Studies. Progress in Biometeriology*, Vol. 13. Backhuys Publishers, The Netherlands, pp. 77–88.
- Khan, M.A. and Gul, B. (1998). High salt tolerance in germinating dimorphic seeds of *Arthrocnemum indicum*. *International Journal of Plant Sciences*, **159**: 826–832.
- Khan, M.A. and Ungar, I.A. (2001). Effect of dormancy regulating chemicals on the germination of *Triglochin maritima*. *Biologia Plantarum*, **44**: 301–303.
- Khan, M.A., Gul, B. and Weber, D.J. (2002). Seed germination in the Great Basin halophyte *Salsola iberica*. *Canadian Journal of Botany*, **80**: 650–655.
- Khan, M.A. and Gulzar, S. (2003). Germination responses of *Sporobolus ioclados*: a potential forage grass. *Journal of Arid Environments*, **53**: 387–394.
- Khan, M.A., Ahmed, M.Z. and Hameed, A. (2006). Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments*, **67**: 535–540.
- Khan, M.H. and Panda, S.K. (2008). Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, **30**: 81–89.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Urban, M.O. and Prášil, I.T. (2013). Plant proteome responses to salinity stress—comparison of glycophytes and halophytes. *Functional Plant Biology*, **40**: 775–786.
- Kronzucker H.J., Coskun, D., Schulze, L.M., Wong, J.R. and Britto, D.T. (2013). Sodium as a nutrient and toxicant. *Plant and Soil*, **369**: 1–23.
- Luis, A. (2015). ROS and RNS in plant physiology: an overview. *Journal of Experimental Botany*, **66**: 2827–2837.

- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*, **46**: 1843–1852.
- Lv, S.L., Jiang, P., Chen, X.Y., Fan, P.X., Wang, X.C. and Li, Y.X. (2012). Multiple compartmentalization of sodium conferred salt tolerance in *Salicornia europaea*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **51**: 47–52.
- Ma, Y., Zhang, J., Li, X., Zhang, S. and Lan, H. (2016). Effects of environmental stress on seed germination and seedling growth of *Salsola ferganica* (Chenopodiaceae). *Acta Ecologica Sinica*, **36**: 456–463.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **444**: 139–158.
- Maksimovic, J.D., Zhang, J., Zeng, F., Ziivanovic, B.D., Shabala, L., Zhou, M. and Shabala, S. (2013). Linking oxidative and salinity stress tolerance in barley: can root antioxidant enzyme activity be used as a measure of stress tolerance? *Plant and Soil*, **365**: 141–155.
- Mehrunnisa, Khan, M.A. and Weber, D. (2007). Dormancy, germination and viability of *Salsola imbricata* seeds in relation to light, temperature and salinity. *Seed Science and Technology*, **35**: 595–606.
- Moghaieb, R.A., Saneoka, H. and Fujita, K. (2004). Effect of salinity on osmotic adjustment, glycinebetaine accumulation and the betaine aldehyde dehydrogenase gene expression in two halophytic plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*. *Plant Science*, **166**: 1345–1349.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*, **167**: 645–663.
- Munns, R. and Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Reviews in Plant Biology*, **59**: 651–681.

- Ning, L., Hua-Feng, L., Zun-Chi, L., Zheng-Xia, C., Qiao-Mei, L. and Tong, L. (2015). Specificity of germination of heteromorphic seeds in four annuals (*Salsola* L.) at different temperatures in the Junggar Basin. *Pakistan Journal of Botany*, **47**: 867–876.
- Orlovsky, N.S., Japakova, U. N., Shulgina, I. and Volis, S. (2011). Comparative study of seed germination and growth of *Kochia prostrata* and *Kochia scoparia* (Chenopodiaceae) under salinity. *Journal of Arid Environments*, **75**: 532–537.
- Ozgun, R., Uzilday, B., Sekmen, A.H. and Turkan, I. (2013). Reactive oxygen species regulation and antioxidant defence in halophytes. *Functional Plant Biology*, **40**: 832–847.
- Parida, A.K. and Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **60**: 324–349.
- Parida, A.K. and Jha, B. (2010). Salt tolerance mechanisms in mangroves: a review. *Trees*, **24**: 199–217.
- Partzsch, M. (2009). Zur Keimungsbiologie acht ausgewählter ephemerer Xerothermrasenarten. *Hercynia N. F.*, **42**: 239–254.
- Prashanth, S.R., Sadhasivam, V. and Parida, A. (2008). Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic stress tolerance. *Transgenic Research*, **17**: 281–291.
- Qu, X., Baskin, J.M., Wang, L. and Huang, Z. (2008). Effects of cold stratification, temperature, light and salinity on seed germination and radicle growth of the desert halophyte shrub, *Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae). *Plant Growth Regulation*, **54**: 241–248.
- Radyukina, N.L., Kartashov, A.V., Ivanov, Y.V., Shevyakova, N.I. and Kuznetsov, V.V. (2007). Functioning of defense systems in halophytes and glycophytes under progressing salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, **54**: 806–815.

- Rasheed, A., Hameed, A., Khan, M.A. and Gul, B. (2016). Variation in temperature and light but not salinity invokes antioxidant enzyme activities in germinating seeds of *Salsola drummondii*. *Plant Biosystems*, **150**: 1072–1082.
- Redondo, S., Rubio-Casal, A.E., Castillo, J.M., Luque, C.J., Álvarez, A.A., Luque, T. and Figueroa, M.E. (2004). Influences of salinity and light on germination of three *Sarcocornia taxa* with contrasted habitats. *Aquatic Botany*, **78**: 255–264.
- Redondo-Gómez, S., Andrades-Moreno, L., Parra, R., Mateos-Naranjo, E. and Sánchez-Lafuente, A.M. (2011). Factors influencing seed germination of *Cyperus capitatus*, inhabiting the moving sand dunes in southern Europe. *Journal of Arid Environments*, **75**: 309–312.
- Rout, N.P. and Shaw, B.P. (2001). Salt tolerance in aquatic macrophytes: Possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science*, **160**: 415–423.
- Rozema, J. and Schat, H. (2013). Salt tolerance of halophytes, research questions reviewed in the perspective of saline agriculture. *Environmental and Experimental Botany*, **92**: 83–95.
- Saeed, S., Khan, M.A. and Gul, B. (2011). Comparative effects of NaCl and sea salt on seed germination of *Arthrocnemum indicum*. *Pakistan Journal of Botany*, **43**: 1091–1103.
- Sanchez, D.H., Siahpoosh, M.R., Roessner, U., Udvardi, M. and Kopka, J. (2008). Plant metabolomics reveals conserved and divergent metabolic responses to salinity. *Physiologia Plantarum*, **132**: 209–219.
- Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A.H. and Ozfidan, C. (2010). The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany*, **69**: 76–85.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. (2008). Tohumlu Bitkiler Sistematığı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

- Shabala, S.N. and Mackay, A.S. (2011). Ion transport in halophytes. *Advances in Botanical Research*, **57**: 151–187.
- Shabala, S. (2013). Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Annals of Botany*, **112**: 1209–1221.
- Shabala, S. and Pottosin, I. (2014). Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum*, **151**: 257–279.
- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T. and Savoure, A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*, **115**: 433–447.
- Sobhanian, H., Aghaeib, K. and Komatsu, S. (2011). Changes in the plant proteome resulting from salt stress: toward the creation of salt-tolerant crops. *Journal of Proteomics*, **74**: 1323–1337.
- Song, J., Feng, G., Tian, C.Y. and Zhang, F.S. (2005). Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed germination stage. *Annals of Botany*, **96**: 399–405.
- Song, J., Fan, H., Zhao, Y.Y., Jia, Y.H., Du, X.H. and Wang, B.S. (2008). Effect of salinity on germination, seedling emergence, seedling growth and ion accumulation of aeuhalophyte *Suaeda salsa* in an intertidal zone and on saline inland. *Aquatic Botany*, **88**: 331–337.
- Stepien, P. and Johnson, G.N. (2009). Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte *Arabidopsis* and the halophyte *Thellungiella*: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink. *Plant Physiology*, **149**: 1154–1165.
- Takahashi, T. and Kakehi, J.I. (2010). Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Annals of Botany*, **105**: 1–6.

- Tobe, K., Li, X. and Omasa, K. (2000). Effect of sodium chloride on seed germination of two Chinese desert shrub *Haloxylon ammodendron* and *H. persicum* (Chenopodiaceae). *Australian Journal of Botany*, **48**: 455–460.
- Ungar, I.A. (1967). Influence of salinity and temperature on seed germination. *Ohio Journal of Science*, **67**: 120–123.
- Ungar, I.A. (1995). Seed germination and seed-bank ecology of halophytes. In: Kigel, J., Galili, G. (Eds.), *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker, New York, pp. 599–627.
- Ushakova, S.A., Kovaleva, N.P., Gribovskaya, I.V., Dolgushev, V.A. and Tikhomirova, N.A. (2005). Effect of NaCl concentration on productivity and mineral composition of *Salicornia europaea* as a potential crop for utilization NaCl in LSS. *Advance in Space Research*, **36**: 1349–1353.
- Uzilday, B., Ozgur, R., Sekmen, A.H., Yildiztugay, E. and Turkan, I. (2015). Changes in the alternative electron sinks and antioxidant defense in chloroplasts of the extreme halophyte *Eutrema parvulum* (*Thellungiella parvula*) under salinity. *Annals of Botany*, **115**: 449–463.
- Very, A.A., Nieves-Cordones, M., Daly, M., Khan, I., Fizames, C. and Sentenac, H. (2014). Molecular biology of K<sup>+</sup> transport across the plant cell membrane: what do we learn from comparison between plant species. *Journal of Plant Physiology*, **15(171)**: 748–769.
- Volkov, V. and Amtmann, A. (2006). *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, has specific root ion-channel features supporting K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis under salinity stress. *Plant Journal*, **48**: 342–353.
- Wang, W.X., Barak, T., Vinocur, B., Shoseyov, O. and Altman, A. (2007). Abiotic resistance and chaperones: possible physiological role of SP1, a stable and stabilizing protein from *Populus*". In: *Plant Biotechnology 2000 and Beyond*, Vasil, I.K. (ed.), (Dordrecht: Kluwer), pp. 439–443.

- Wang, M.C., Peng, Z. Y., Li, C.L., Li, F., Liu, C. and Xia, G.M. (2008a). Proteomic analysis on a high salt tolerance introgression strain of *Triticum aestivum/Thinopyrum ponticum*. *Proteomics*, **8**: 1470–1489.
- Wang, L., Huang, Z., Baskin, C.C., Baskin, J.M. and Dong, M. (2008b). Germination of dimorphic seeds of the desert annual halophyte *Suaeda aralocaspica* (Chenopodiaceae), a C4 plant without kranz anatomy. *Annals of Botany*, **102**: 757–769.
- Wang, Y., Jiang, G. Q., Han, Y. N. and Liu, M.M. (2013). Effects of salt, alkali and salt–alkali mixed stresses on seed germination of the halophyte *Salsola ferganica* (Chenopodiaceae). *Acta Ecologica Sinica*, **33**: 354–360.
- Wege, S., De Angeli, A. and Droillard M.-J. (2014). Phosphorylation of the vacuolar anion exchanger AtCLCa is required for the stomatal response to abscisic acid. *Science Signaling*, **7**: ra65.
- Wei, Y., Dong, M., Huang, Z. Y. and Tan, D.Y. (2008). Factors influencing seed germination of *Salsola affinis* (Chenopodiaceae), a dominant annual halophyte inhabiting the deserts of Xinjiang, China. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **203**: 134–140.
- Welbaum, G.E., Tissaoui, T. and Bradford, K.J. (1990). Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). III. Sensitivity of germination to water potential and abscisic acid during development. *Plant Physiology*, **92**: 1029–1037.
- White, P.J. and Broadley, M.R. (2001). Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Annals of Botany*, **88**: 967–988.
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D. and Van Camp, W. (1997). Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO Journal*, **16**: 4806–4816.

- Wingler, A., Purdy, S., MacLean, J.A. and Pourtau, N. (2006). The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, **57**: 391–399.
- Woodell, S.R.J. (1985). Salinity and seed germination patterns in coastal plants. *Vegetation*, **61**: 223–229.
- Xing, J., Cai, M., Chen, S., Chen, L. and Lan, H. (2013). Seed germination, plant growth and physiological responses of *Salsola ikonnikovii* to short-term NaCl stress. *Plant Biosystems*, **147**: 285–297.
- Xiong, L. and Zhu, J.K. (2002). Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant Cell Environment*, **25**: 131–139.
- Yang, R., Jarvis, D.E., Chen, H., Beilstein, M.A., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Prochnik, S., Xin, M., Ma, C., Schmutz, J., Wing, R.A., Mitchell-Olds, T., Schumaker, K.S. and Wang, X. (2013). The reference genome of the halophytic plant *Eutrema salsugineum*. *Frontiers in Plant Science*, **21**: 4–46.
- Yıldız, M., Cenkci, S. and Kargıoğlu, M. (2008). Effects of salinity, temperature, and light on seed germination in two Turkish endemic halophytes, *Limonium iconicum* and *L. lilacinum* (Plumbaginaceae). *Seed Science and Technology*, **36**: 646–656.
- Yıldıztugay, E., Ozfidan-Konakci, C. and Kucukoduk, M. (2014). The role of antioxidant responses on the tolerance range of extreme halophyte *Salsola crassa* grown under toxic salt concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **110**: 21–30.
- Yi, X., Sun, Y., Yang, Q., Guo, A., Chang, L., Wang, D., Tong, Z., Jin, X., Wang, L., Yu, J., Jin, W., Xie, Y. and Wang, X. (2014). Quantitative proteomics of *Sesuvium portulacastrum* leaves revealed that ion transportation by V-ATPase and sugar accumulation in chloroplast played crucial roles in halophyte salt tolerance. *Journal of Proteomics*, **99**: 84–100.

- Yu, J., Chen, S., Zhao, Q., Wang, T., Yang, C. and Diaz, C. (2011). Physiological and proteomic analysis of salinity tolerance in *Puccinellia tenuiflora*. *Journal of Proteome Research*, **10**: 3852–3870.
- Zaman, S., Padmesh, S., Bhat, N.R. and Tawfiq, H. (2009). Germination characteristics and storage behavior of *Tamarix aucheriana* (Decne.) seeds. *European Journal of Scientific Research*, **26**: 532–538.
- Zaman, S., Padmesh S. and Tawfiq, H. (2010). Seed germination and viability of *Salsola imbricata* Forssk. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, **2(12)**: 388–394.
- Zhang, H., Han, B., Wang, T., Chen, S. X. and Li, H.Y. (2012). Mechanisms of plant salt response: insights from proteomics. *Journal of Proteome Research*, **11**: 49–67.
- Zhao, X., Tan, H.J., Liu, Y.B., Li, X.R. and Chen, G.X. (2009). Effect of salt stress on growth and osmotic regulation in *Thellungiella* and *Arabidopsis* callus. *Plant Cell Tissue and Organ*, **98**: 97–103.
- Zhu, J.K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, **6**: 66–71.
- Zhu, J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Reviews in Plant Biology*, **53**: 247–273.

### İnternet Kaynakları

1. [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax\\_id=1951](http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=1951) (Erişim tarihi: 6.1.2018)

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ünal ALTUĞ  
Doğum Yeri ve Tarihi : 04.02.1988, Ankara  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletişim (Telefon/e-posta) : unaltug@hotmail.com

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Mustafa Kemal Lisesi, Ankara, 2006  
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2011  
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2018

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Yayınları (SCI ve diğer) :

Terzi, H., Yıldız, M. ve Altuğ, Ü., 2017. Halofit *Salsola crassa*'nın Tohum Çimlenmesi Üzerine Tuzluluk, Sıcaklık ve Işığın Etkileri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1): 1-9.