

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(DOKTORA TEZİ)

**TUZ STRESİNİN FARKLI TUZ TOLERANSINA
SAHİP İKİ PLANTAGO TÜRÜNÜN FİZYOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ESEN SEKMEN AŞKIM HEDİYE

Biyoloji Bölümü
Bilim Dalı Kodu: 401.01.00
Sunuş Tarihi: 27.01.2009

Tez Danışmanı: Prof.Dr. İsmail TÜRKAN

Bornova-İZMİR

ABSTRACT**INVESTIGATION OF EFFECTS OF SALT STRESS ON THE
PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF TWO
PLANTAGO SPECIES DIFFERING IN SALT TOLERANCE****ESEN SEKMEN AŞKIM HEDİYE****PhD in Biology Department****Supervisor: Prof. Dr. İsmail TÜRKAN****January 2009, 115 pages**

The changes in plant growth, relative water content (RWC), stomatal conductance, lipid peroxidation and antioxidant system in relation to the tolerance to salt stress were investigated in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. The 60 days old *P. maritima* and *P. media* seedlings were subjected to 0, 100 and 200 mM NaCl for 7 and 14 days. Reduction in shoot and root growth (length, FW, DW) was higher in *P. media* than in *P. maritima* after exposure to 100 and 200 mM NaCl at 14d of salt treatment, but 100 mM NaCl treatment did not show any effect on shoot and root growth of *P. maritima* at 7d of salt treatment. Salt stress had no effect on leaf RWC in *P. maritima* (except for 100 mM NaCl-treated group at 7d), but it was reduced in *P. media*. Salt stress caused reduction in stomatal conductance being more pronounced in *P. media* than in *P. maritima*. Activities of superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), catalase (CAT; EC 1.11.1.6), glutathione reductase (GR; EC 1.6.4.2) decreased in *P. media* with increasing salinity. Ascorbate peroxidase (APX; EC 1.11.1.11) activity in leaves of *P. media* was increased and showed no change under 100 and 200 mM NaCl at 7d, respectively. However, salt stress caused a reduction in APX activity at 14 d of salt treatment. On the other hand, activities of CAT, APX and GR increased under 200 mM NaCl while their activities

did not change under 100 mM NaCl in *P. maritima* at 7d. At 14d of salt treatment, while activities of APX and POX did not change, activities of CAT and GR was increased by 200 mM NaCl. SOD activity in leaves of *P. maritima* increased with increasing salinity. Moreover, it determined different POX and SOD isozymes between native of leaf extracts of two species under salt stress. Malondialdehyde levels in the leaves increased under salt stress in *P. media* but generally showed no change in *P. maritima* with increasing salinity. These results suggest that the salt-tolerant *P. maritima* showed a better protection mechanism against oxidative damage caused by salt stress by its higher induced activities of antioxidant enzymes than the salt-sensitive *P. media*.

Keywords: *Plantago maritima*, *Plantago media*, antioxidative system, salt stress

ÖZET

TUZ STRESİNİN FARKLI TUZ TOLERANSINA SAHİP İKİ PLANTAGO TÜRÜNÜN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ESEN SEKMEN AŞKIM HEDİYE

Doktora Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. İsmail TÜRKAN

Ocak 2009, 115 sayfa

Tuza-toleranslı *Plantago maritima* ile tuza-duyarlı *Plantago media*'da tuz stresine toleransla ilişkili bitki büyüme, nisbi su içeriği (RWC), stoma iletkenliği, lipid peroksidasyon ve antioksidant sistemdeki değişiklikler araştırıldı. 60 günlük *P. maritima* ve *P. media* fideleri 7 ve 14 gün süresince 0, 100 ve 200 mM NaCl stresine maruz bırakıldı. Tuz stresi uygulamasının 14. gününde *P. media*'nın kök ve gövde büyümesinde (uzunluk, FW, DW) meydana gelen indirgenme, *P. maritima*'dan daha fazladır fakat 100 mM NaCl uygulamanın 7.gününde *P.maritima*'nın kök ve gövde büyümesini etkilememiştir. Tuz stresi (tuz uygulamasının 7. gününde 100 mM NaCl uygulanan grup dışında) *P. maritima*'nın yaprak nisbi su içeriğini (RWC) değiştirmemiştir fakat *P.media*'ninkini azaltmıştır. Tuz stresi, stoma iletkenliğinde azalmaya neden olmuştur ve bu azalma *P. media*'da belirgin olarak görülmektedir. *P. media*'nın süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1), katalaz (CAT; EC 1.11.1.6), glutasyon redüktaz(GR; EC 1.6.4.2) aktiviteleri tuzluluktaki artışla azalmıştır. 7. günde, 100 mM NaCl stresi *P. media*'nın askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesini arttırmış ancak 200 mM NaCl değiştirmemiştir. Ancak tuz uygulamasının 14. gününde tuz stresi, *P. media*'nın APX aktivitesinin azalmasına neden olmuştur. Diğer yandan tuz stresinin 7. gününde 200 mM NaCl, *P. maritima*'nın CAT, APX ve

GR aktivitesini arttırırken 100 mM NaCl bu enzimlerin aktivitesini değiştirmemiştir. Tuz uygulamasının 14. gününde, 200 mM NaCl stresi ile *P. maritima*'nın APX ve POX aktivitesini değiştirmezken CAT ve GR aktivitesini arttırmıştır. *P. maritima*'nın SOD aktivitesi, deneme süresince artan tuzlulukla artmıştır.

Buna ek olarak tuz stresi altındaki iki türün doğal yaprak ekstraktları arasındaki farklı SOD ve POX izozimleri tanımlandı. *P. media* yapraklarındaki malondialdehit seviyeleri tuz stresi altında artmıştır fakat *P. maritima*'nın MDA seviyesi artan tuzlulukla genellikle değişmemiştir. Bu sonuçlar, tuza-toleranslı *P. maritima* 'nın tuz stresinin sebep olduğu oksidatif hasara karşı tuza-duyarlı *P. media*'dan daha fazla seviyede teşvik edilmiş antioksidant enzim aktivitesiyle daha iyi bir koruma mekanizması gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Plantago maritima*, *Plantago media*, antioksidan sistem, tuz stresi

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın her aşamasında yanımda olan, her türlü bilgiye ulaşmamda bana öncülük edip yolumu açan, desteğini benden esirgemedi bilim yolunda doğru adımlar atmamı sağlayan, bana bilimin güvenilirliğini ve doğruluğunu öğreten, asistanı olmaktan her zaman gurur duyduğum ve bundan sonra da duyacağım hocam Sayın Prof. Dr. İsmail TÜRKAN'a en derin saygılarımla teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında ihtiyaç duyduğum her anda bilgisini benimle paylaşan maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Filiz ÖZDEMİR'e ve tez danışmanı jüri üyelerimden Sayın Prof. Dr. Teoman KESERCİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, her zaman yanımda olup desteğini benden hiç esirgemeyen Yrd. Doç Dr. Melike BOR'a; tez çalışmamın yürütülmesinde gerek fikirleriyle gerekse laboratuvar çalışmalarına katkısıyla büyük desteğini gördüğüm arkadaşım Dr. Tijen DEMİRAL'a; laboratuvar çalışmalarına desteklerinden dolayı Burcu SEÇKİN ve Ceyda ÖZFİDAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca bana gösterdikleri büyük destek ve yıllar boyunca bana verdikleri sonsuz sevgi için canım annem Nurdan SEKMEN'e, babam Tefik SEKMEN'e ve ablam Leyla SEKMEN'e en derin saygı ve sevgilerimle teşekkürlerimi sunarım.

Evlendiğimiz günden beri bilim yolundaki ilerleyiş çabamda maddi manevi tüm desteğiyle hep yanımda olan, benden anlayışını ve sevgisini bir an olsun eksik etmeyen, bana olan anlayışı ve sevgisinden dolayı eşim ve meslektaşım Sayın Mesut ESEN'E sonsuz sevgilerimle teşekkürü bir borç bilirim.

20 yıl önce kendilerine verdiğim bir sözü bugün yerine getirmenin verdiği mutluluk ve onurla şimdi aramızda olmayan ancak bu yola baş koyma nedenim olan iki insana sevgili anneanneme ve dedeme sonsuz sevgilerimle....

İÇİNDEKİLER	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Tuzluluk.....	1
1.2 Bitkiler tuza gösterdikleri dirence göre ikiye ayrılırlar	
Halofitler ve Glikofitler	2
1.3 Tuz Stresinin Zararlı Etkileri	3
1.3.1 Ozmotik stres ve iyon toksisitesi.....	3
1.3.2 Tuz Stresinin Neden Olduğu Oksidatif Stres:	
Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu	7
1.3.2.1 Kloroplastlarda ROS Oluşumu.....	9
1.3.2.2 Peroksizomlarda ROS Oluşumu.....	11
1.3.2.3 Mitokondride ROS Oluşumu.....	13
1.3.2.4 Apoplastta ROS Oluşumu.....	13
1.3.3 Tuz Stresiyle Oluşan ROS'ların Bitki Büyümesi	
ve Metabolizması Üzerine Etkisi.....	15
1.4 Tuza Tolerans Mekanizmaları	17
1.4.1 İyon dengesinin sağlanmasında SOS Sinyal Yolu	18
1.4.2 İyonları köklerinden atamayan tuza dirençli bazı bitkilerin	
yapraklarındaki tuz bezleri.....	20
1.4.3 Ozmolitlerin sentezi	21
1.4.4 Bitkiler ürettikleri farklı tipteki antioksidantlar	
ile ROS'ları süpürürler	23

1.4.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi	24
1.4.4.2. Askorbat Peroksidaz (APX) enzimi.....	25
1.4.4.3. Katalaz (CAT) Enzimi.....	27
1.4.4.4. Glutasyon peroksidaz enzimi	27
2. MATERYAL METOD	34
2.1 Bitki Materyali ve Yetiştirilmesi.....	34
2.2 Büyüme Parametreleri.....	34
2.3 Bağlı Su İçeriği	34
2.4 Klorofil Floresans Ölçümleri	36
2.5 Stoma İletkenlik Ölçümü	37
2.6. Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	37
2.6.1 Enzim ekstraktlarının hazırlanması	37
2.6.1.2 Süperoksit dismutaz (SOD; süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz, EC 1.15.1.1) aktivitesinin tayini.....	38
2.6.1.3 Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) aktivitesinin tayini.....	38
2.6.1.4 Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesinin tayini	39
2.6.1.5 Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) aktivitesinin tayini	39
2.6.1.6 Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesinin tayini	39
2.6.1.7 SOD izozimlerinin elektroforetik ayrımı	40
2.6.1.8 POX izozimlerinin elektroforetik ayrımı	40
2.7 Protein Miktarının Belirlenmesi.....	41
2.8 Lipit Peroksidasyonu	41
2.9 İstatistiksel Analizler.....	41
3. SONUÇLAR	43
3.1. Büyüme Parametreleri.....	43
3.1.1 Kök Uzunluğu	43
3.1.2 Kök Yaş Ağırlık	43
3.1.3 Kök Kuru Ağırlık	45
3.1.4. Gövde Uzunluğu.....	46

3.1.5 Gövde Yaş Ağırlık	48
3.1.6 Gövde Kuru Ağırlık	49
3.2 Bağlı Su İçeriği	50
3.3 Klorofil Floresansı	51
3.4 Stoma İletkenliği.....	51
3.5 Antioksidant Enzim Sonuçları.....	52
3.5.1 Süperoksitdismutaz (SOD)Aktivite Sonuçları	52
3.5.2 Katalaz (CAT) Aktivite Sonuçları	60
3.5.3 Askorbat Peroksidaz Aktivite (APX) Sonuçları	61
3.5.4 Peroksidaz (POX) Aktivite Sonuçları	62
3.5.5 Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivite Sonuçları.....	67
3.6 Lipit Peroksidasyonu	68
4. TARTIŞMA.....	70
5. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	84
6. ÖZGEÇMİŞ.....	114

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1: Bitkilerin tuz stresine karşı verdikleri büyüme cevabı iki evreden oluşur.....	5
Şekil 1.2: Kloroplastlarda reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi.....	10
Şekil 1.3: Peroksizomlardaki askorbat-glutasyon döngüsünün işlevi.	12
Şekil 1.4: Lignin biyosentezine H ₂ O ₂ 'in yeri.	14
Şekil 1.5: Tuz stresi altındaki iyon dengesinin sağlanmasında SOS sinyal yolunun düzenlenmesi.....	19
Şekil 1.6: <i>Tamarix sp.</i> ' de tuz bezleri	21
Şekil 1.7: SOD izozimlerinin hücrede bulunduğu yerler.....	26
Şekil 1.8: <i>P.maritima</i> (A-B) ve <i>Plantago media</i> 'nın (C) doğal habitatlarındaki görünümleri	32
Şekil 2.1: 60 gün boyunca perlit ortamında yetiştirilmiş <i>P. maritima</i> ve <i>P. media</i> fidelerinin tuz uygulamasından önceki görünümleri.....	35
Şekil 2.2: 0, 100, 200 mM NaCl uygulamasının 7. gününde <i>P. media</i> bitkileri	36
Şekil 2.3: 0, 100, 200 mM NaCl uygulamasının 14. gününde <i>P. media</i> bitkileri	36
Şekil 3.1: 7 gün süreyle 100 ve 200 mM NaCl stresine maruz bırakılan <i>P. maritima</i> ve <i>P. media</i> fidelerinin görünümü.	47
Şekil 3.2: 7 gün süreyle 200 mM NaCl stresine maruz kalan <i>P. media</i> 'nın yapraklarındaki tüylenme	47
Şekil 3.3: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan <i>Plantago maritima</i> ve <i>Plantago media</i> 'nın yaprak bağıl neminde (RWC) gözlenen değişimler (%).	50
Şekil 3.4: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan <i>Plantago maritima</i> (A) ve <i>Plantago media</i> 'nın (B) fotosentetik veriminde gözlenen değişimler.	51

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

- Şekil 3.5:** 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) stoma iletkenliğinde gözlenen değişimler. 52
- Şekil 3.6:** 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler. 53
- Şekil 3.7:** 7 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri. 54
- Şekil 3.8:** 7 gün süreyle 100 ve 200mM NaCl stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'daki (B) SOD izozimlerinin densimetrik analiz sonuçları. 55
- 3.9:** 7 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinin profilleri. 56
- Şekil 3.10:** 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri. 57
- Şekil 3.11:** 14 gün süreyle 100 ve 200mM NaCl stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'daki (B) SOD izozimlerinin densimetrik analiz sonuçları 58
- Şekil 3.12:** 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinin profilleri.... 59
- Şekil 3.13.** *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) CAT aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler. 60
- Şekil 3.14:** 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) APX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler. 61

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

- Şekil 3.15:** 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler..... 62
- Şekil 3.16:** 7 gün süresince 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri..... 64
- Şekil 3.17:** 7 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozim profilleri.....65
- Şekil 3.18:** 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri..... 66
- Şekil 3.19:** 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozimlerinin profilleri ... 67
- Şekil 3.20:** 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) GR aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.....68
- Şekil 3.21:** 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) malondialdehit miktrında (nmol g^{-1} YA) meydana gelen değişimler.....68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın kök uzunluklarında (cm) gözlenen değişimler (n=10) 43

Çizelge 3.2: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın kök yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). 44

Çizelge 3.3: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın kök kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). 45

Çizelge 3.4: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın gövde uzunluklarında (cm) gözlenen değişimler (n=10). 46

Çizelge 3.5: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın gövde yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). 48

Çizelge 3.6: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın kök kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). 49

KISALTMALAR

ANOVA, varyans analizi

APX, askorbat peroksidaz

CAT, katalaz

DW, kuru ağırlık

EDTA,etilendiamintetraasetikasit

FW, yaş ağırlık

GR, glutasyon redüktaz

MDA, malondialdehit

NADP, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

PAGE, poliakrilamit jel elektroforezi

POX, peroksidaz

PS, fotosistem

ROS, reaktif oksijen türleri

RWC, nisbi su içeriği

SE, standart hata

SOD, süperoksit dismutaz

TUZ STRESİNİN FARKLI TUZ TOLERANSINA SAHİP İKİ PLANTAGO TÜRÜNÜN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

1.GİRİŞ

1.1 Tuzluluk

Tuzluluk bitkilerin büyümesini, gelişmesini ve üremesini sınırlayan en önemli çevresel etmenlerden biridir (Allakhverdiev et al., 2000). Aşırı tuzluluk bitkilerde ölüme yol açar ya da verimliliğini düşürür. Bitkilerin büyük bir bölümü ya tuzu hücrelerinden uzak tutan ya da hücredeki tuzu tolere eden mekanizmalar geliştirmişlerdir. Dünyadaki tarım arazilerininin 800 milyon hektardan fazlasında tuzlanma sorunu vardır (FAO, 2008). Bu miktar dünyanın toplam arazilerininin %6'sından fazlasına karşılık gelmektedir. Tuzdan etkilenmiş bu alanların çoğu, kurak ya da yarı kurak bölgelerde uzun dönemde doğal nedenlerden kaynaklanan genellikle Na^+ ve Cl^- iyonlarının birikiminden meydana gelmektedir (Rengesamy P., 2002). Ana kayaçlardan havanın etkisiyle oluşan değişiklikler; Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} daha az miktarda sülfat ve karbonat gibi çeşitli tipteki çözülebilir tuzların serbest kalmasını sağlar (Szabolcs, 1989). Bunlar arasında NaCl'nin, çözünürlüğü en yüksek olup bol miktarda tuz açığa çıkar. Birikimin diğer nedeni rüzgar ve yağmurlarla taşınan okyanus tuzlarının tortullarıdır. Yağmur suyu 6-50 mg/kg NaCl içerir. Sahilden uzaklaştıkça bu konsantrasyon azalır. 10 mg/kg düzeyinde NaCl içeren yağmur, 100 mm'lik sağnak yağış ile yılda 10 kg/ha NaCl'u toprakta bırakır.

Doğal tuzlanmanın dışında son yıllarda ekilmiş tarım arazilerinin belirgin bir kısmında yanlış sulama yöntemlerinden dolayı tuzlanmaktadır. 1500 milyon ha'ı ekilmiş kurak bölgedeki tarım arazilerinin 32 milyon ha'ı, yani toplam arazinin %2'si, farklı seviyelerde ikincil derecede tuzluluktan etkilenmektedir. 230 milyon hektarlık sulak alanların ise 45 milyon hektarı, yani toplam arazinin %20'si tuzdan etkilenmiştir (FAO, 2008). Dünya genelinde bu tür sorunları çözmek için her ne kadar önemli harcamalar yapılıyor olsa da üreticiler hala bu sorunlarla karşılaşmaktadırlar. Toprak ıslah çalışmalarının yanısıra tuzlu topraklardan daha fazla yararlanabilmek için bitkilerin tuz stresi altındaki adaptasyon mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır.

1.2 Bitkiler tuza gösterdikleri dirence göre ikiye ayrılırlar: Halofitler ve Glikofitler

Bitkilerin büyük bir bölümü suyu, topraktan alırken Na^+ ve Cl^- 'yi etkili bir şekilde dışarıda tutar (Munns, 2005). Doğal ortamı tuzlu toprak olan ve halofitler olarak adlandırılan bitkilerin bu iyonları dışarıda tutma kapasitesi, tuz stresine direnç gösteremeyen glikofitlerden çok daha yüksektir. Glikofitler 100-200mM NaCl stresi altında bile ölürken halofitler 300 mM NaCl'den daha yüksek konsantrasyondaki tuzlulukta yaşayabilirler (Zhu, 2007). Bazı halofitler çok yüksek tuz konsantrasyonlarına bile direnç gösterebilirler. Örneğin; yabani bir arpa türü olan *Hordeum marinum* 450 mM NaCl gibi yüksek bir tuzlulukta Na^+ ve Cl^- 'yi dışarıda tutabilmektedir (Garthwaite A.J. et al., 2005). *Atriplex vesicaria*, 700 mM NaCl'de bile yüksek verimlilik gösterir. *Salicornia europea* ise 1020 mM NaCl'de yaşayabilir. Diğer yandan mandalin ve avokado gibi meyve ağaçları tuza

duyarlı glikofitler arasındadır. Bu bitkiler 1 mM NaCl'e bile duyarlıdırlar (Zhu, 2007). Halofitler tuzu biriktirirken glikofitler tuzu dışarıda bırakma eğilimindedirler. Halofitlerde iyonların %80'inden fazlası yapraklara ve ksilemden transpirasyon akıntısıyla sürgünlere ulaşır. Bazı halofitlerin yapraklarında özelleşmiş hücreler bulunur. Bu özelleşmiş hücreler tuz bezlerini oluştururlar. Bu bezler komşu hücrelerden tuzu alabilir ve yaprak yüzeyinden yağmur ya da rüzgarla dışarı atabilirler. Tahıllar arasında pirinç tuza duyarlı, arpa ise dayanıklıdır. Dikotiller ise monokotillerden tuza daha dirençlidirler (Munns and Tester, 2008).

1.3 Tuz Stresinin Zararlı Etkileri

Yüksek tuzluluk, bitkilerde 1) iyon toksitesine 2) ozmotik strese 3) reaktif oksijen tür oluşumuna 4) hormon ve besin dengesizliğine neden olmaktadır (Hasegawa et al., 2000; Ashraf ve Foolad, 2007).

1.3.1 Ozmotik stres ve iyon toksitesisi

Düşük ozmotik potansiyele sahip bitki köklerinin çevresindeki çözülmüş maddeler, toprağın su potansiyelini düşürür. Bu durum bitkilerin genel su durumunu etkileyerek ozmotik strese neden olur. Tuz stresine maruz kalan türlerin tuza toleransından sorumlu olan fizyolojik mekanizmalarını anlamak için, topraktaki tuzun ya da bitkinin içindeki tuzun toksik etkisinin bitki büyümesini sınırlayıp sınırlamadığının bilinmesi gerekir. Tuz stresine karşı bitki verdiği tepkinin anlaşılması için yapılan çalışmalarda, gövde büyümesindeki azalmanın iki evrede oluştuğu gösterilmiştir.

Bunlar; 1) dışarıdaki ozmotik basınçtaki artışa hızlı tepki verilmesi 2) yapraklardaki Na^+ 'un giderek birikimi nedeniyle yavaş tepki verilmesi (Tablo 1).

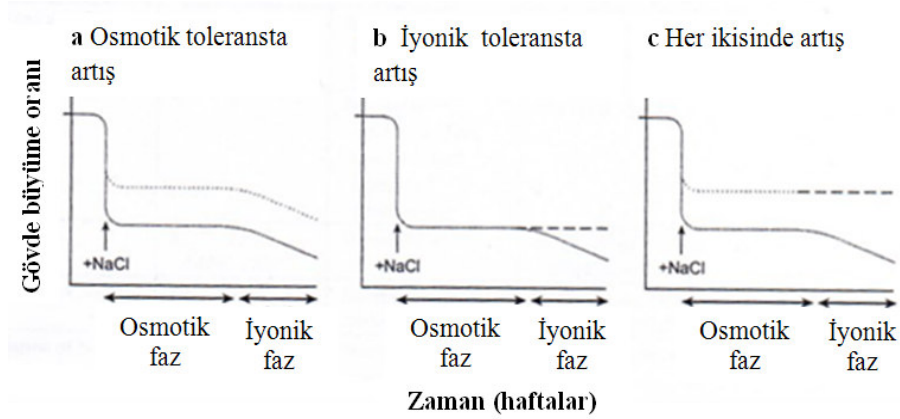
Tablo 1: Tuz stresinin bitkiler üzerine etkisi

Stresin Etkisi	Ozmotik stres	Yapraklardaki yüksek Na^+ konsantrasyonundan oluşan stres
Etki Hızı	Hızlı	Yavaş
Görünür etkinin ilk oluşum yeri	Azalmış gövde büyümesi	Yaşlı yaprakların senesensindeki artış

1- Öncelikle köklerin çevresindeki tuz konsantrasyonundaki artıştan hemen sonra oluşan ozmotik evre, eşik seviyesine kadar arttıktan sonra gövde büyümesini belirgin biçimde azaltır. Birçok bitki de bu etkiyi oluşturan eşik değeri, yaklaşık 40 mM NaCl'dir. Çeltik ve *Arabidopsis* gibi duyarlı bitkiler için ise bu seviye daha da düşüktür. Bu durum çoğunlukla kök dışındaki tuzun ozmotik etkisinden ileri gelmektedir. Şekil 1.1a tuz stresinin, gövde kuru ağırlık veya yaprak alanı üzerindeki etkisini göstermektedir. Ozmotik etkiye bağlı olarak yaprak alanı azalır, yeni yaprakların gelişme hızı düşer ve yanal tomurcuklar daha yavaş gelişir. Tuz stresine karşı gövde büyümesi kök büyümesinden daha duyarlıdır. Kök büyümesi ile bağlantılı olarak yaprak alan gelişimindeki azalma bitkilerce kullanılan su miktarını azaltır. Bu nedenle toprak nemi korunur ve toprak tuz konsantrasyonundaki artış engellenir.

2- Tuz, yaşlı yapraklarda toksik konsantrasyonlarda biriktiğinde tuzluluğa bağlı spesifik iyon toksisitesi evresi başlar, bitki ölür. Ölüm oranı yeni üretilmiş yaprak oranından büyükse bitkilerin fotosentez kapasitesi genç yaprakların karbonhidrat kaynaklarını uzun süre karşılayamaz.

İyon toksisitesine göre; ozmotik stresin sadece büyümeye değil, büyüme oranları üzerine de büyük etkisi vardır. İyonik stres, büyüme oranını ozmotik strese göre hem daha geç hem de daha az etkilemektedir. Ozmotik strese karşı toleransın artması, iyonik stres toleransında herhangi bir değişime neden olmamaktadır (Şekil 1.1a). Farklı türlerde ozmotik tepki farklı olabilir. Ancak bu henüz netleşmemiştir. İyon toksisitesine karşı tolerans artışı daha uzun sürede oluşur (Şekil 1.1b). Her iki strese karşı toleransın artması ise bitkinin yaşam döngüsü boyunca belli ölçüde olanaklıdır (Şekil 1.1c).



Şekil 1.1: Bitkilerin tuz stresine karşı verdikleri büyüme cevabı iki evreden oluşur (Munns and Tester, 2008).

Düşük su potansiyelinin yanında tuz stresi altında özellikle hücrede sodyum, klor ve sülfat gibi iyonların zararlı konsantrasyonlarda birikmesi, iyon toksisitesini oluşturmaktadır. Birçok tür de Na^+ , Cl^- den önce toksik

konsantrasyona ulaşır. Bu nedenle sodyumun dışarı atılması ya da bitki içinde sodyum taşımının denetlenmesi pekçok çalışmaya konu olmuştur. Soya fasülyesi, mandalin ve üzüm gibi bazı türler için ise Cl^- daha toksiktir (Lauchli, 2002; Storey and Walker, 1999). Bu durum, yapraklarda klor biriktirme oranındaki genetiksel farklılıklar ve bitkinin tuza toleransı arasındaki ilişki ile açıklanabilir.

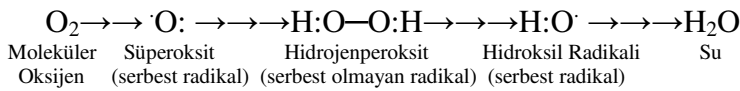
Topraktaki yüksek tuzluluğu tolere edebilen bitkilerin tuza direnç mekanizmalarının temelinde genelde gövdede sodyum miktarının düşük tutulması yatmaktadır. Halofitlerde gövdeye ulaşan ya da gövdede biriktirilen tuz miktarı glikofitlere göre daha az olmakla birlikte bazı istisnalar da söz konusudur. Örneğin, tuza toleranslı olan arpa ve pamuk gövdeleri, buğdaydan daha yüksek miktarda Na^+ u tolere edebilir. Gövdede Na^+ miktarı düşük tutulurken K^+ miktarı yüksek tutulmalıdır. K^+/Na^+ oranının yükselişi, bitkilerde Na^+ miktarının düşük tutulmasından daha önemlidir (Amtmann, 1999; Cuin et al., 2003). Yüksek Na^+/K^+ oranı sitoplazmadaki çeşitli enzimatik süreçleri bozabilmektedir. Protein sentezi, K^+ miktarının yüksek olmasını gerektirir; çünkü tRNA'nın ribozomlara bağlanması aşamasında K^+ gereklidir. Ayrıca K^+ , hücre turgorunun ve zar potansiyelinin sürdürülmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

Ca^{++} , bitkiyi tuz stresinin osmotik etkisinden çok, Na^+ 'nin toksik etkisinden korumaktadır. Tuz stresi sırasında dışarıdan ortama verilen Ca^{++} , hücre çeperlerine Na^+ 'nin bağlanmasını azaltırken, K^+ alınımı ve taşınımını artırır. Sodyumun birikimindeki bu azalmanın nedeni, sodyumun kök içerisine tek yönlü girişinin Ca^{++} tarafından kısmen azaltılmasıdır. Kalsiyum ve sodyum arasındaki etkileşim açısından göz önünde bulundurulması gereken husus, tuzun Ca^{++} aktivitesi üzerine olan etkisidir. Kalsiyum çevresel ve

hormonal sinyallerin ileticisi olarak tanımlanır. Sitozolik Ca^{++} aktivitesindeki değişmeler fosforilasyon süreçleri ile sonuçlanan zincirleme olayları tetikler. Proteinlere, hücre membranlarına yada hücre çeperlerine bağlanan Ca^{++} ile Na^{+} 'un yarışması söz konusudur.

1.3.2 Tuz Stresinin Neden Olduğu Oksidatif Stres: Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu

Yaşam için çok önemli olmasına karşın, herhangi bir şekilde oksijenin indirgenmesi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olur. ROS'lar bitkideki metabolik yollara kolayca zarar verirler (Foyer and Harbison, 1994; Asada 1999). Moleküler oksijen indirgenmesi süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi ROS'ları oluşturur. Yüklenmiş elektron ile oksijenin reaksiyona girmesi sonucu oluşan tekli (singled) oksijen de (1O_2) de potansiyel ROS'lardan biri olarak kabul edilmektedir.



Reaktif oksijen türleri (ROS) en az bir çift eşlenmemiş elektrona sahip atom ya da atom gruplarından oluştuğu için kararsızdırlar. Bu nedenle daha çok serbest radikal oluşturmak için diğer moleküllerle çok hızlı bir şekilde reaksiyona girerler (Hideg 1997). DNA, pigmentler, proteinler, lipidler gibi birkaç önemli hücrenel molekül ve metabolitlerle etkileşerek bir seri yıkıcı işleme neden olurlar (Lamb and Dixon, 1997; Mittler 2002). Bitkilerdeki ROS'lar normal büyüme koşullarında da üretilebilmekte ancak

konsantrasyonları düşük tutulabilmektedir (Polle, 2001). Bununla birlikte çeşitli çevresel stresler, ROS'ların üretimindeki artışı tetikler (Desikan et al, 2001; Pastori and Foyer, 2002; Karpinski et al., 2003; Laloi et al., 2004).

Stres sırasında bitkilerdeki ROS'lar, fotorespirasyon ve mitokondri solunumu gibi bazı metabolik süreçlerde oluşturulur. Ayrıca kuraklık ve patojenler, NADPH oksidazlarla ROS'ların üretimine neden olabilir (Orozco-Cardenas and Ryan, 1999; Pei et al., 2000). Tuz stresinin de farklı hücresel bölmeler içinde hücresel elektron taşınımını bozarak ROS oluşumuna neden olduğu bilinir (Ali and Alqurainy, 2006). Hücrenin çeşitli elemanlarına zarar vermelerinin yanında ROS'lar, strese yanıt verilmesini sağlayan ve sinyal iletim yolunda ikincil mesajcılar olarak iş görebilmektedirler (Ashraf, 2009).

Enzimatik yada enzimatik olmayan yolla iki süperoksit anyonunun parçalanması, bir reaktif oksijen türü olan H_2O_2 oluşumuna neden olur. Hidrojen peroksit yağ asitlerinin β -oksidasyonundan yada peroksizomal fotorespirasyon reaksiyonlarından da üretilir (Tolbert, 1982). Süperoksit radikalinin hidrojen peroksite transformasyonu bitkiler için problem yaratır çünkü H_2O_2 Calvin döngüsü için güçlü bir inhibitördür (Shen et al., 1997). Ayrıca H_2O_2 ve O_2^- , çok reaktif $\cdot OH$ radikalini oluşturmak için belirli metal iyonları yada metal şelatların varlığında etkileşebilir (Temple et al., 2005).

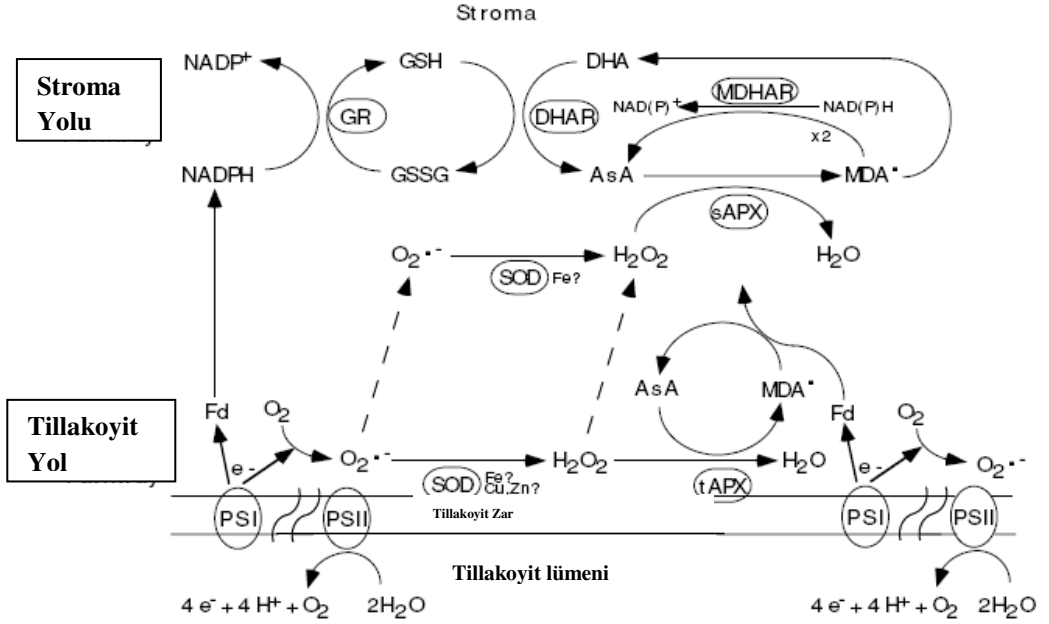
ROS'lar, kloroplast, mitokondri ve peroksizom gibi çeşitli organellerde üretilir. ROS üretimi, metabolik olaylar sırasında her yerde mevcut olup bitkiler onlarla başa çıkabilir. Ancak ROS üretimi belirgin

şekilde artarsa hücrede önemli hasarlar oluşturabilir (Mittler 2002; Sairam and Srivastava, 2002).

1.3.2.1 Kloroplastlarda ROS Oluşumu

Fotosentez, oksidatif yaşamın en önemli olaylarından biri olmakla birlikte, fotosentetik yolda elektron alıcısı olarak yeterli miktarda ferrodoksin bulunmazsa PSI'deki elektronlar moleküler oksijen ile reaksiyona girerek tek değerlikli oksijeni oluştururlar (Şekil 1.2) (Asada et al. 1994; Fridovich, 1986, 1995; Rubinstein and Luster, 1993). Benzer şekilde Calvin döngüsünde NADPH'ın yetersiz oksidasyonunun bir sonucu olarak yeterli miktarda NADP⁺ bulunmadığında elektronlar süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olan O₂ tarafından yakalanabilirler.

Süperoksitin oluşumu tillakoyid zarının her iki yanında oluşur (Asada and Takashi, 1987; Takashi and Asada, 1988). Hidrojen peroksite oluşumuyla sonuçlanan kloroplastlardaki oksijenin fotoredüksiyonu ilk olarak Mehler (1951) tarafından tanımlanmıştır. Süperoksit radikali nötr pH'ta hidrojen peroksite parçalanır. Kloroplastlarda pH'ın değişimi, kloroplastlarda O₂ oluşumunun kanıtıdır. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem de indirgeyici olarak etki edebilirler. İndirgen olarak reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumuna neden olur.



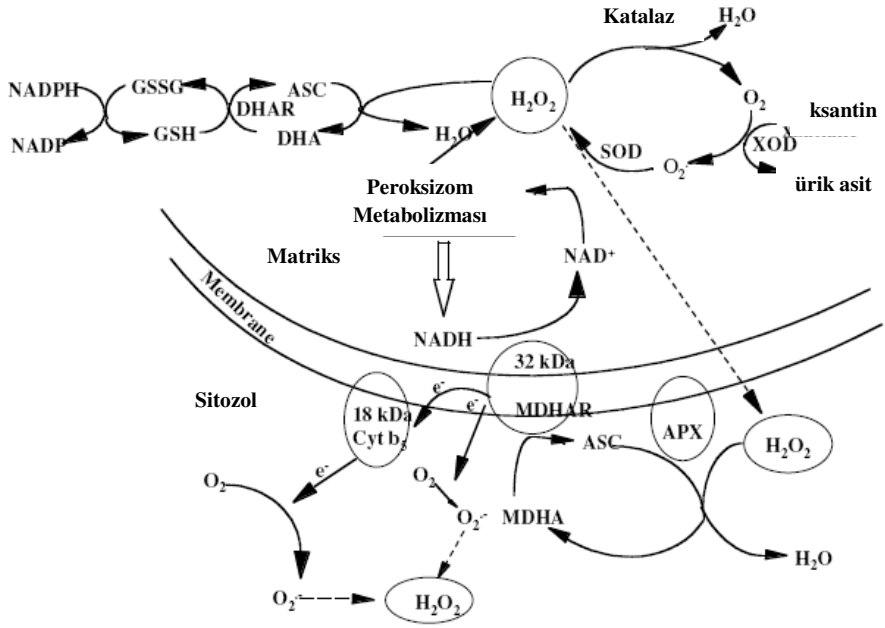
(Ertürk, 1999)

Şekil 1.2: Kloroplastlarda reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi. Tillakoyit ve stroma yolu: 1- Tillakoyit yol: Süperoksit radikalleri SOD tarafından parçalanır. Oluşan H₂O₂, tillakoyide bağlı bir enzim olan tAPX tarafından süpürülür. 2-Stromal yol: Bu yolda, tillakoyit yoldan kaçan ROS'lar Fe (ya da Cu/Zn) SOD ve sAPX (stromal APX) tarafından süpürülür. APX tarafından üretilen monodehidroaskorbat radikalleri (MDA), tillakoyitlerdeki ferrodoksin ve stromadaki MDHAR (monodehidroaskorbat redüktaz) ile girdiği reaksiyon sonucunda AsA (askorbat)'a dönüştürülür. DHA (Dehidroaskorbatın) 'nın askorbata indirgenmesi ise stromadaki askorbat-glutatyon yolu ile katalizlenmektedir.

1.3.2.2 Peroksizomlarda ROS Oluşumu

Peroksizomlar, peroksizomal oksidasyon ve solunum, yağ asidi β -oksidasyonu, glioksilat metabolizması ve eter lipid sentezi gibi hücrenin önemli işlevlerinin gerçekleştirildiği organellerdir. Bu organellerin temel enzimatik bileşenleri, H_2O_2 üreten, flavin oksidazlardır (Huang et al., 1983; van den Bosch, 1992).

Peroksizomlardaki süperoksit radikalleri, bu organellerde gerçekleşen metabolizmanın oksidatif tipinin bir sonucu olarak oluşur. Peroksizomlarda süperoksitin oluştuğu 2 bölge tanımlanmıştır. Bunlardan biri matriks'tir. Bu sistemde ksantinoksidaz süperoksit üreten sistem olarak tanımlanmıştır (Sandalio et al. 1987). Süperoksit oluşturan ikinci sistem ise peroksizom zarlarında bulunur. Bu sistem, süperoksitin NADH'a bağlı üretimine dayanmaktadır. Süperoksit radikallerinin oluşturulduğu küçük elektron taşıma zinciri; flavoprotein, NADH: ferrisiyanit redüktaz ve sitokrom b_5 'ten oluşur (Şekil 1.3).



(Ertürk, 1999)

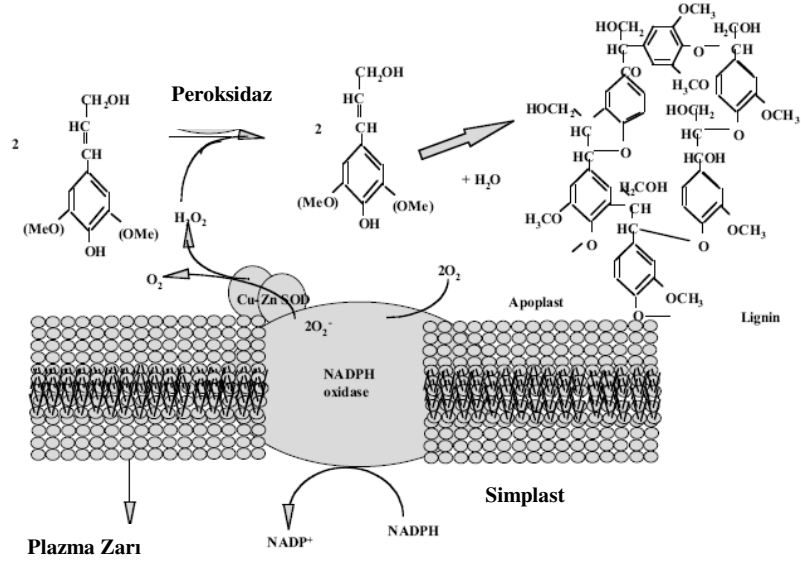
Şekil 1.3: Peroksizomlardaki askorbat-glutasyon döngüsünün işlevi. Peroksizom zarlarında bir geçiş proteini olan MDHAR, peroksizom zarının matriks tarafında NAD'a okside edilir. Kaybettiği elektronlar, zarın sitozolik tarafındaki MDHA'ya transfer edilir. Bu işlemde moleküler oksijen bir elektron alıcısı olarak davranır ve süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olur. Bu radikaller peroksizomlardaki Mn-SOD tarafından süpürülür. Bu reaksiyonun ürünü olan H_2O_2 ise peroksizom zarındaki APX ile süpürülür

1.3.2.3 Mitokondride ROS Oluşumu

Kloroplasttaki gibi mitokondride de ATP'nin ADP ve P_i 'dan sentezinin gerçekleştiği bir elektron taşıma zinciri vardır. Bu yol, “oksidatif fosforilasyon” olarak adlandırılır. Bu zincirin en son elektron yakalayıcısı, sitokrom oksidazlar tarafından indirgenen oksijendir. Oksijenin tetravalent indirgenmesinin yanında mitokondrilerde reaktif oksijen türlerinin oluşumu da rapor edilmiştir (Nohl et al. 1981). Bitkilerde mitokondrideki elektron taşıma zincirine ek olarak alternatif solunum yolu da elektron taşıma zinciriyle ilişkilidir. Oksijen aktivasyonunun gerçekleştiği olası bölgelerin, NADH dehidrogenaz(lar)ın veya ubikinon-sitokrom *b*'nin redoks seviyesinde olduğu yerler olabileceği bulunmuştur (Elstner, 1991).

1.3.2.4 Apoplastta ROS Oluşumu

Apoplastlarda gerçekleşen lignin biyosentezi için H_2O_2 ' e ihtiyaç duyulur. H_2O_2 'in sentezi ise bu bölgedeki süperoksit radikallerinin apoplast zarında bulunan Cu/Zn-SOD tarafından süpürülmesiyle gerçekleşmektedir (Ogawa ve ark., 1997). Bu reaksiyon için gerekli olan süperoksit radikalleri ise plazma zarındaki NAD(P)H oksidaz tarafından üretilmektedir (Şekil 1.4). Araştırmacılar süperoksit anyonlarının oluşumu ve Cu/Zn-SOD enziminin ifade olması arasında eş zamanlı bir düzenlemenin olduğunu bulmuşlardır. Cu/Zn-SOD inhibitörüyle yapılan çalışmalarda, Cu/Zn-SOD enziminin yokluğunda süperoksit radikallerinin üretilmeye devam ettiği ve H_2O_2 'in çok küçük miktarda da olsa oluştuğu gösterilmiştir. Bunun için bu çalışma lignin biyosentezinde Cu/ZnSOD'un önemini göstermektedir.



(Ertürk, 1999)

Şekil 1.4: Lignin biyosentezine H₂O₂'in yeri. NAD(P)H oksidaz tarafından üretilen süperoksit anyonları, apoplast zarına bağlı bir enzim olan Cu/ZnSOD tarafından H₂O₂' e dönüştürülür. Lignin biyosentezinde H₂O₂ fenilalanini lignine dönüştürülmesinden sorumludur.

Özetle,

Tuz stresi, bitki dokularındaki oksidatif stresin tetikleyicisidir (Foyer and Noctor, 2003; Ali and Alqurainy, 2006). Stres sırasında yaprağa giren CO₂'in miktarı azalır (Asada, 1999). Bu durum ROS'ların üretimindeki artışa bağlı olarak fotosentezin elektron taşıma zincirinin çok fazla indirgenmesine neden olur (Kiddle et al. 2003; Gomez et al., 2004; Mateo et al., 2004). Ancak ROS düzeyinin düzenlenmesi; ROS'ların oluşum, protein, lipid ve nükleik asitler gibi diğer metabolitlerle girdikleri reaksiyon, parçalanma, enzimatik ve/veya enzimatik olmayan antioksidantlar tarafından süpürülme ve nötralize edilme hızına bağlıdır (Mittler 2002; Amor et al., 2005).

1.3.3 Tuz Stresiyle Oluşan ROS'ların Bitki Büyümesi ve Metabolizması Üzerine Etkisi

Aerobik oksidatif metabolizma kimyasal bağlarda depolanmış enerjinin etkili kullanımına olanak sağlar. Ancak, elektron taşıma zincirinde son elektron yakalayıcısı olarak moleküler oksijenin kullanımı reaktif oksijen türlerinin oluşumundan dolayı oksidatif stres için bir tehdittir (Ali and Alqarainy, 2006). ROS'lar çeşitli hücrel bileşiklerle gelişigüzel etkileşebilirler. Bu etkileşimle, örneğin peroksidatif reaksiyonlara neden olabilir, hatta protein, lipid ve nükleik asit gibi yaşamsal moleküllere zarar verebilirler. Bu nedenle hücre içindeki seviyeleri optimumu aşmamalıdır (Scandalios, 1993; Halliwell and Gutteridge, 1999; Mittler, 2002). Bitki büyümesi ve fizyolojisi üzerindeki zararlı etkilerine literatürlerde geniş oranda yer verilmekle birlikte ROS'lar hücre sinyali, gen düzenlenmesi, yaşlanma, programlanmış hücre ölümü ve patojene karşı savunma gibi birçok önemli fizyolojik olayda da rol oynarlar (Hammond-Kosack and Jones, 1996; Grant and Loake, 2000; Breusegem et al., 2001; Neill et al., 2002; Blokhina et al., 2003; Dat et al., 2000; 2003; Laloi et al., 2004; Gechev et al., 2006). Örneğin apoplastlarda H_2O_2 'nin varlığı olumludur. Çünkü patojenler için toksiktir, gen transkripsiyonunda ve sistemik kazanılmış dirençte aktif bir rol oynar ve enfeksiyonlu bir bölgede hücrelerin ölmesini sağlayacak istila organizmanın hızını sınırlandırır (Horemans et al., 2000; Smirnov , 2000).

Normal büyüme koşullarında hücrede ROS üretiminin düşük, çevresel stres altında ise önemli artış gösterdiği genel kabul görmüştür Genel durum bugün Polle (2001) ve Mittler (2002) tarafından da desteklenmiştir. Normal

büyüme koşulları altında O_2^- radikal üretiminin $240\mu M s^{-1}$, kloroplastlardaki H_2O_2 sabit hal düzeyinin ise $0,5\mu M$ olduğu rapor edilmiştir (Dat et al. 2000; Polle, 2001). Ancak aynı bilim adamlarına tuzluluk gibi stres koşulları altında O_2^- radikal üretiminin $720\mu M s^{-1}$ 'e , H_2O_2 'inin ise $15\mu M$ 'a yükseldiğini bildirmişlerdir.

Süperoksit doğrudan proteinlerle ve lipitlerle reaksiyona giremezken protonlanmış formu (perhidroksil radikal) lipid peroksidasyonuna neden olur (Asada and Takahashi, 1987). Süperoksitin, peroksidazları (Asada and Takahashi, 1987) ve ribonükleotit redüktazı (Foyer and Harbison, 1994) engellediği bilinmektedir. Süperoksit radikalleri polifenollerin, tokoferollerin, askorbatın ve tiollerin oksidasyonuna neden olur (Fridovich ,1989). Bunlara ek olarak katalaz (Kono and Fridovich, 1983), peroksidaz (Okajima, 1972) ve dihidroksiasit dehidrataz gibi enzimlerin (Kuo et al., 1987) aktifleşmesini de engeller. Buna karşın süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin üretimiyle dolaylı yoldan da toksisiteye neden olur.

Bütün ROS'ların en yıkıcısı olan H_2O_2 'in kloroplastlardaki konsantrasyonu $10\mu M$ 'a çıktığında fotosentezde yaklaşık %50 azalmaktadır (Kaiser, 1979). Kloroplastlardaki H_2O_2 , fruktoz 1,6 bifosfat ve özellikle tiol-disülfid değişim reaksiyonlarına katılan enzimler gibi Calvin döngüsünün diğer önemli enzimlerini oksitleyerek fotosentezde karbon asimilasyonunu engeller (Kaiser, 1979; Tanaka et al., 1982). Katalitik Fe iyonlarının varlığında hidroksil iyonlarının kaynağı olarak H_2O_2 'in çok zararlı hale gelir (Hideg, 1977). Bu durum aynı zamanda işlevsel bakır bölgesinin etkisizleşmesiyle Cu/Zn-SOD'da etkisizleştirilebilir, ancak Mn-SOD'u etkilemez (Asada et al., 1975).

Hidroksil radikalleri doğrudan kloroplastlarda üretilmez. Ancak süperoksit ve hidrojenperoksit, hidroksil radikali ve lipid peroksitler gibi diğer yıkıcı türlerin oluşumuna neden olan bir seri reaksiyona katılabilir (Noctor and Foyer, 1998). Kloroplastlarda ve diğer biyolojik sistemlerde hidroksil radikalının özel bir süpürücü enzimi bulunmadığından oldukça reaktiftir. Reaktif olması nedeniyle hidroksil radikalleri, lipid peroksidasyonuna, DNA mutasyonuna ve aminoasitlerin okside edilmesiyle proteinlerin denütrasyonuna neden olmaktadır (Vaidyanathan et al., 2003).

1.4 Tuza Tolerans Mekanizmaları

Evrimsel süreçte farklı bitkiler çevresel stres faktörlerine karşı uyum sağlatıcı özellikler geliştirmişlerdir. Bitkilerin kendilerini korumalarını sağlayan bu mekanizmalar arasında 1) iyon taşıyıcıların varlığı, iyonların bölmelendirilmesi 2) tuz bezlerinin varlığı 3) ozmolitlerin (uyumlu bileşiklerin) sentezi 4) reaktif oksijen türlerini süpüren enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant sistemler sayılabilir. Bu özelliklerin tümü değişik halofit ve glikofit türlerde çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Tablo 2).

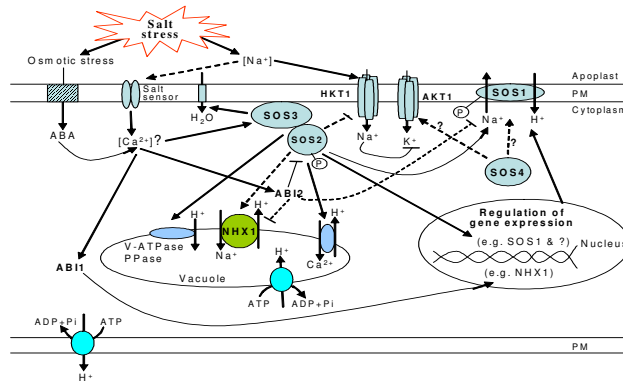
Tablo 2 : Bitkilerde tuza tolerans mekanizması

		Ozmotik Stres	İyonik stres	
	Hedef Genler	Ozmotik tolerans	Sodyum atılımı	Doku toleransı
Köklerde duyarlılık ve sinyal	SOS3, SnRKs	Uzun-uzaklık sinyalinin modifikasyonu	Gövdeye net iyon taşımının kontrolü	Vakuolar yüklemenin kontrolü
Gövde büyümesi	?	Hücre genişlemesinin ve lateral tomurcuk gelişiminin azalması		Yaşlı yaprakların (karbon kaynağı) ilk dökümünde gecikme
Fotosentez	ERA1, PP2C, AAPK, PKS3	Stoma iletkenliğinin azalması	Kloroplastlardaki iyon toksisitesinden kaçınma	Vakuolar yüklemenin denetlenmesi
Gövdede Na birikimi	HKT,SOS1	Ozmotik dengenin artması	Sodyumun İndirgenmiş uzun uzaklık taşınımı	Sodyumun dışarı atılmasında indirgenmiş enerji harcanımı
Vakuolde Na ⁺ birikimi	NHX, AVP	Ozmotik dengenin artması	Kök vakuolunde sodyumun alıkonulmasındaki artış	Yaprak vakuolünde sodyumun alıkonulmasındaki artmış
Organik çözücülerin birikimi	P5CS, OTS,MT1D, M6PR, S6PDH, IMT1	Ozmotik dengenin artması	Sodyum birikimini azaltmak için taşınım yollarının değişimi	Sitoplazmada Uyumlu bileşiklerin yüksek konsantrasyonda birikimi

1.4.1 İyon Dengesinin Sağlanmasında SOS Sinyal Yolu

Tuz stresi altında sitozolik enzimlerin aktivitesi için K⁺ ve Na⁺ dengesinin korunması çok önemlidir. Sitozoldeki K⁺ iyonlarının oranının, etkili bir metabolik performans için 100-200 mM düzeyinde tutulması gerekir. K⁺ iyonlarındaki büyük değişikliklerle başa çıkabilmek için bitkiler çok sayıda K⁺ taşıyıcısını kodlayan genlere sahiptirler (Maathius et al., 1997; Very and Sentenac 2002, 2003). Sodyum, bu K⁺ taşıyıcılarının bazılarını sitozole girebilmek için kullanır. Bunun için tuz stres sinyalinin alınması, iyon

taşımasının düzenlenmesini gerektirir. Bu yönde modeller geliştirilmiştir ve bitkilerde SOS (Salt Overly Sensitive) genlerine dayalı bir sinyal yolu saptanmıştır (Şekil 1.5). SOS1 isimli Na^+/H^+ taşıyıcısı (antiportı) SOS3 (Liu and Zhu, 1998) ve SOS2 (Liu et al., 2000; Halfter et al., 2000) isimli genler tarafından düzenlenir. Shi et al. (2000) bitkileri yüksek düzeyde NaCl 'e maruz bıraktığında SOS1 ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Bu artış, SOS2 ve SOS3 genlerince düzenlenir. SOS1 mutantlarıyla yapılan çalışmalarda tuz stresi altında Na^+/H^+ değişimi azalmıştır. Ortama SOS2 proteininin ilavesi bu azalmayı iyileştirememiştir (Qui et al., 2002). Tuz stresi sırasında sitoplazmadaki Ca^{2+} miktarının artışı, SOS2 ile fiziksel olarak etkileşen SOS3 tarafından algılanır (Halfter et al., 2000) ve aşırı Na^+ 'un dışarı atılmasını sağlayarak hücrel iyon homeostazisini sağlar. SOS3 ve SOS2'nin tuz stresi altındaki *Arabidopsis*'in kök hücrelerine Na^+ girişine aracılık eden *AtHKT1*'in aktivitesini azalttığı görülmüştür.



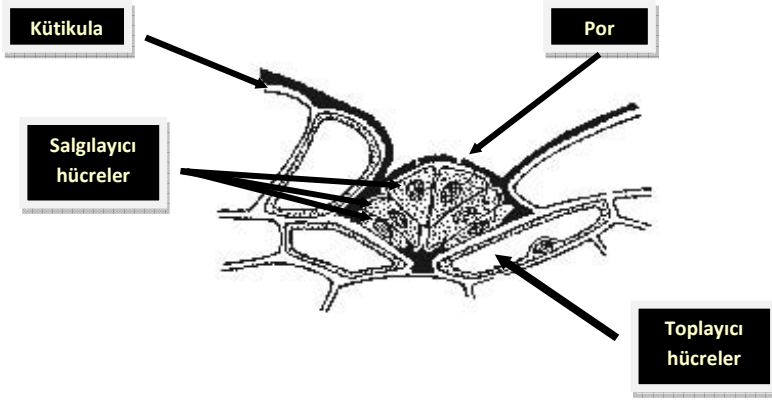
Şekil 1.5: Tuz stresi altındaki iyon dengesinin sağlanmasında SOS sinyal yolunun düzenlenmesi (Shi and Zhu, 2002a; Zhu, 2003; Zhang et al., 2004; Chinnusamy et al. 2005; Türkan and Demiral, 2008)

SOS2, Na^+/H^+ değiştirme kapasitesini etkileyen vakuolar Na^+/H^+ taşıyılarla etkileşir (Qui et al., 2002). Buna ek olarak SOS2, SOS1'i ve vakuolar $\text{H}^+/\text{Ca}^{+2}$ transportu CAX1'i farklı şekilde dzenleyen çevresel olaylara cevap verir. Ancak SOS2 yoluyla CAX1'in aktivasyonu, SOS3'ten bağımsızdır ve Na^+ ve Ca^{+2} arasındaki mekanik bir bağlantıyı işaret eden Ca^{+2} dengesinin korunmasına sebep olur.

Vakuol içine aşırı miktarda Na^+ alınması, zarlardan Na^+ 'un dışarı atılması ve buna bağlı olarak ozmotik dengenin korunması için enerji gereklidir. Bu reaksiyonlar için gerekli enerji H^+ -ATPaz pompalarıyla sağlanır. Sodyum iyonlarının vakuol içine depolanmasında rol oynayan AtHKT1'in fazla ifade olması, *Arabidopsis*'in tuz toleransını arttırmıştır (Apse et al., 1999). Shi et al. (2002b) son zamanlarda *Arabidopsis*'ten SOS4 genini izole edip tanımlamıştır. SOS4 geni, çeşitli enzimlerin önemli bir kofaktörü olan PL-5-fosfat (PLP) üretimine katılan pridoksal kinazı kodlar (Shi and Zhu, 2002a). Ayrıca Shi ve ark. (2002), SOS4'ün bitkilerdeki Na^+ ve K^+ dengesinde de görev aldığını göstermişlerdir.

1.4.2 İyonları köklerinden atamayan tuza dirençli bazı bitkilerin yapraklarında tuz bezleri

Çoğu halofitler, mumsu kütikula ile yaprağın üzerine uzanan tuz bezlerine sahiptir (şekil 1.6). Bu bezlerin görevi tuzu uzaklaştırmaktır. Tuz ya güneşte kristalleşir ya da yağmurla yıkanır. Apoplastın küçük bir bölümüne tuzun pompalanması, negatif ozmotik potansiyeli arttırarak, bu boşluklara su akışına neden olur. Bezler hem tuzu hem de suyu yapraklardan uzaklaştırır. Fazla tuzun dağıtılmasında hidatotlar da görev alır. Hidatotlar tuzu, terlemenin düşük olduğu geceleri serbest bırakırlar.



Şekil 1.6: Tamarix sp.' de tuz bezleri

1.4.3 Bitki hücreleri ozmotik strese yanıt olarak çözünmüş madde potansiyellerini düşürür su potansiyellerinin düzenlenmesi için 'uyumlu bileşikler' olarak adlandırılan ozmolitleri sentezlerler.

NaCl stresinin neden olduğu sonuçlardan biri, hücrelerarası su kaybıdır. Bitkiler, hücrelerindeki stres sonucu oluşan su kaybına karşı hiperozmotik toleransını arttırmak için uyumlu bileşikler (ozmolit) olarak bilinen birçok metabolit biriktirirler. Genellikle organik çözünen maddeler olmasına karşın bazı uyumlu ozmolitler, K^+ gibi önemli elemental iyonlardan da oluşurlar. Organik özellikleriyle ozmoprotektantlar, sitoplazmaya yerleşirken inorganik iyonlar kuraklık ve yüksek tuz koşullarında turgorun korunmasını ve ozmotik dengenin sağlanmasını kolaylaştırmak için vakuolde tutulurlar (Delauney and Verma 1993, Louis and Galinski 1997). Basit şekerler (başlıca fruktoz, glukoz, ve sukroz), şeker alkoloidleri (mannitol, gliserol ve metillenmiş inositoller) ve kompleks şekerler (trehalose, rafinoz

ve fruktanlar) (Bohnert and Jensen 1996) organik ozmotik bileşiklerdir. Ayrıca quaterner amonyum bileşikleri (prolin, glisinbetain, β -alaninbetain, prolinbetain), sülfonyum bileşikleri (kolin-*O*-sülfat, dimetilsülfonyopropionat (DMSP) (Nuccio et al., 1999) bu tip bileşiklerdendir. Bu ozmolitler, hücre içindeki ozmotik basıncı artırırlar. İnorganik çözümlere karşı sitozol içinde yüksek konsantrasyonlarda bulunsalar bile organizmanın normal metabolik reaksiyonlarını engelleyemezler (Ford, 1984; Breesan et al. 1998). Ozmolitlerin büyük çoğunluğu nötr pH'ta yüksüzdür. Ayrıca düşük moleküler ağırlığa sahip olup suda çözünürlükleri de yüksektir. Ozmolitler, ozmotik streslere verilen cevapta bitkinin sitoplazmada ozmotik dengesinin sağlanmasında çok önemlidirler (Wyn Jones et al., 1977; Ballantyne and Chamberlin 1994). Uyumlu bileşikler, özellikle sitoplazmada yüksek konsantrasyonda bulunurlar. Fruktan (Pilon-Smits et al., 1995), trehalose (Holmström et al., 1996; Goddijn et al., 1997; Romero et al., 1997), mannitol (Tarczynski et al., 1993; Karakas et al., 1997), ononitol (Sheveleva 1997), betain (Lilius et al., 1996; Sakamoto et al., 1998) ve prolin (Kavi Kishor et al., 1995) sentezi için genetiği değiştirilmiş bazı transgenik bitkilerin hiperozmotik toleransları artmıştır. Halofitik bakterilerde ortak uyumlu bileşik ektoin'dir (Csonka and Epstein, 1996). Ektoin, artmış tuzluluk ve sıcaklık artışına yanıt olarak çeşitli bakteri hücrelerinde ve *Streptomyces*'lerde *de novo*'yla sentezlenebildiği için özel bir önem taşımaktadır (Malin and Lapidot 1996). *Escheria coli* (Jebbar et al., 1992), *Corynebacterium glutamicum* (Farwick et al., 1995) ve toprak bakterisi *Rhizobium meliloti* (Talibart et al., 1994)'ye ektoinin dıştan uygulanması, osmotik strese bağlı büyümedeki engellemeyi ortadan kaldırmıştır. Bir halofit olan *Halomonas elongata*'nın ektoin sentezleyen 3 geni transgenik tütün (*Nicotiana tabacum* BY2) hücrelerine aktarıldığında ektoinin seviyesi

artmıştır. Yabani tip tütün hücreleriyle karşılaştırıldığında, bu bitkilerin 500 mM NaCl de hiperozmotik toleransı artmıştır (Nakayama et al. 2000). Tuz stresi altında bu transgeniklerin daha iyi performans göstermeleri ozmolitlerin ozmotik etkiyi ortadan kaldırmalarıyla açıklanamaz. Çünkü konsantrasyonları, ozmotik dengeye büyük oranda katkı yapmak için çok yetersizdir. Diğer yandan düşük miktardaki ozmolitlerin tuz stresinin neden olduğu reaktif oksijen türlerinin süpürülmesinde de etkili oldukları belirlenmiştir (Smirnoff and Cumbes, 1989).

Stres altında bitkilerde biriken en yaygın ozmolitlerden biri de prolin'dir. Prolin birikimi bitkilerde ozmotik strese yanıt olarak oluşan tipik fizyolojik yanıtlardan biridir. Prolinin NADP⁺ gereksinimini iyileştirerek stres altındaki hücrelerde oluşan redox potansiyeli değişimlerini iyileştirici etki yaptığı düşünülmektedir. Stresten sonraki iyileşme döneminde prolinin parçalanması karbon, azot ve enerji kaynağı sağlar (Hare et al., 1998).

1.4.4 Bitkiler ürettikleri farklı tipteki antioksidantlar ile ROS'ları süpürürler.

Antioksidantlar, genellikle enzimatik ve enzimatik olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar: Enzimatik antioksidantlar; süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR)'dir. Enzimatik olmayan antioksidantlar ise glutatyon (GSH), askorbat (AsA), karotenoidler ve tokoferollerdir (Asada 1999; Kiddle et al. 2003; Gomez et al. 2004; Mateo et al., 2004; Gupta et al., 2005).

1.4.4.1 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi:

Farklı çevresel streslere tepki vermek için bitki hücrelerindeki SOD sentezinin uyarılması, SOD'un bitkilerin savunma mekanizmasında, önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Suyun sınırlı olduğu alanlarda, süperoksit radikallerini süpürmek için SOD'un aktivitesi genellikle artar (Van-Camp et al. 1996). Diğer streslerde olduğu gibi, tuz stresine maruz kalan farklı bitki türlerindeki SOD aktivitesi ile ilgili araştırmalar oksidatif stres hasarında farklı mekanizmaların etkili olduğunu ortaya koymuştur (Yu and Rengel, 1999a, b). ROS'un birincil kaynağı olan süperoksit radikalleri hızla süperoksit dismutaz enzimi tarafından (SOD; EC1.15.1.1) oksijen ve hidrojen peroksite dönüştürülür. SOD'lar aktif bölgelerindeki metal kofaktörlere göre farklı şekillerde tanımlanırlar: Bunlar, Fe-SOD, Mn-SOD ve Cu/Zn-SOD. Fe-SOD ve Mn-SOD apoproteinlerinin primer dizileri ortaktır fakat Cu/Zn-SOD'un farklıdır. Mantar ve hayvanlarda yalnızca Cu/Zn-SOD ve Mn-SOD bulunurken bazı bitki ve bakterilerde üç izoenzim tipi de gözlenmektedir. (Bowler et al., 1992). Fe-SOD, *Escheria coli* ve *Methanobacterium bryantii* gibi prokaryotlarda da mevcuttur (Yost and Fridovich 1973; Kirby et al. 1981). Nikel içeren SOD (Ni-SOD)'un *Streptomyces* türlerinin sitozolik kısımlarında mevcut olduğu rapor edilmiştir (Youn et al., 1996). Bitkilerde SOD izoenzimleri farklı hücre bölmelerde yer alır (Şekil 1.7). Fe-SOD'lar plastitler, Mn-SOD'lar mitokondri ve peroksizom ve Cu/Zn-SOD ise kloroplast, sitoplazma ve hücrelerarası boşlukta bulunur (Bowler et al., 1992; Tanaka et al., 1985, 1999).

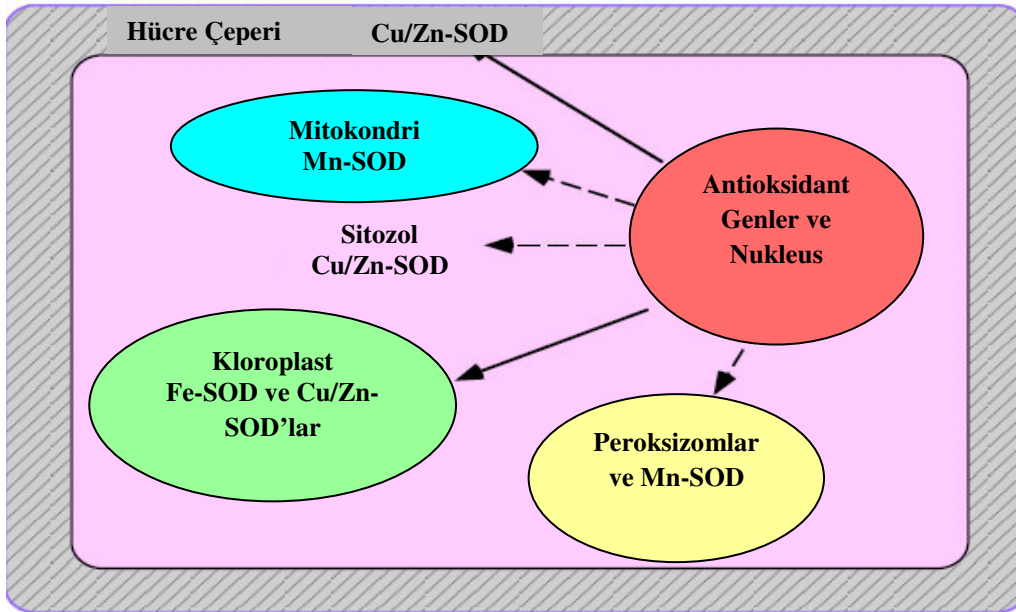
SOD tarafından süperoksit radikalının parçalanması sonucunda oluşan hidrojen peroksidin hücreye zarar vermemesi için hemen ortamdan uzaklaştırılması gereklidir. Çünkü bu radikal belirli metal iyonları ve metal şelatların varlığında yüksek derecede reaktif hidroksil radikallerini oluşturur

(Imlay and Linn, 1988). β -oksidasyon yoluyla glioksizomlarda ve peroksizomlarda oluşan hidrojen peroksit, katalaz (CAT;E.C 1.11.16) tarafından suya detoksifiye edilir. Hidrojen peroksit, kloroplastta oluşmuşsa elektron donör olarak askorbatı kullanan askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesiyle süpürülür (Shigeoka et al. 2002). İndirgeyici olarak askorbatı kullanan ve H_2O_2 ye karşı ilgisi yüksek olan APX ile CAT karşılaştırıldığında; CAT'ın indirgeyici bir güç kaynağına ihtiyacı yoktur ve yüksek bir reaksiyon oranına sahiptir, fakat H_2O_2 ye karşı ilgisi düşüktür (Willekens et al., 1997). Bu nedenle CAT sadece H_2O_2 yığınlarını ortadan kaldırırken, APX daha özel bölgelerde bulunan çok küçük orandaki H_2O_2 'leri bile süpürebilir. H_2O_2 , elektron verici olarak tridoksin kullanan glutasyon peroksidazlar tarafından da suya indirgenir (GPX; EC 1.11.1.9) (Navrot et al. 2006). Son yıllarda Miao ve ark. (2006) tarafından ATGPX3'ün de bir H_2O_2 süpürücüsü olarak davrandığı ve hücre içindeki H_2O_2 dengesinde iki yönlü ve ayırteci bir rol oynadığı belirlenmiştir. Bu antioksidantların ABA ve kuraklık stres sinyalinde oksidatif sinyal ileticisi olarak H_2O_2 'den sonra yer aldığı da ortaya konmuştur.

1.4.4.2 Askorbat Peroksidaz (APX) Enzimi

Askorbat peroksidazlar hidrojen peroksitle askorbatın oksidasyonunu katalizler. Sitolik formu, monodehidroaskorbat radikali (MDA) oluşturur. Hücre içindeki yerleşimlerine göre 4 farklı APX enzimi tanımlanmıştır: Bunlar kloroplast stromasındaki çözünebilir form (sAPX), tillakoyide bağlı form (tAPX), sitozolik form (cAPX) ve glioksizom membran form (gmAPX)'dur (Campa 1991, Bunkelmann and Trelease, 1995, 1996). Son yıllarda da APX'un mitokondride bulunan mitAPX türü bulunmuştur (Jimenez et al.,1997; Leonadis et al., 2000). Kieselbach et al. (2000)

Arabidopsis'in kloroplastının tillakoyit lümeninde APX'u kodlayan cDNA tanımlanmıştır. cAPX değişkenleri sinyal iletim sırasında hidrojen peroksit konsantrasyonunun denetiminde kritik bir öneme sahiptir. Stres toleransında APX'un rolü APX-duyarlı tütünde gösterilmiştir. Bitkilerin çeşitli abiyotik streslere verdikleri tepki sırasında APX ekspresyonlarını arttırdıkları bulunmuştur (Tanaka et al., 1985; Mittler and Zilinkas, 1992; Hernandez et al., 1995; Noctor and Foyer, 1998). APX aktivitesinde artış tuz stresine maruz kalmış *Raphanus sativus* bitkisinde de gözlenmiştir (Lopez et al., 1996). Ayrıca tütün kloroplastlarındaki APX'un aktivitesi de tuz ve su kıtlığı stresine tepki olarak artmıştır (Badawi et al. 2004).



Şekil 1.7: SOD izoenzimlerinin hücrede lokalize olduğu bölgeler (Alscher, 2002).

1.4.4.3 Katalaz (CAT) Enzimi:

Katalazlar oksidatif strese karşı bitki savunma sisteminde belirgin bir role sahiptir. Bitki katalazları nükleustaki genler tarafından kodlanmış tetrameric demir porfirinlerdir. Bitkilere özel olarak, katalazlar farklı multiformları ve katalaz genlerinin küçük bir ailesini içermektedirler. Farklı genler polipeptit altbirimlerini kodlarken eş zamanlı olarak aynı hücre içinde ifade olurlar ve yükleri ya da moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar. Heterotetramerler, farklı altbirimlerin iki tipinden oluştuğlarında 5 adet izoenzim oluştururlar.

Arabidopsis'te katalazlar en az altı farklı izoenzimin altbirimlerini kodlayan üç genin oluşturduğu bir multigen ailesi tarafından kodlanırken mısırdaki ise üç tane katalaz geni vardır. (Frugoli et al., 1996). Aslında bunlar peroksizomlarda ve glioksizomlarda üretilirler. Katalaz, su ve oksijene parçalandığı reaksiyonu katalizler. Katalaz, büyük ölçüde hidrojen peroksit ile özgün olmasına karşın metil hidrojen peroksit gibi bazı organik hidroperoksitlerle (MeOOH) de reaksiyona girer (Ali and Alqurainy, 2006).

1.4.4.4 Glutatyon Peroksidaz:

Bitki hücrelerinde hidrojen peroksitin diğer bir süpürücüsü de çok sayıda izoenzimi bulunan glutatyon peroksidazlardır (GPX). İndirgeyici ajan olarak glutatyonu kullanırlar. H_2O_2 'i, organik hidroperoksitleri ve lipid peroksitlerin indirgenmesini katalize ederek (Ursini et al., 1995) bitkileri oksidatif hasardan korurlar (Flohé and Günzler, 1984). Hayvanlarda GPX'lerin farklı formları üzerinde yapılan çalışmalar daha fazla olup bitkilerde GPX'in oksidatif hasara karşı bitki savunmasındaki rolü daha az ilgi görmektedir.

Bitkilerde oksidatif stresin etkisinin kaldırılmasında askorbat-glutasyon döngüsünün enzimleri de çok önemlidir. Askorbat peroksidazlar askorbatın oksidasyonunu katalizler. Kloroplastlarda hidrojen peroksit süpürücü sistemi korumak için MDHA'dan askorbatın yeniden oluşumu için gereklidir. Stromadaki MDHA'nın indirgenmesi MDHA redüktaz tarafından katalizlenir (MDAR). MDHA'nın MDAR tarafından askorbata dönüşmediği durumda dehidroaskorbat (DHA) üretilecektir. Askorbatın DHA'dan yeniden oluşumu tiol enzimi DHAR tarafından gerçekleştirilir. Askorbatın yeniden oluşumuna DHAR'ın katkısı MDHA kadar çok değildir (Asada, 1994; Minkov et al., 1999). Glutasyon redüktaz, askorbat glutasyon sisteminin diğer önemli bir enzimidir. Bu enzim ağırlıklı olarak kloroplastlarda bulunurken mitokondri ve sitozolde de küçük miktarda bulunmaktadır (Edward et al., 1990; Creissen et al., 1994). Glutasyon redüktaz, bitkilerdeki birçok metabolik düzenlemede rol alır ve antioksidatif yolda yeralan glutasyonun indirgenmesini katalizler.

Enzimatik antioksidantlara ek olarak bitkiler, stresin neden olduğu oksidatif stresin etkilerini yok etmede önemli bir rol oynayan enzimatik olmayan moleküllerde sahiptir. Enzimatik olmayan bu antioksidantlar; askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler, glutatyonudur (Noctor and Foyer, 1998; Tausz and Grill, 2000; Schafer et al., 2002).

Glutasyon:

Sistein içeren bir tripeptit olan glutasyon, bitkilerdeki çok önemli metabolitlerden biridir. Glutasyon, bitki dokularında indirgenmiş bir formda bol miktarda bulunur. Apoplastın yanı sıra peroksisom, kloroplast, sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri gibi tüm hücre bölümlerinde

mevcuttur (Mittler and Zilinkas, 1992; Jimenez et al., 1998). Glutasyonun indirgenmiş formu potansiyel olarak tekli oksijeni, hidrojen peroksiti ve hidroksil radikali gibi diğer radikalleri de süpürür (Larson, 1988; Smirnoff, 1993, Briviba et al., 1997; Noctor and Foyer, 1998). Bunun yanına GSH, askorbat glutasyon düngüsüyle diğer bir potansiyel suda çözülebilir antioksidant olan askorbik asitin yeniden oluşumuyla antioksidatif savunma sisteminde önemli bir rol oynar (Foyer and Halliwell, 1976; Foyer et al., Foyer et al., 1997). GSH, dehidroaskorbat redüktazın (DHAR) ve xenobiotiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan glutasyon-S transferazın (GST) substratıdır (May et al., 1998; Noctor et al., 1998b; Mendoza-Cozatl and Moreno-Sanchez, 2006). Bunun okside formuyla (GSSG) kombinasyonunda, glutasyon hücrel bölmelerde redoks dengesini devam ettirir. Bu özellik, normal ve stresli koşullar altında normal hücrel redox sistemin korunmasında önem taşır (Wang et al., 2008). Stres şiddeti arttığında, glutasyon konsantrasyonları genellikle azalır ve redox durumu daha çok okside olur ve dolayısıyla sistem zarar görür.

Askorbik asit:

Doğada bol bulunan askorbik asit (AA; Vitamin C)'in potansiyel bir antioksidant olduğu bilinmektedir (Smirnoff, 2000; Arrigoni and De Tullio, 2000). GSH gibi AA'da suda çözünebilir ve bir çok bitki hücre tipinde, organellerde ve apoplastta bulunur. Normal fizyolojik koşullar altında AA, yaprak ve kloroplastlarda daha çok indirgenmiş formda mevcuttur (Smirnoff, 2000). AA, apoplastlarda da bol bulunur (Yamamoto et al., 2005). Hücredeki konsantrasyonu milimolar oranına çıkabilir ve bu değer glutasyonunkinden çok daha fazladır (Smirnoff, 2005;Foyer and Lelandais, 1996). AA doğrudan süperoksiti, hidroksil radikallerini ve tekli oksijeni baskılar. Ayrıca H₂O₂'yi askorbat peroksidaz reaksiyonu yoluyla suya indirger (Foyer et al., 1997).

AA tokoferollerini, tokoferoksil radikalinden yeniden oluşturulur (Thomas et al, 1992). Bunun için bitkilerdeki içsel AA'nın artması diğer metabolik yolları düzenlenmenin yanında oksidatif strese karşı koymak için de gereklidir

Karotenoidler:

Karotenoidler, oksidatif stres toleransında rol oynayan birçok metabolik işlevlere sahiptir. Karotenoyitler kloroplastlarda oluşan lipofilik organik bileşiklerdir. Fotosisteme karşı ışıkla korunumu sağlarlar. Bitkilerde karotenoyitlerin farklı tipte olmasına rağmen β -karotenler yüksek yapılı bitkilerde baskındır. Ve bunlar, tekli oksijenin oluşumunu etkili bir şekilde engeller.

Flavonoidler:

Fenolikler gibi organik bileşiklerin geniş bir sınıfına ait olan flavonoidler, okside edilebilir bileşiklerin bir çeşidine karşı antioksidant aktivite de gösterebilirler. Flavonoidler bitkiler aleminde yaygın olup yapraklarda, çiçek kısımlarında ve polenlerde bulunur. Flavonoidler genellikle glikozit olarak bitki vakuolünde birikirler. Fakat diğer bitki bölmelerinde ve yaprak yüzeylerinde yaşama sıvısı olarak ta oluşurlar. Bitki hücrelerindeki flavonoid konsantrasyonu çoğunlukla 1mM'dır (Vierstra et al. 1982). Çeşitli flavonoidler, doymamış yağ asitini oksijen içeren türevlerine dönüştüren lipoksijenaz enziminin potansiyel inhibitörü olarakta iş görürler (Nijveldt et al., 2001).

Yukarıda sözü edilen enzimatik olmayan antioksidantlara ek olarak antioksidatif özellik gösteren başka metabolitlerde vardır. Örneğin; fenolik asit, alkaloid, polyamınler, diterpenler, aminoasitler ve aminler gibi. Ancak bu metabolitlerin stres altındaki bitkilerde antioksidatif rolleri küçüktür.

Tuz stresi altında antioksidant enzimlerin aktiviteleri ve enzimatik olmayan antioksidantların düzeyleri bitki türleri göre büyük çeşitlilik gösterir (Zhang and Kirkham,1995; Nayyar and Gupta, 2006; Smirnoff, 2005). Bu çeşitlilik sadece türler arasında da değil aynı türün iki farklı kültüvarı arasında bile gözlenebilir. (Bartoli et al., 1999). Dolayısıyla, ROS'ların etkisiz hale getirilmesinde bir antioksidantın etkili rolü, strese maruz kalan bitkinin büyüme evresine, bitkinin türüne ve stresin yoğunluğuna da bağlıdır.

Yukarıda anlatılan bu antioksidant enzimleri kodlayan genlerin aktivite ve ifade olma düzeyleri genelde abiyotik streslere karşı koymak için artmaktadır. Abiyotik strese maruz bırakılan bitkilerdeki oksidatif hasarın derecesi antioksidatif sistemin kapasitesi ile denetlenir (Mc Kersie et al. 1996; Noctor and Foyer, 1998; Acar et al., 2001; Türkan et al., 2005). Antioksidatif sistem kapasiteleri arasındaki farklılık, 1- türlere ve hatta aynı türün farklı kültüvarlarına, 2- bitkinin strese maruz kaldığı büyüme dönemine, 3- stresin yoğunluğuna bağlıdır (Zhang and Kirkham, 1995; Bartoli, 1999; Nayyar and Gupta, 2006; Smirnoff, 2005). Antioksidan ve tuz toleransı arasındaki ilişki pamuk (Gossett et al., 1994), mandalin (Gueta-Dahan et al., 1997), pirinç (Demiral and Turkan, 2004, 2005); bezelye (Hernandez et al., 1995, 2000), susam (Koca et al., 2007) ve semiz otu (Yazıcı et al., 2007) gibi çok çeşitli bitki türlerinde bulunmuştur. Genelde tuzluluğa direnç artışı ile antioksidant enzimlerin aktivitesindeki artış arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Plantaginaceae ailesinin üyeleri olan *Plantago maritima* ve *Plantago media*, çok yıllık bitkilerdir. *Plantago media*, beyazlamış sinir otu (hoary plantain) *Plantago maritima* ise deniz sinir otu (sea plantain) olarak bilinmektedir. *Plantago maritima* deniz kıyısındaki tuzlu bataklıklarda

P.media ise çayırılık ve imenlik arazilerde yayılış göstermektedirler.(şekil 1.8).



şekil 1.8: *P.maritima* (A-B) (www.digitalnaturalhistory.com) ve *Plantago media*'nın (C) (<http://herba.msu.ru>) doğal habitatlarındaki görünümleri

Tuzlu alanlardan daha etkin olarak yararlanabilmek için tuzluluğa direnç mekanizmasının anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Bu açıdan akraba türlerin oransal tuz toleranslarının fizyolojik, biyokimyasal, ve moleküler mekanizmalarına büyük ilgi çekmektedir. Örneğin; yapılan alışmalar *Plantago* cinsine ait *P. media*'nın glikofitik, *P. martima*'nın halofitik olduğu ortaya konmuştur (Erdei and Kuiper, 1979; Maathius and Prins, 1990; Tanczos et al., 1981). Staal ve ark. (1991) *Plantago maritima*'nın (tuza toleranslı) 250 mM NaCl'den daha yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşamını sürdürebildiğini göstermişlerdir. *Plantago*

media'da 50 mM NaCl, ölümlü sonuçlanan ciddi hasarlar oluşturabilmektedir. Aynı çalışmada tuza nisbi direnç mekanizmasını aydınlatmak için *P. maritima* ve *P. media*'nın tonoplastlarındaki Na⁺/H⁺ antiportörleri karşılaştırılmış ve bu antiportörün *P. media*'da olmadığını saptanmıştır. Ayrıca 10 mM'dan düşük tuzlulukta *P. media*'nın tuzu dışarıda bıraktığını, fakat tuz konsantrasyonu 25 mM'ın üstüne çıktığında NaCl girişini ve aktarımını denetleyemediğini bulmuşlardır. Bu iki türün tuz toleranslarındaki farklılığı ortaya koyabilmek amacıyla Maathuis ve Prins (1990) zar özelliklerini elektrofizyolojik olarak incelemiştir. Sonuç olarak iki türün zar potansiyelleri arasında belirgin bir farklılığa rastlanmamıştır. Ancak her iki iyonla karşı zar geçirgenliğinin, tuza dirençli olan *P. maritima*'da azaldığı belirtilmiştir. Tuz stresinin *P. maritima*'nın stoma iletkenliği ve fotosentez verimi üzerine olan etkisini inceleyen Flanagan ve Jefferies (1988) ise stres altında fotosentezin az engellendiğini, buna karşılık stoma iletkenliğinin arttığını bulmuşlardır.

Bu bağlamda şimdiye kadar *Plantago maritima* (tuza dayanıklı) ve *Plantago media*'nın (tuza duyarlı) tuz stresine karşı olan farklı duyarlılıklarının mekanizmasını aydınlatmak için antioksidan savunma sisteminin rolü çalışılmamıştır. Halbu ki önceden belirtildiği gibi tuz stresine bağlı oksidatif zararın bertarafı ve tuza direnç arasında önemli bir ilişki mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızda *P. maritima* ve *P. media*'nın nisbi tuz toleranslarında antioksidan sisteminin rolünün aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bunun için SOD, CAT, POX, APX ve GR gibi antioksidan enzim ve izoenzim (SOD ve POX) aktiviteleri ile oksidatif zararın belirteci olan lipid peroksidasyonu araştırılmıştır. Ayrıca büyüme,

bağlı su içeriği (RWC), stomatal iletkenlik ve klorofil floresansları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

2. MATERYAL VE METHOD

2.1 Bitki Materyali ve Yetiştirilmesi

P. maritima tohumları Hollanda'nın kuzeyindeki Wadden Denizi'ndeki Schiermonnikoog yakınlarındaki yabani bir populasyondan, *P. media* tohumları ise Hollanda'daki Brummen, Tolkamer (Nimegen Bölgesi) ve Gerendal (Güney Limborg bölgesi) gibi 3 farklı bölgedeki populasyondan toplanmış olup Groningen Üniversitesi'nden Prof. Dr. Theo Elzenga ve Marten Staal tarafından sağlanmıştır. Tohumların sterilizasyonu, %0.5'lik sodyum hipoklorit solusyonunda 5 dakika ve daha sonra steril dI-H₂O'da 4-5 kez yıkanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Tohumlar perlitte, 20⁰C'de, 12 saat ışık/12 saat karanlıkta, 350µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğunda ve nem oranı %65 olan iklim odasında çimlendirilmiştir. Fideler 60 gün Hoagland solusyonu ile sulanarak büyütülmüş ve (Şekil 2.1) tuz stresi uygulaması, normal büyümenin 60. gününde fidelere 100 ve 200mM NaCl içeren Hoagland solusyonunun verilmesiyle başlamıştır (Şekil 2.1). Bitkiler tuz uygulamasının 0., 7. ve 14. gününde hasat edilmiştir. Hasat edilen örnekler analizlere kadar -80⁰C'de saklanmıştır.

2.2 Büyüme Parametreleri

Plantago maritima ve *Plantago media* fideleri tuz uygulamasının 7. ve 14. gününde hasat edilmiştir. Her bir gruptan gelişigüzel 10'ar bitki alınarak gövde ve kökler birbirinden ayrılmıştır. Gövde ve köklerin yaş ağırlıkları tartıldı ve uzunlukları ölçüldü. Örnekler 70 °C'de 72 saat bekletildikten sonra kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

2.3 Bağıl Su İçeriği

Her bir gruptaki bitkilerden 6 yaprak örneği alınarak yaş ağırlıkları (YA) ölçülmüştür. Yapraklar 8 saat boyunca düşük ışık altında D_2O içinde petrilere bekletilerek turgor haline gelmeleri sağlanmıştır. Turgorlu yapraklar kurutulur kurutulmaz turgorlu ağırlıkları (TA) belirlenmiş ve bu yapraklar 72 saat boyunca $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilerek kuru ağırlıkları (KA) saptanmıştır. Her bir gruba ait yaprak örneklerinin bağıl su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır (Smart and Bingham, 1974).

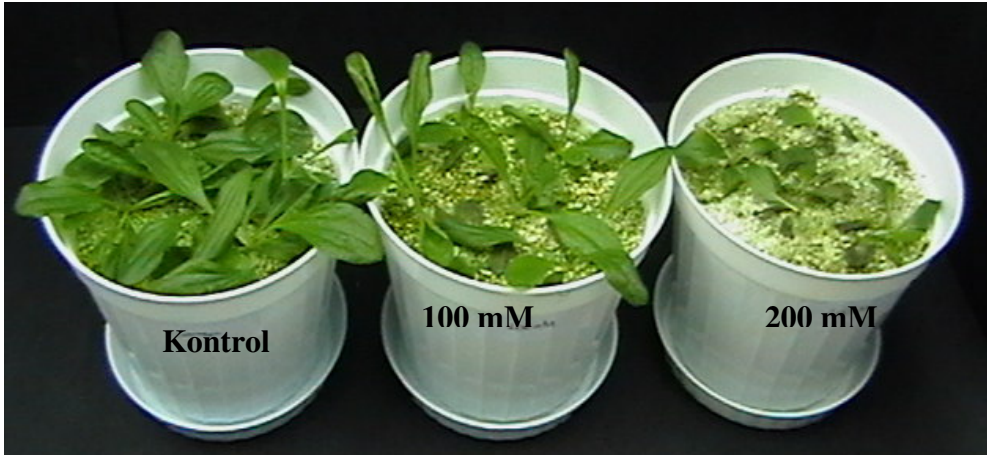
$$\text{Bağıl Su İçeriği} = [(YA-KA)/(TA-KA)] \times 100$$



Şekil 2.1: 60 gün boyunca perlit ortamında yetiştirilmiş *Plantago media* (solda) ve *Plantago maritima* (sağda) fidelerinin tuz uygulamasından önceki görünüşleri.



Şekil 2.2: 0, 100 ve 200 mM NaCl uygulamasının 7. gününde *Plantago media* bitkileri



Şekil 2.3: 0, 100 ve 200 mM NaCl uygulamasının 14. gününde *Plantago media* bitkileri

2.4 Klorofil Floresans Ölçümleri

Klorofil floresans ölçümleri, her bir uygulamaya ait 6 farklı bitkinin en üstteki katlanmamış yapraklarında yapılmıştır. Floresans ölçümlerinden önce yaprağın üst yüzeyindeki 1cm^2 lik dairesel bir bölge 15 dk boyunca

yaprak klipsleri kullanılarak karanlığa alıştırmıştır. Bir bitki verim analizi cihazı (LICOR,Lincoln, NE) sayesinde yaprakların doygun ışık demetine maruz bırakılmasıyla, değişken olmayan bazal klorofil flüoresansı (F_o), maksimum floresans indüksiyonu (F_m), değişken floresans (F_v) ve F_v/F_m oranları belirlenmiştir. Her iki *Plantago* türünün NaCl stresine gösterdikleri yanıtları karşılaştırmak için özellikle PS-II'nin fotokimyasal verimi (maksimum kuantum verimi F_v/F_m) dikkate alınmıştır.

2.5 Stomatal İletkenlik Ölçümü

Stoma iletkenliği, tuz uygulamasının 0., 7. ve 14. gününde portatif porometre cihazıyla (LI 1600M, LICOR) ölçülmüştür.

2.6. Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1 Enzim ekstraktlarının hazırlanması

Hasat edilen *P.maritima* ve *P.media* fideleri, hemen sıvı azotla dondurularak, biyokimyasal analizlere kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklanmıştır. SOD, CAT, POX, APX ve GR enzimlerinin ekstraksiyonu için $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmakta olan yapraklar, soğutulmuş havanda sıvı azot yardımıyla, %2 (w/v) polivinilpolipirrolidon (PVPP) ve 1 mM EDTA içeren 0,05 M sodyum fosfat tamponuyla (pH 7,8) homojenize edilmiştir. APX ekstraksiyonu için 2 mM Asc içeren homojenizasyon tamponu kullanılmıştır (p H:7,8). Homojenat $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 14.000 rpm'de 30dk santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatant enzim aktivitesinin tayin edilmesinde kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosedürünün tümü $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Tüm spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV-1600 ile yapılmıştır (Shimadzu, Japan).

2.6.2 Süperoksit dismutaz (SOD; süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz, EC 1.15.1.1) aktivitesinin tayini

SOD aktivitesi, Beauchamp and Fridowich (1971)'e göre, SOD' un fotokimyasal olarak nitro blue tetrazolium (NBT)'un indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin ölçülmesiyle tayin edilmiştir. 3ml reaksiyon karışımı; 50 mM fosfat tamponu (pH 7,8), 33 μ M NBT, 10 mM L-metionin, 0,66 mM EDTA Na₂, 0,0033 mM Riboflavin içermektedir. Süpernatant seyreltikten sonra karışım 10 dk 300 μ mol m⁻²s⁻¹ ışık şiddeti altında bekletildi. Daha sonra reaksiyon karışımının 560 nm' de verdiği absorbans değerleri okundu. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin % 50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) olarak tanımlandığından, yaprak örneklerindeki SOD aktiviteleri buna göre belirlendi.

2.6.3 Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) aktivitesinin tayini

Katalaz enzimi aktivitesinin belirlenmesi Bergmeyer (1970)'in metoduna göre gerçekleştirildi. H₂O₂'in miktarında oluşan azalma; 240 nm' de gösterdiği maksimum absorbanstaki düşüşle belirlendi. 1ml'lik son hacme sahip kuvartz küvetlerdeki reaksiyon karışımı; 0,1 mM EDTA, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH:7), dI-H₂O ve %0,3 H₂O₂'den oluşuyordu. Reaksiyon boyunca absorbansta oluşan düşüş 180 sn boyunca takip edildi. CAT aktivitesi dakikada harcanan μ mol H₂O₂ olarak ifade edildi.

2.6.4 Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesinin tayini

APX aktivitesinin tayini Nakano and Asada (1981)'ya göre yapıldı. Askorbat okside oldukça, spektrofotometreden 290nm'deki absorbansta oluşan azalma okunmuştur ve hesaplamalar askorbatın ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yapılmıştır. Reaksiyon karışımında 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH: 7), 0,5 mM askorbat, 0,1 mM EDTA Na₂ ve 1,2 mM H₂O₂ bulunmaktadır. Askorbatın oksidasyonu, enzim ekstraktının katılmasıyla başlatıldı ve absorbanstaki azalma 180 sn boyunca takip edildi. 1 birim APX aktivitesi dakikada okside olan 1 mmol ml⁻¹ askorbat ifade edildi.

2.6.5 Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) aktivitesinin tayini

POX aktivitesi Herzog and Fahimi (1973)'ye göre belirlenmiştir. Aktivite 465nm'de 3,3'-diaminobenzidin tetrahidrokloroid (DAB)'in oksidasyonu ile absorbansta meydana gelen artış takip edilerek hesaplanmıştır. Polystrene küvetteki reaksiyon karışımı, DAB solüsyonu, % 0,6'lık H₂O₂, dI-H₂O ve enzim ekstraktından oluşmaktadır. Reaksiyon, H₂O₂'in katılmasıyla başlatılıp ve 180 sn boyunca absorbans artışı takip edilmiştir. Spesifik enzim aktivitesi dakikada tüketilen $\mu\text{mol ml}^{-1}$ H₂O₂ olarak ifade edilmektedir.

2.6.6 Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesinin tayini

Glutasyon redüktaz aktivitesi, 340 nm'deki absorbans azalmasından yola çıkarılarak hesaplandı (Foyer and Halliwell, 1976). NADPH varlığında, okside glutasyon miktarındaki azalma, kuvarz küvette, köre karşı 180 sn boyunca takip edilmiştir. Hesaplamalar, glutasyon redüktaz enziminin ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($6,2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yapılmıştır. Spesifik

enzim aktivitesi, dakikada indirgenen 1 mmol ml⁻¹ GSSG miktarı olarak ifade edilmektedir.

2.6.7 SOD izozimlerinin elektroforetik ayrımı

Plantago maritima ve *Plantago media* yaprakları 9 mM Tris –HCl (pH: 6,8) ve % 13,6 (v/v) gliserol içeren tamponla 4 °C’de homojenize edilmiştir. Homojenatlar 4 °C’de, 14.000 rpm’de 30 dakikada santrifüjlendikten sonra elde edilen süpernatantlar SOD ve POX izozimlerinin elektroforetik ayrımında kullanılmıştır.

Elektroforetik SOD izozimlerinin ayrımı Beauchamp and Fridovich (1971)’e göre riboflavin ve nitroblue tetrazolium boyamasıyla yapılmıştır. Eşit miktarda protein (20µg) içeren örnekler, denatüre olmayan (SDS içermeyen) poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE)’ne tabi tutulmuştur (Laemmli, 1970). SOD örnekleri 4 °C’de sabit akım altında (120 mA), % 5 toplayıcı jel (stacking gel) ve % 12 ayırıcı jelde (seperating gel) yürütülmüştür.

2.6.8 POX izozimlerinin elektroforetik ayrımı

Elektroforetik POX izozimlerinin ayrımı Seevers ve ark. (1971)’ e göre yapılmıştır. 20 µg protein içeren örnekler % 10’luk denatüre olmayan akrilamid jelde (PAGE) sabit akım altında (120 mA) yürütülmüştür. Elektroforezden sonra oluşan bantları görbilmek için jeller karanlıkta 30 dakika boyunca, benzidin ve hidrojen peroksit içeren 200 mM Na-asetat tamponunda (pH: 5,0) inkübe edilmiştir. Daha sonra jeller % 7’lik asetik asit solüsyonunda saklanmıştır.

2.7 Protein Miktarının Belirlenmesi

Protein içeriği Bradford (1976)'ya göre, bovine serum albumin standart olarak kullanılmak suretiyle yapılmıştır. Standartlar 0,01-0,2 mg/mL aralığında hazırlanmıştır.

2.8 Lipit Peroksidasyonu

Yapraklarda meydana gelen lipit peroksidasyon derecesinin belirlenmesi için, lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesi ölçülmüştür. MDA miktarı Madhava Rao and Sresty (2000)'e göre belirlenmiştir. Bunun için 0,5 g yaprak örneği, TCA(trikloroasetik asit) ile homojenize edildi. Santrifüjden sonra süpernatant TBA (tiobarbitürik asit) ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlenip tüm deney tüpleri 95 °C'de 30 dk ısıtılmıştır. Karışım 10.000g x 15 dk santrifüjlenmiştir. Oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. MDA konsantrasyonu, ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm ölçümler 6 tekerrür halinde yapılmıştır.

2.9 İstatistiksel Analizler

Her bir deneme en az 3 kez tekrar edilmiştir ve her bir bulgu, büyüme parametreleri dışında (n=10) 2 tekrardan oluşmaktadır (n=6). Elde edilen veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One –way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Lowest Standard Deviations (LSD) test, ile karşılaştırılmıştır. Klorofil flüoresansı ve yaprak su potansiyeli gibi tekrarlamalı ölçümlerde ise veriler İki –Yönlü Varyans Analizi (Two – way ANOVA) ile analiz edilmiştir. $P < 0,05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS programı (standart versiyon 10.0) ile gerçekleştirilmiştir. Bütün şekillerdeki hata çubukları

ortalama \pm standart hata (S.H.)'yı göstermektedir ve çizelgelerdeki değerler ortalama \pm S.H. şeklinde verilmiştir.

3. SONUÇLAR

3.1. Büyüme Parametreleri

3.1.1 Kök Uzunluğu

P. maritima ve *P. media* bitkilerinin tuz uygulamalarına bağlı olarak kök uzunluğunda meydana gelen değişimler çizelge 3.1’de verilmiştir. Tuz stresine 7 gün maruz kalan *P. maritima*’nın kök uzunluğunda belirgin bir değişim meydana gelmemiştir. Ancak 14. günde 100 mM NaCl, *P. maritima*’nın kök uzunluğunda %18, 200 mM NaCl ise %32 azalmaya neden olmuştur. Diğer yandan *P. media*’nın kök uzunluğu, deneme süresince tuz stresinden olumsuz etkilenmiştir. 7. günde *P. media*’nın kök uzunluğu 100 mM NaCl’de %9, 200 mM NaCl stresinde ise %14 azalmıştır. 14. günde ise *P. media*’nın kök uzunluğundaki bu azalma, 100 mM NaCl’de stresinde %21, 200 mM NaCl stresinde ise %41 olmuştur.

Çizelge 3.1: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*’nın kök uzunluklarında (cm) gözlenen değişimler (n=10). Rakamların yanlarındaki aynı harfler istatistiksel bakımdan birbirinden farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P<0,05$).

	Gruplar	0. Gün	7.Gün	14.Gün
<i>P. maritima</i>	Kontrol	5,53 ± 0,68	5,43 ± 0,56 a	5,77 ± 0,97 a
	100 mM NaCl		5,52 ± 0,46 a	4,28 ± 0,77 c
	200 mM NaCl		5,98 ± 1,48 a	3,90 ± 1,05 b
<i>P. media</i>	Kontrol	9,15 ± 0,44	7,90 ± 0,62 a	7,07 ± 0,51 a
	100 mM NaCl		6,22 ± 1,38 a	6,42 ± 0,66 b
	200 mM NaCl		4,66 ± 1,32 b	4,13 ± 1,10 a

3.1.2 Kök Yaş Ağırlığı

P. maritima ve *P. media* bitkilerinin uygulamalara bağlı olarak kök yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler çizelge 3.2’de verilmiştir. Heriki türün kök yaş ağırlıkları karşılaştırıldığında tuz stresi altında en büyük azalma *P. media* ‘da gözlenmiştir.

Çizelge 3.2: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*’nın kök yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). Rakamların yanlarındaki aynı harfler istatistiksel bakımdan birbirinden farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P<0,05$).

	Gruplar	0. Gün	7.Gün	14.Gün
<i>P. maritima</i>	Kontrol	15 ± 3	12 ± 5 a	19 ± 6 a
	100 mM NaCl		11 ± 1 a	16 ± 4 c
	200 mM NaCl		10 ± 3 b	14 ± 4 b
<i>P. media</i>	Kontrol	101 ± 20	175 ± 61 a	209 ± 45 a
	100 mM NaCl		91 ± 25 c	146 ± 33 c
	200 mM NaCl		85 ± 57	71 ± 11 b

P. media ’nın kök yaş ağırlığı 7. günde 100 mM NaCl’de %48, 200 mM’da ise %51 azalmıştır. Buna karşılık *P. maritima*’nın kök yaş ağırlığı 100 mM NaCl stresinden etkilenmezken 200 mM NaCl’de yalnızca %17 azalmıştır.

Tuz stresi uygulamasının 14. gününde ise *P. maritima*’daki bu azalma, 100 mM NaCl’de %16 iken, 200 mM NaCl’de %26 olarak saptanmıştır. Ancak *P. media* ’da bu azalma, 100 mM ‘da %34, 200 mM NaCl’de ise %60 olmuştur. Özetle, tuza duyarlı türümüz *P. media*’nın kök yaş ağırlığı, bitkiye uygulanan tuz konsantrasyonundaki artış ve stres uygulama süresine bağlı olarak azalmıştır.

3.1.3 Kök Kuru Ağırlığı

P. maritima ve *P. media*'da kontrol ve deney bitkilerinin kök kuru ağırlıklarında oluşan değişimler çizelge 3.3'de verilmiştir. Tuz stresine 7 gün maruz bırakılan *P. maritima*'nın kök kuru ağırlığında kontrole göre önemli bir değişim gözlenmemiştir. Ancak tuz uygulama süresinin artması, *P.maritima*'nın kök kuru ağırlığında azalmaya neden olmuştur.

Çizelge 3.3: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın kök kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). Rakamların yanlarındaki aynı harfler istatistiksel bakımdan birbirinden farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P<0,05$).

	Gruplar	0. Gün	7.Gün	14.Gün
<i>P. maritima</i>	Kontrol	1 ± 0	1 ± 0 a	2 ± 1 a
	100 mM NaCl		2 ± 0 b	1 ± 0 b
	200 mM NaCl		1 ± 1 a	1 ± 1 a
<i>P. media</i>	Kontrol	10 ± 2	16 ± 4 a	19 ± 3 a
	100 mM NaCl		9 ± 2 b	16 ± 3 c
	200 mM NaCl		10 ± 6 b	9 ± 2 b

P. maritima'nın aksine *P. media* 'nın kök kuru ağırlığı, 7 günde tuz uygulamasındaki artışa bağlı olarak azalmıştır. Bu azalma 100 mM NaCl'de %44, 200 mM NaCl'de ise %38 olmuştur. Kök kuru ağırlığındaki en büyük azalma %53, 200 mM NaCl uygulanan *P.media*'da gözlenmiştir.

3.1.4. Gövde Uzunluğu

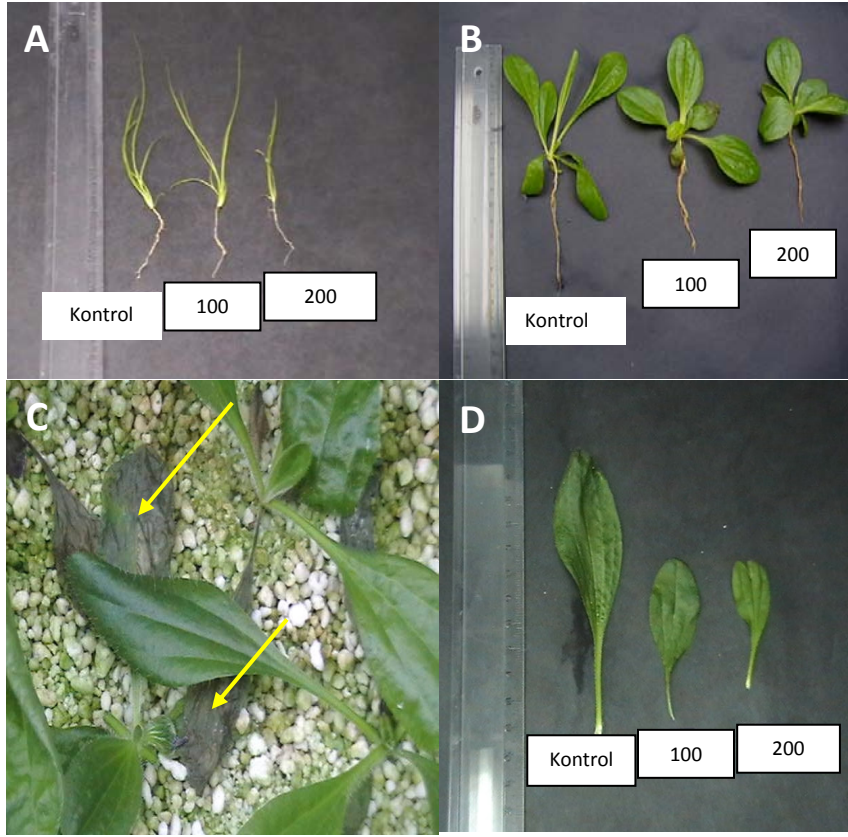
P. maritima ve *P. media* bitkilerinin tuz stresi uygulamalarına bağlı olarak gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler çizelge 3.4’de ; tuz stresinin 7. gününde, *P. maritima* ve *P. media* fidelerinin morfolojik yapılarında gözlenen değişimler ise şekil 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.

Tuz stresinin, gövde büyümesi üzerindeki olumsuz etkisi *P. media*’da daha çok gözlenmiştir. Tuz stresi uygulamasının 7. gününde *P. media* ’nın gövde uzunluğu, heriki tuz konsantrasyonunda da %30 oranında azalmıştır. Fakat *P. maritima*’nın gövde uzunluğu, 100 mM NaCl stresinden etkilenmeyip sadece 200 mM NaCl stresinde kontrol grubuna göre %26 azalmıştır.

Tuz stres uygulamasının 14. gününde ise *P. media* ’nın gövde uzunluğu 100 mM NaCl’de %32, 200 mM NaCl’de ise %40 azalmıştır. Fakat bu azalma *P. maritima*’da 100 mM NaCl’de % 18, 200 mM NaCl’de ise %33 olmuştur.

Çizelge 3.4: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*’nın gövde uzunluklarında (cm) gözlenen değişimler (n=10). Rakamların yanlarındaki aynı harfler istatistiksel bakımdan birbirinden farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P<0,05$).

	Gruplar	0. Gün	7.Gün	14.Gün
<i>P. maritima</i>	Kontrol	10,32 ± 0,98	10,65 ± 0,9 a	11,7 ± 0,79 a
	100 mM NaCl		9,13 ± 0,48 a	9,72 ± 0,19 c
	200 mM NaCl		7,9 ± 0,67 b	7,76 ± 0,75 b
<i>P. media</i>	Kontrol	8,25 ± 1,21	9,00 ± 0,08 a	10,40 ± 0,29 a
	100 mM NaCl		6,43 ± 0,26 b	7,05 ± 0,58 c
	200 mM NaCl		6,44 ± 0,11 b	6,25 ± 0,84 b



Şekil 3.1: 7 gün süreyle 100 ve 200 mM NaCl stresine maruz bırakılan *P. maritima* ve *P. media* fidelerinin görünümü. Tuzluluğun (A) *Plantago maritima* ve (B) *Plantago media*'nın gövde uzunluğuna etkisi. (C) 200 mM NaCl stresi altındaki *P. media* 'daki yaprak yanıkları. (D) Tuz stresinin aynı yaştaki *P. media* bitkilerinin yaprak yüzey alanı üzerindeki etkisi.



Sekil 3.2: 7 gün süreyle 200 mM NaCl stresine maruz kalan *P. media* 'nın yapraklarındaki tüylenme

3.1.5 Gövde Yaş Ağırlığı

P. maritima ve *P. media* bitkilerinin tuz uygulamalarına bağlı olarak gövde yaş ağırlıklarında gözlenen değişimler çizelge 3.5’de verilmiştir. *P. maritima*’nın gövde yaş ağırlığı, tuz uygulamasının 7. gününde 100 mM NaCl’den etkilenmezken 200 mM NaCl’de %46 azalmıştır. *P. media* ’nın gövde yaş ağırlığı ise, kontrol grubuna göre 100 mM NaCl’de %10 artmış ancak 200 mM NaCl’den etkilenmemiştir.

Çizelge 3.5: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*’nın gövde yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). Rakamların yanlarındaki aynı harfler istatistiksel bakımdan birbirinden farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P<0,05$).

	Gruplar	0. Gün	7.Gün	14.Gün
<i>P. maritima</i>	Kontrol	231 ± 30	208 ± 50 a	290 ± 28 a
	100 mM NaCl		200 ± 20 a	206 ± 28 a
	200 mM NaCl		112 ± 30 b	205 ± 24 a
<i>P. media</i>	Kontrol	700 ± 120	700 ± 100 a	1582 ± 317 a
	100 mM NaCl		770 ± 60 c	1245 ± 124 c
	200 mM NaCl		680 ± 110 b	587 ± 15 b

Tuz stresi uygulamasının 14. gününde *P. maritima*’nın gövde yaş ağırlığındaki azalma, her iki tuz konsantrasyonunda sadece %30 olmuştur. *P. media* ’da bu azalma oranı, *P. maritima*’ya göre daha fazla olup 100 mM NaCl’de %21, 200 mM NaCl’de ise %63’azalmıştır. Stres uygulama süresindeki artış, her iki türün gövde yaş ağırlığında azalmaya neden olmuş ancak *P. media* bu yandan dah fazla olumsuz etkilenmiştir.

3.1.6 Gövde Kuru Ağırlık

P. maritima ve *P. media* bitkilerinin uygulamalara bağlı olarak gövde kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler çizelge 3.6'de verilmiştir. Gövde yaş ağırlığında olduğu gibi *P. maritima*'nın gövde kuru ağırlığındaki azalma, uygulanan tuz konsantrasyonu ve stresin uygulanma süresine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Örneğin 100 mM NaCl stresine 7 gün maruz kalan *P. maritima*'nın gövde yaş ağırlığı kontrol grubuna göre değişmezken 200 mM tuz stresi altında %29 oranında azalmıştır.

Çizelge 3.6: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın kök kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler (n=10). Rakamların yanlarındaki aynı harfler istatistiksel bakımdan birbirinden farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P<0,05$).

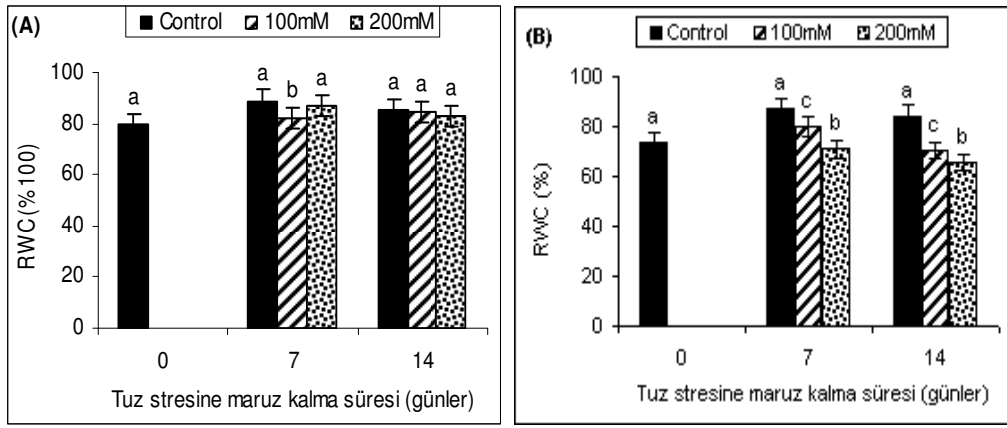
	Gruplar	0. Gün	7.Gün	14.Gün
<i>P. maritima</i>	Kontrol	16 ± 2	14 ± 3 a	25 ± 3 a
	100 mM NaCl		14 ± 2 a	15 ± 7 b
	200 mM NaCl		10 ± 3 b	17 ± 3 c
<i>P. media</i>	Kontrol	70 ± 15	150 ± 40 a	182 ± 16 a
	100 mM NaCl		70 ± 20 b	139 ± 21 c
	200 mM NaCl		70 ± 20 b	79 ± 17 b

Ancak bu oran, *P. media* 'da heriki tuz konsantrasyonu için %54'tür. Tuz stresi uygulamasının 14. gününde ise *P. media* 'da bu azalmanın oranı 100 mM NaCl'de %24 iken 200 mM NaCl'de %57 olmuştur.

3.2 Bağlı Su İçeriği

Yaprak bağlı su içeriğinde tuz uygulamalarına bağlı olarak oluşan değişimler Şekil 3.3'de gösterilmiştir.

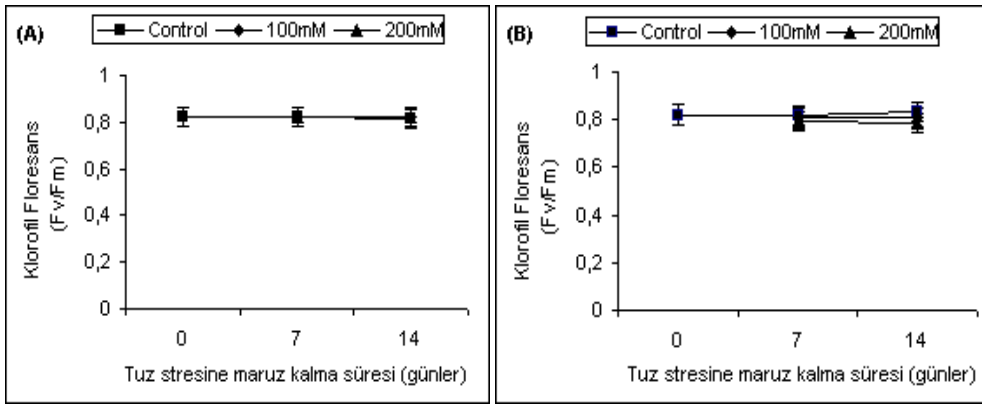
P. media'nın bağıl su içeriği, tuz stresinin uygulama süresine ve konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bu azalma 7.günde 100 mM'da %8, 200 mM NaCl'de ise %18'dir. 14. günde ise bu azalma 100 mM'da %16, 200 mM'da %22 olarak kaydedilmiştir. *P. media*'nın aksine *P. maritima*'nın bağıl su içeriği hemen hemen tuz stresinden hiç etkilenmemiştir. Sadece 100 mM NaCl uygulamasının 7. gününde *P. maritima*'nın bağıl su içeriği %8 azalmıştır.



Şekil 3.3: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* ve *Plantago media*'nın yaprak bağıl neminde (RWC) gözlenen değişimler (%). Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P < 0,05$). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hatayı (S.E.) göstermektedir ($n=6$).

3.3 Klorofil Floresansı

Tuz stresi altındaki *P. maritima* ve *P. media* 'nın fotosentetik veriminde (F_v/F_m) ölçülen değişimler Şekil 3.4'de gösterilmiştir. 100 mM NaCl gerek *P. maritima*'nın gerekse *P. media*'nın fotosentetik veriminde önemli bir değişime neden olmazken 200 mM NaCl uygulaması *P. media* 'nın fotosentez veriminin 7. günde %3.5, 14. gününde %5.5 azalmasına neden olmuştur.

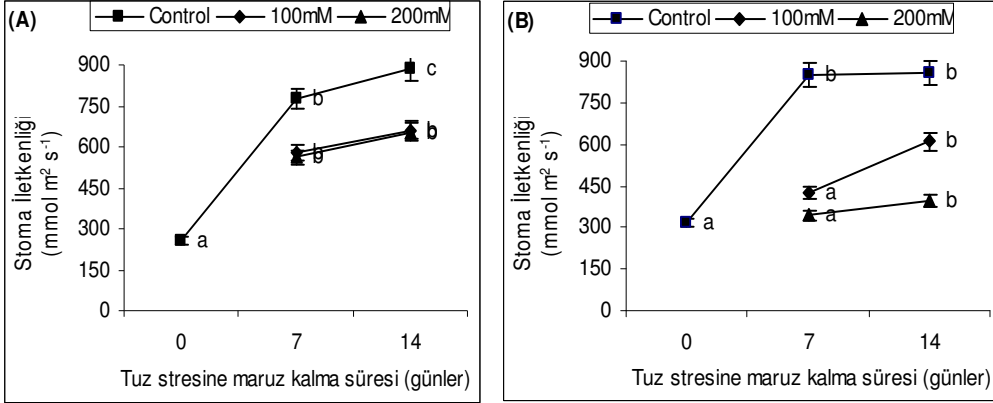


Şekil 3.4: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) fotosentetik veriminde gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir ($P < 0,05$). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hatayı (S.E.) göstermektedir ($n=6$).

3.4 Stoma İletkenliği

Stoma iletkenliği, tuzun uygulama süresine ve tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak her iki türde de azalmıştır (Şekil 3.5). 100 mM NaCl uygulamasının 7. gününde *P. maritima*'nın stoma iletkenliği,

kontrol gruplarına göre %25, *P. media* 'da %50 azalmıştır. 200 mM da ise düşüş, *P. maritima*'da %28, *P. media* 'da %60' dır. Tuz stresi uygulamasının 14. gününde ise stoma iletkenliğindeki azalma yine *P. media* 'da daha fazla olup bu oran kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 100 mM da %28, 200 mM 'da %41 olmuştur.



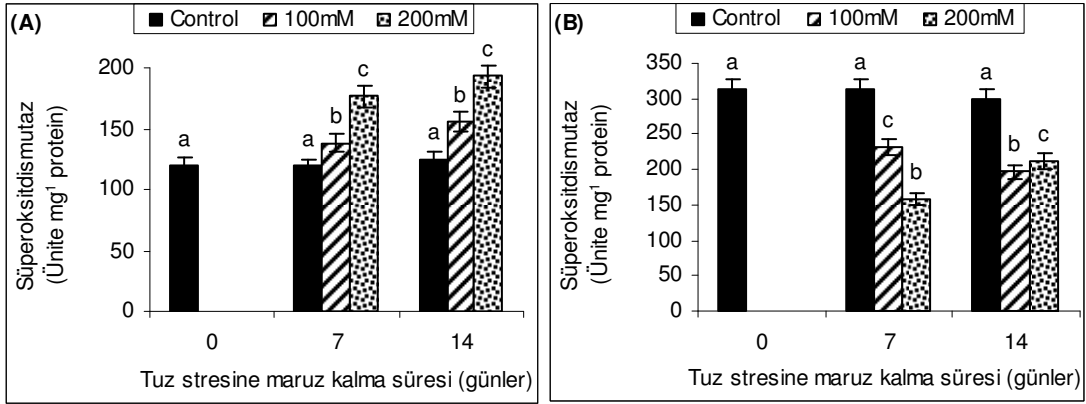
Şekil 3.5: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) stoma iletkenliğinde gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P<0,05). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hatayı (S.E.) göstermektedir (n=6).

3.5 Antioksidant Enzim Aktivite Sonuçları

3.5.1 Süperoksitdismutaz (SOD)Aktivite Sonuçları

Total SOD aktivitesine ilişkin sonuçlar şekil 3.6'da gösterilmiştir. *P. maritima*'nın total SOD aktivitesi tuz stresindeki artışa bağlı olarak artmıştır. 200 mM NaCl stresine maruz bırakılan *P. maritima*'da SOD aktivitesindeki artış %49'a ulaşmıştır. *P. media*'nın SOD aktivitesi ise *P. maritima*'nın

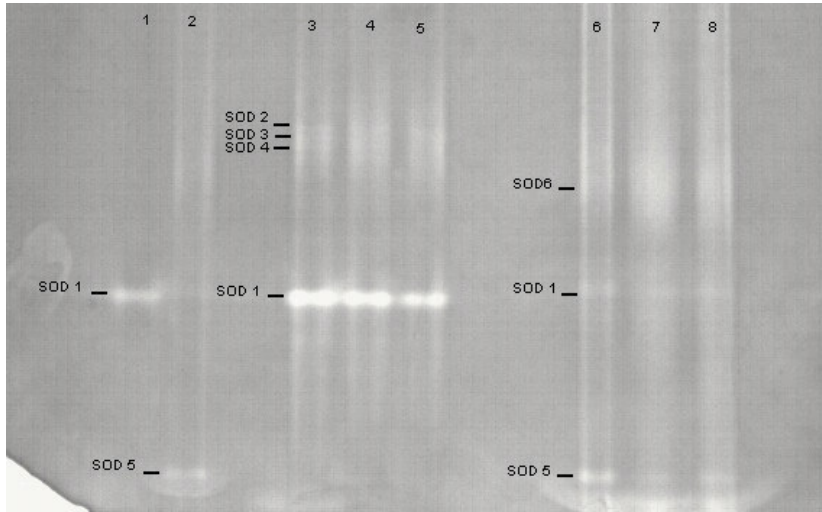
aksine belirgin bir azalma göstermiştir. Bu azalma kontrole göre, 100 mM ve 200 mM NaCl uygulamasının 7. gününde sırasıyla %25 ve %50, 14. günde ise %34 ve %29' dur.



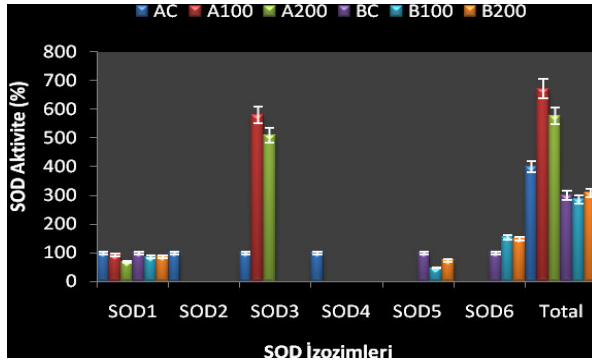
Şekil 3.6: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD aktivitesinde (Ünite mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P<0,05). Sütunlardaki hata çubukları ortalama ± standart hatayı (S.E.) göstermektedir (n=6).

SOD enzimine ait elektroforetik ayırım ile tuz uygulamasının 7. gününde, *P. maritima*'nın yapraklarında 4 (SOD1, SOD2, SOD3 ve SOD4), *P. media* 'nın yapraklarında ise 3 farklı SOD izozimi (SOD1, SOD5 ve SOD6) tanımlanmıştır (Şekil 3.7 ve Şekil 3.9). SOD1 izozimi her iki *Plantago* türünde de tanımlanmış olup tuz stresindeki artışa bağlı olarak azalmıştır (Şekil 3.13). Ancak, SOD1 *P. maritima*'nın yapraklarında *P. media* 'ninkinden daha yoğun olarak gözlenmiştir (Şekil 3.8). *P.*

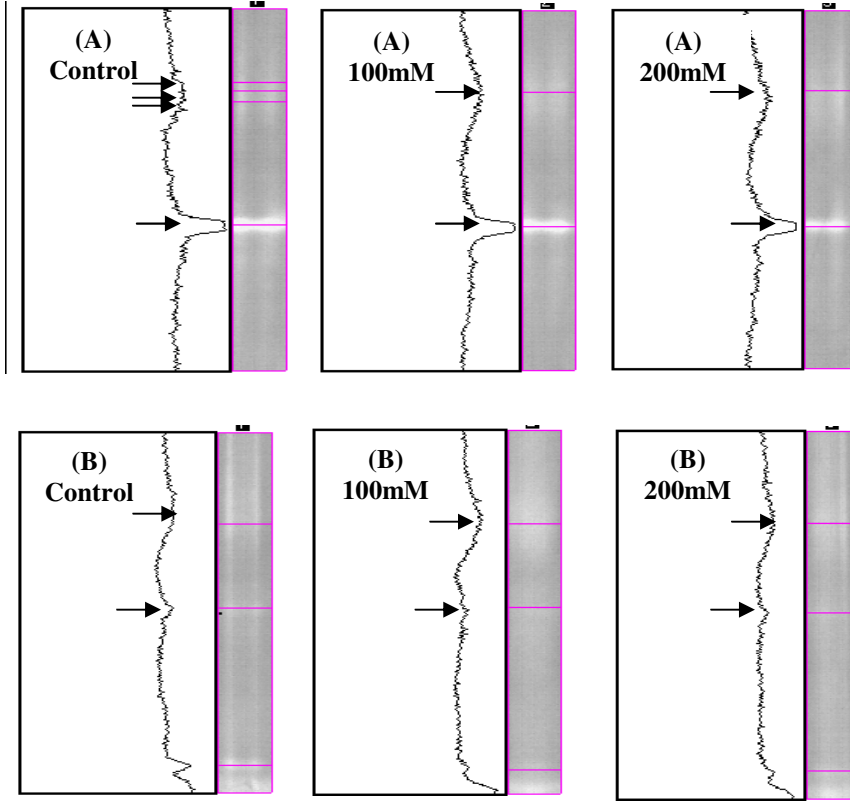
maritima'nın 7 gün süreyle tuz stresine maruz kalması SOD3 izoziminin yoğunluğunun kontrole göre yaklaşık 5 kat artmasına neden olmuştur. *P. media* 'nın yapraklarında ise 7. günde tuz stresindeki artışa bağlı olarak sadece SOD1 izozimi değil SOD 5 izozimi de azalmıştır. SOD6 izozimi ise kontrole göre yaklaşık %50 oranında artmıştır. Ancak SOD6 izozimindeki bu artış *P. media*'nın tuz stresindeki artışa bağlı olarak total SOD aktivitesindeki azalmayı engelleyememiştir. Buna karşın *P. maritima*'nın yapraklarındaki SOD3 izoziminin artışı tuz stresinin 7. gününde total SOD aktivitesindeki artışın nedenini açıklamaktadır.



Şekil 3.7: 7 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri. Jele 20µg'lık protein içeren örnekler pipetlenmiştir. 1: *P.maritima*-Kontrol grup, 2: *P.maritima* – 100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 3: *P.maritima* – 200mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 4: *P.media*-Kontrol grup, 5: *P.media*-100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 6: *P.media*-200mM NaCl'e maruz bırakılmış grup

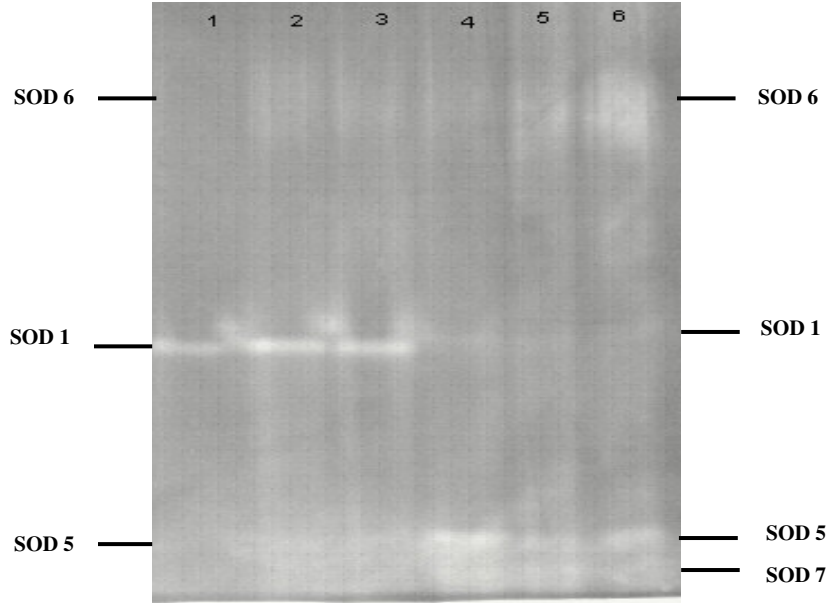


Şekil 3.8: 7 gün süreyle 100 ve 200mM NaCl stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'daki (B) SOD izozimlerinin densimetrik analiz sonuçları. SOD aktivitesi için boyanan jeller Vilber Lourmat görüntüleme cihazı ile fotoğraflandı ve Bio-Profil Bio-1D Windows Application V11.9 yazılımı kullanılarak (Vilber Lourmat, Marne la Vallée, Fransa) analiz edildi. Stres uygulamalarına maruz bırakılmayan kontrol grubundaki SOD aktivitesi %100 olarak alındı ve her grubun kontrol grubuna göre %'si belirtildi. Çizelgedeki değerler 4 farklı jelden alınan sonuçlar \pm standart hatayı göstermektedir.



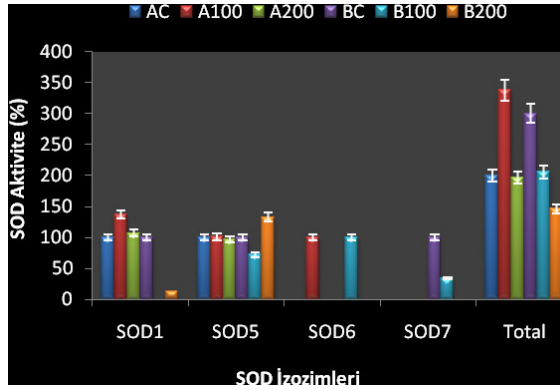
Şekil 3.9: 7 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinin profilleri.

Stres uygulamasının 7. gününde *P. maritima*'da tanımlanmış olan SOD2, SOD3 ve SOD4 izoformları 14. günde gözlenememiştir (Şekil 3.10 ve Şekil 3.12). Fakat SOD5 ve SOD6 olarak adlandırılan iki yeni izozim saptanmıştır. *P. media*'da ise SOD1, SOD5 ve SOD6 izozimlerine ek olarak SOD7 olarak adlandırılmış yeni bir izozim daha tanımlanmıştır (Şekil 3.11).



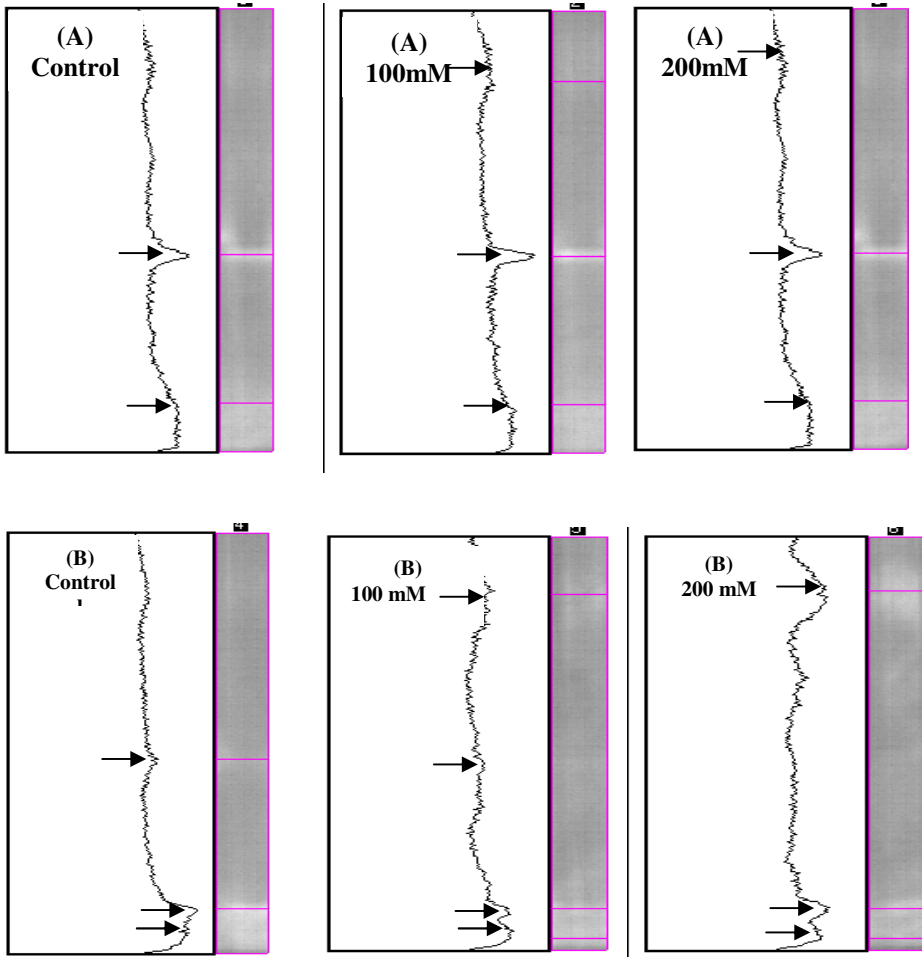
Şekil 3.10: 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri. Jele 20µg'lık protein içeren örnekler pipetlenmiştir. 1: *P.maritima*-Kontrol grup, 2: *P.maritima* – 100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 3: *P.maritima* – 200mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 4: *P.media*-Kontrol grup, 5: *P.media*-100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 6: *P.media*-200mM NaCl'e maruz bırakılmış grup

14 gün boyunca tuz stresine maruz kalmış *P. maritima*'nın SOD1 izoziminin yoğunluğu 7. güne göre azalmıştır (Şekil 3.11). Ancak bu izozimin yoğunluğunun *P. media*'ya göre *P. maritima*'da daha fazla olduğu saptanmıştır. İlgi çekici bir sonuç olarak SOD6 izozimi heriki türde sadece 200 mM NaCl stresine maruz bitkilerde daha belirgindir (Şekil 3.12). SOD5 izoziminin yoğunluğu, kontrole göre 14 gün boyunca tuz stresine maruz kalmış *P. maritima*'da değişmemiştir. Ancak 100 mM NaCl stresi altındaki *P. media*'da %22 oranında azalmış, 200 mM da ise %33 artmıştır. *P. maritima*'da gözlenmeyen SOD7 izozimi *P. media*'da 100 mM NaCl stresiyle %66 oranında azalmıştır. Sonuç olarak *P. media* ve *P. maritima*'da gözlenen SOD izoformlarında elde edilmiş bu değişiklikler yukarıda tanımlanmış spektrofotometrik olarak ölçülen total SOD aktivitesindeki değişiklikleri destekler niteliktedir.



Şekil 3.11: 14 gün süreyle 100 ve 200mM NaCl stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'daki (B) SOD izozimlerinin densitometrik analiz sonuçları. SOD aktivitesi için boyanan jeller Vilber Lourmat görüntüleme cihazı ile fotoğraflandı ve Bio-Profil Bio-1D Windows Application V11.9 yazılımı kullanılarak (Vilber Lourmat, Marne la Vallée, Fransa) analiz edildi. Stres uygulamalarına maruz

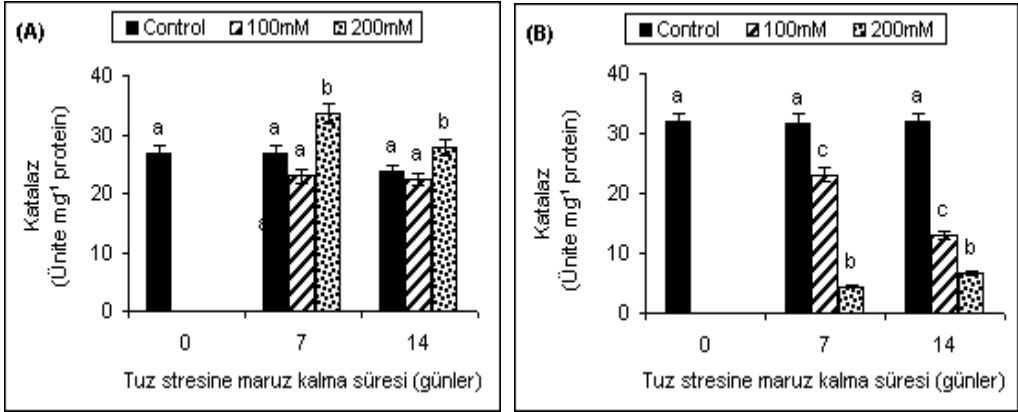
birakılmayan kontrol grubundaki SOD aktivitesi %100 olarak alındı ve her grubun kontrol grubuna göre %'si belirtildi. Çizelgedeki değerler 4 farklı jelden alınan sonuçlar \pm standart hatayı göstermektedir.



Şekil 3.12: 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) SOD izozimlerinin profilleri.

3.5.2 Katalaz (CAT) Aktivite Sonuçları

CAT aktivitesine ait spektrofotometrik sonuçlar Şekil 3.13' de verilmiştir. Deneme boyunca 100 mM NaCl stresi *P. maritima*'nın CAT aktivitesini değiştirmemiştir. Ancak 200 mM NaCl, *P. maritima*'nın CAT aktivitesini 7. günde %25, 14. günde ise %17 arttırmıştır. *P. media*'nın CAT aktivitesi ise deneme süresince tuz konsantrasyonuna ve tuz stresinin uygulama süresindeki artışa bağlı olarak azalmıştır.

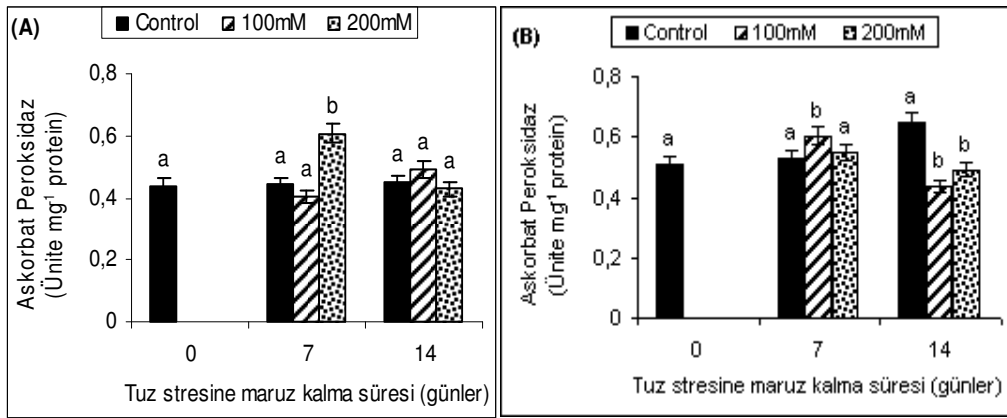


Şekil 3.13. 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) CAT aktivitesinde (Ünite mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P<0,05). Sütunlardaki hata çubukları ortalama ± standart hatayı (S.E.) göstermektedir (n=6).

100 mM NaCl *P. media* 'nın CAT aktivitesini 7. günde %27, 14. günde ise %96 oranında azaltmıştır. Benzer şekilde 200 mM NaCl uygulaması ise 7. günde CAT aktivitesini %86, 14. günde ise %78 oranında azaltmıştır.

3.5.3 Askorbat Peroksidaz Aktivite (APX) Sonuçları

APX aktivitesine ait spektrofotometrik sonuçlar Şekil 3.14'de verilmiştir. 100 mM NaCl, *P. maritima* yapraklarındaki APX aktivitesini etkilememiştir. Ancak *P. media* 'nın APX aktivitesi aynı tuz konsantrasyonunda 7. günde %14 oranında artmış 14. günde %33 azalmıştır. 200mM NaCl ise 7. günde *P. maritima*'nın APX aktivitesini kontrol grubuna göre %37 oranında arttırırken *P. media* 'nın aktivitesini değiştirmemiştir.

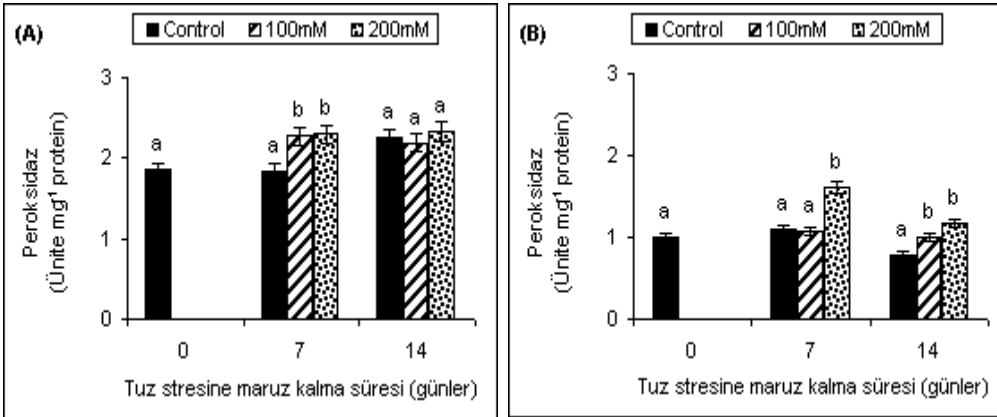


Şekil 3.14: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) APX aktivitesinde (Ünite mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P<0,05). Sütunlardaki hata çubukları ortalama ± standart hatayı (S.E.) göstermektedir (n=6).

Tuz stresi, *P. maritima*'nın aktivitesinde olumsuz bir değişime neden olmazken *P. media*'nın aktivitesi 14. günde her iki tuz konsantrasyonunda da yaklaşık %34 oranında azalmıştır.

3.5.4 Peroksidaz (POX)Aktivite Sonuçları

POX aktivitesine ait spektrofotometrik sonuçlar Şekil 3.15’de verilmiştir. *P. maritima* ve *P. media* ’nın normal koşullar altında büyüyen kontrol gruplarının POX aktiviteleri karşılaştırıldığında *P. maritima*’nın temel POX aktivitesinin *P. media* ’dan yaklaşık 1.7 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. 7 gün boyunca hem 100 hem de 200 mM NaCl stresine maruz kalan *P. maritima*’nın POX aktivitesinde %25 artış gözlenmiştir. Buna karşılık *P. media* ’nın POX aktivitesi sadece 200 mM NaCl’de %46 artmıştır. Bunun aksine 100 mM NaCl stresinin *P. media*’nın POX aktivitesi üzerine olumsuz bir etkisi saptanmamıştır. Stres uygulamasının 14. gününde ise *P. maritima*’nın POX aktivitesi kontrol grubuna göre değişmemiştir. Ancak *P. media* ’nın POX aktivitesi tuz stresi artışına bağlı olarak sırasıyla %28 ve %50 oranında artmıştır.

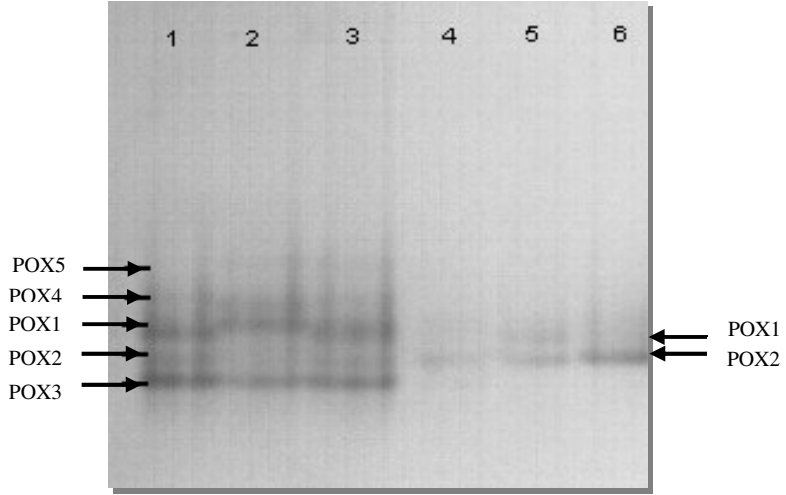


Şekil 3.15: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*’nın (B) POX aktivitesinde (Ünite mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri

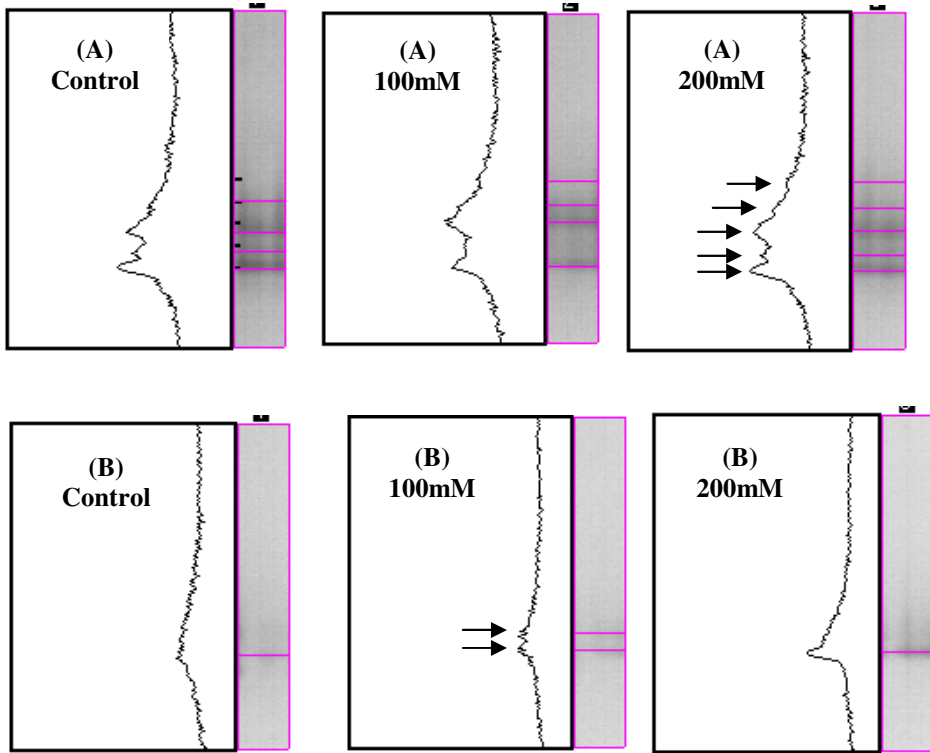
göstermektedir ($P < 0,05$). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hatayı (S.E.) göstermektedir ($n=6$).

POX izozimlerinin elektroforetik ayrımı ve izozimlerin profilleri Şekil 3.16 ve Şekil 3.17'da gösterilmiştir. Elektroforetik ayırım sonucu *P. maritima*'da beş, *P. media* 'da ise sadece iki farklı POX izozimi tanımlanmıştır.

POX1 ve POX2 izozimleri heriki türde de tanımlanmıştır. Fakat POX3, 4 ve 5 izozimleri sadece *P. maritima*'da gözlenmiştir. Stres uygulamasının 7. gününde heriki türün kontrol ve stres grupları karşılaştırıldığında *P. maritima*'daki POX1 ve POX2 izozimlerinin yoğunluklarının *P. media* 'ninkinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. 7 gün tuz stresine maruz kalan *P. maritima*'nın POX izozimlerinin yoğunlukları tuz stresindeki artışa bağlı olarak artmıştır. Tuz uygulamasının 7. günündeki bu sonuçlar *P. maritima*'daki total POX aktivitesindeki artışın nedenini açıklamaktadır. Buna ek olarak tuz stresi uygulamasının 7. gününde *P. media* yapraklarındaki POX1 ve POX2 izozimlerinin yoğunluklarının tuz stresindeki artışa bağlı olarak arttığı saptanmıştır (Şekil 3.16).

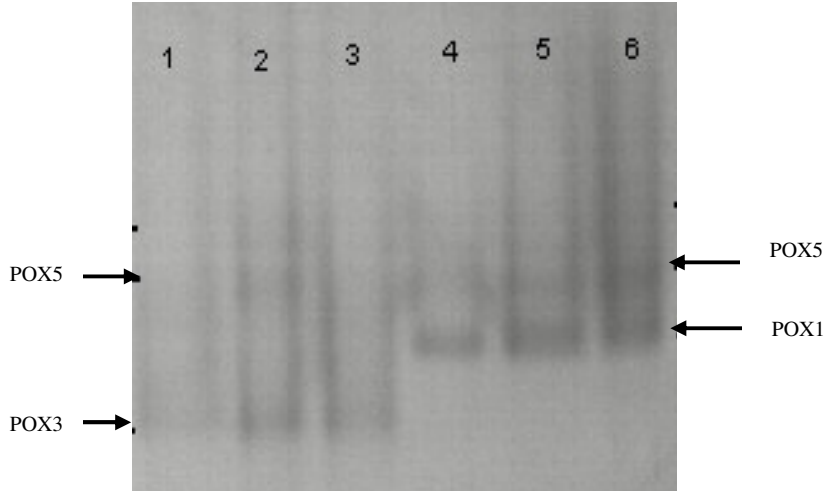


Şekil 3.16: 7 gün süresince 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri. Jele 20µg'lık protein içeren örnekler pipetlenmiştir.1: *P.maritima*-Kontrol grup, 2: *P.maritima* – 100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 3: *P.maritima* – 200mM NaCl'ye maruz bırakılmış grup, 4: *P.media*-Kontrol grup, 5: *P.media*-100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 6. *P.media*-200mM NaCl'ye maruz bırakılmış grup

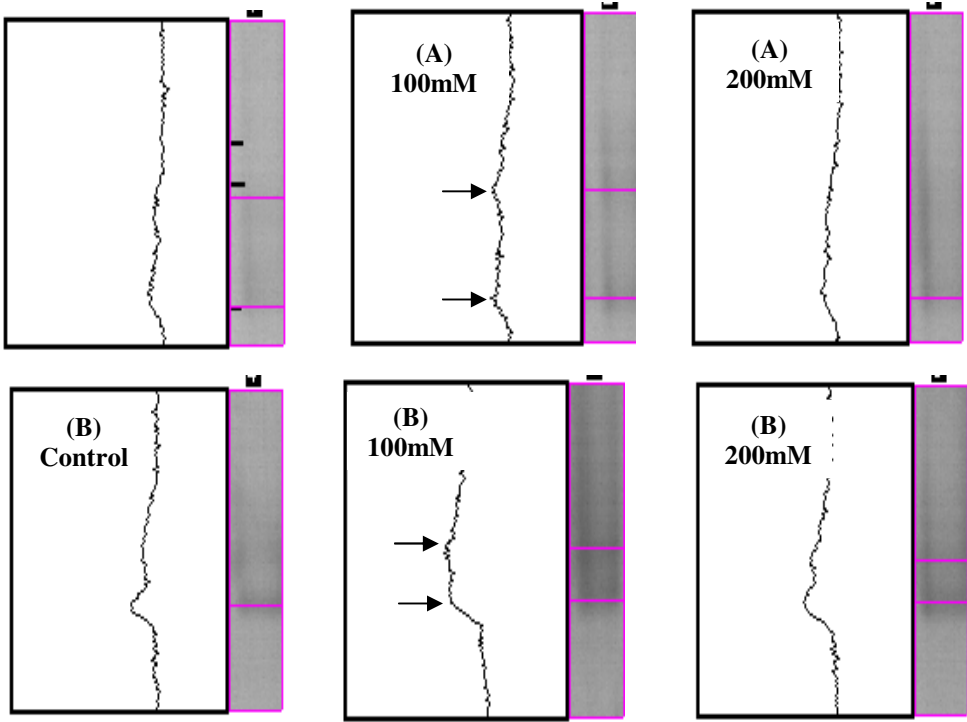


Şekil 3.17: 7 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozim profilleri.

Stresin 14. gününde her iki *Plantago* türünde toplam 3 farklı izoenzim (POX1, POX5 ve POX3) tanımlanmıştır. Bu izozimlerden POX5, her iki türde de ortaktır. POX3 izoenzimi sadece *P. maritima*'da, POX5 izoenzimi ise sadece *P. media*'da tanımlanmıştır (Şekil 3.18 ve 3.19). Tüm izozimlerin yoğunluğu her iki türde de tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak artmıştır. Ancak tuz uygulamasının 7. gününde gözlenen POX2 ve POX4 izozimlerine tuz uygulamasının 14. gününde rastlanmamıştır.



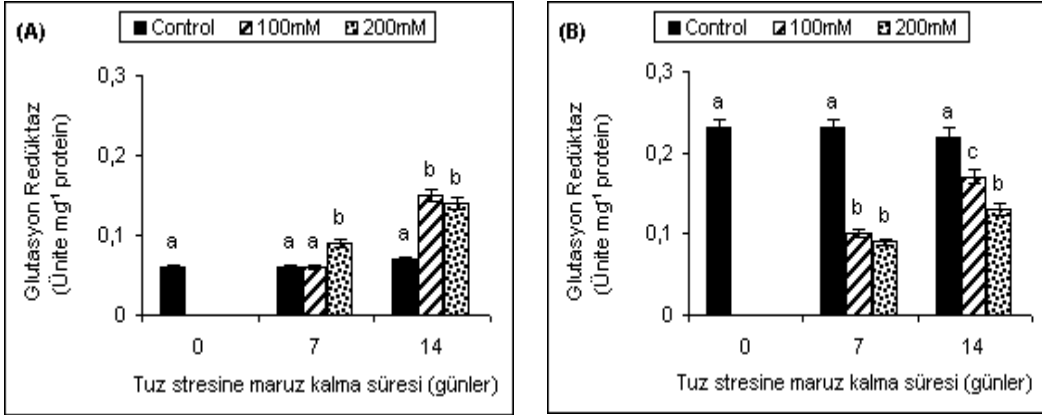
Şekil 3.18: 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozimlerinde meydana gelen aktivite değişimleri. Jele 20µg'lık protein içeren örnekler pipetlenmiştir. 1: *P.maritima*-Kontrol grup, 2: *P.maritima* – 100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 3: *P.maritima* – 200mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 4: *P.media*-Kontrol grup, 5: *P.media*-100mM NaCl'e maruz bırakılmış grup, 6. *P.media*-200mM NaCl'e maruz bırakılmış grup



Şekil 3.19: 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) POX izozimlerinin profilleri.

3.5.5 Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivite Sonuçları

GR aktivitesine ait spektrofotometrik sonuçlar Şekil 3.20'de verilmiştir. *P. maritima* ve *P. media* 'nın normal koşullar altında büyüyen kontrol gruplarının GR aktiviteleri karşılaştırıldığında *P. media* 'nın temel GR aktivitesinin *P. maritima*'dan yaklaşık 3.8 kat daha fazla olduğu tesbit edilmiştir.



Şekil 3.20: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) GR aktivitesinde (Ünite mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P<0,05). Sütunlardaki hata çubukları ortalama ± standart hatayı (S.E.) göstermektedir (n=6).

7 gün boyunca uygulanan 100 mM NaCl *P. maritima*'nın GR aktivitesini değiştirmemiştir. Fakat *P. media* 'nın GR aktivitesini %50 azaltmıştır. 200 mM NaCl ise *P. maritima*'da aktivitesi %50 oranında artırırken *P. media* 'da aynı oranda azaltmıştır.

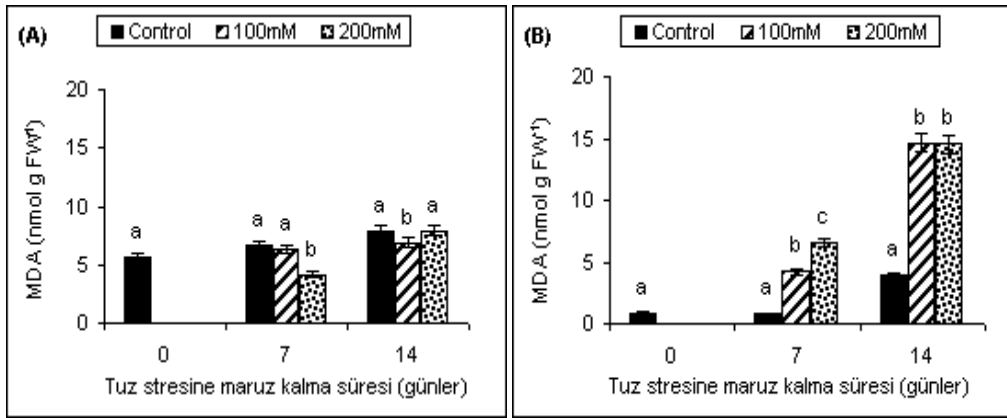
Stres uygulamasının 14. gününde her iki tuz konsantrasyonu, *P. maritima*'nın GR aktivitesini kontrol grubuna göre 2 kat arttırmakla birlikte *P. media* 'nın GR aktivitesi 100 mM'da %23, 200 mM'da ise %41 azalmıştır.

3.6 Lipit Peroksidasyonu

Lipit membranların peroksidasyon düzeyi malondialdehit (MDA) içeriğine bakılarak tesbit edilmiştir ve şekil 3.21' de gösterilmiştir. 7 gün

boyunca 100 mM tuz stresi altındaki *P. maritima*'nın lipid peroksidasyon düzeyinde herhangi bir değişim gözlenmezken *P. media* 'da oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA seviyesi 5 kat artmıştır. 200 mM NaCl ise *P. media* 'nın lipid peroksidasyon seviyesini kontrol grubuna göre 8.5 kat artmıştır. Buna karşılık 200 mM tuz stresi 7 günde *P. maritima*'nın lipid peroksidasyon artışını engelleyerek kontrol grubundan bile daha düşük bir seviyede tutmuştur.

100 ve 200 mM tuz stresi uygulamasının 14.gününde *P. media* 'nın MDA seviyesi kontrol grubuna göre 3.71 kat artmıştır. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında *P. maritima*'nın lipid peroksidasyon seviyesinde herhangi bir değişim saptanmamıştır.



Şekil 3.21: 7 ve 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz stresine maruz bırakılan *Plantago maritima* (A) ve *Plantago media*'nın (B) malondialdehit miktarında (nmol g⁻¹ YA) meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P<0,05). Sütunlardaki hata çubukları ortalama ± standart hatayı (S.E.) göstermektedir (n=6).

4. TARTIŞMA

Halofitlerin büyük çoğunluğunun büyümesi genellikle tuz stresindeki artışla (50-250 mM NaCl) artar (Flowers et al., 1986; Khan et al., 2000). Buna karşın 100 mM NaCl, bizim çalışmamızda *P. maritima*'nın gövde büyümesini (gövde uzunluk, yaş ağırlık ve kuru ağırlık) tuz uygulamasının 7. gününde arttırıcı bir etki yapmamıştır. Hatta 200 mM NaCl, hem 7. hem 14. günlerde, *P. maritima*'nın gövde uzunluğunda azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar tuz stresinin *P. maritima* ve *Plantago crassifolia*'nın gövde büyümelerinde azalmaya neden olduğunu bulan Flanagan ve Jefferies (1988) ve Vicente et al. (2004)'ın sonuçlarıyla uyumludur. Ayrıca yine bizim bulgularımıza paralel olarak Flanagan ve Jefferies (1988) *P. maritima*'nın gövde büyümesinin tuz stresi altında azalmasına karşın 200 mM NaCl'lik bir ortam tuzluluğunda bu bitkinin yaşam döngüsünü tamamlayabildiğini rapor etmişlerdir.

Diğer yandan *P. media*'nın büyümesi ortam tuzluluğundan *P. maritima*'ya göre, daha olumsuz etkilenmiştir. Benzer şekilde Hernandez et al. (1999) ve Bandoğlu et al. (2004), tuz stresi altında tuza toleranslı türlere göre tuza-duyarlı bezelye ve mercimek bitkilerinin büyümesinin, daha çok azaldığını bulmuşlardır.

Gövde uzunluğu üzerine elde edilen sonuçlara paralel olarak; tuz uygulamasının 7. gününde 100 mM NaCl *P. maritima*'nın yaş ve kuru ağırlığını etkilemezken 200 mM NaCl'nin azaltması, Flanagan ve Jefferies (1988)'in bulgularıyla uygunluk göstermektedir. Benzer şekilde, Vicente et al. (2004) 100 mM NaCl'nin *Plantago crassifolia*'nın yaş ve kuru ağırlığında herhangi bir değişime neden olmadığını gözlemlemişlerdir. Diğer yandan,

deneme süresince tuz stresi, *P. media*'nın gövde yaş ve kuru ağırlığında azalmaya yol açmıştır. Hernandez et al.'(1999)'da tuz stresinin tuza duyarlı bezelye bitkilerinin kuru ve yaş ağırlığında azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır.

Tuz stresi, tuza-duyarlı *P. media*'da yalnızca gövde büyümesinde değil yaprak yüzey alanında da azalmaya neden olmuştur (Şekil 1). Bu sonuç, Munns ve Termaat (2008) tarafından da ileri sürüldüğü gibi, kök çevresindeki tuzun yarattığı ozmotik etkiye bağlanabilir. Stres altında yaprak büyümesini ya da gövde gelişimini azaltan mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Ancak yaprak büyümesindeki azalma, hormonlar ya da onların habercisi olan uzun mesafe sinyalleriyle düzenlenmektedir (Munns ve Termaat, 2008). Çünkü yaprak büyüme oranının azalması, karbonhidrat temininden (Munns et al., 2000) yada hücre içindeki su durumundan (Fricke and Peters, 2002; Munns et al., 2000) bağımsız bir olaydır.

Tuz stresi *P. maritima* ve *P. media* kök büyümesini de (uzunluk, yaş ağırlık, kuru ağırlık) olumsuz etkilemiştir. Diğer çalışmalarda da bezelye'de, guava'da (*Psidium guajava* L.) ve yeşil biberde tuz stresinin etkisiyle kök büyümesinin engellendiği rapor edilmiştir (Hernandez et al. 1995; Ali Dinar et al., 1999; Chartzoulakis and Klapaki, 2000). Tuz stresinin kısa süreli etkisi, *Plantago* türlerinin köklerinden çok gövdelerinde görülmüştür. Bu etkinin NaCl'nin iyonik etkisinden çok, ozmotik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tür bir etki pek çok araştırmacı tarafından *Hordeum vulgare* (arpa) ve *Cynodon* çimeni gibi bitkilerde de gösterilmiştir (Greenway and Munns, 1980; Delane et al., 1982; Dudeck et al., 1983). Ayrıca bu yöndeki bulgularımız, kök büyümesinin tuz stresinden gövde büyümesine

göre daha az etkilendiğini gözlemleyen Munns ve Tester (2008)'in sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir.

Genel olarak uzun süreli stres koşullarında her iki *Plantago* türünün kök ve gövde uzunluklarında azalma saptanmıştır. *P. maritima* bu yönden daha az etkilenmiştir. Dolayısıyla doğal yaşama ortamının *P. maritima*'ya kazandırdığı özelliklerin tuz stresine direnme kapasitesini de arttırdığı söylenebilir.

Tuz ve kuraklık stresine gösterilen tepkilerden bir diğeri yaprak su içeriğinde meydana gelen azalmadır. Bu, 'su potansiyelindeki azalma' olarak ifade edilmektedir. Çalışmamızda *P. maritima*'nın yaprak bağıl su içeriği (RWC), tuz stresinden pek fazla etkilenmemiştir. Fakat *P. media*'nın yaprak bağıl su içeriği, stres süresi ve konsantrasyonundaki artışla ters orantılı olarak azalmıştır. Bu durum, tuz stresi sırasında hücre içindeki kimyasal aktivitenin azalmasının önce hücre turgorunda, sonra da büyümede azalmaya neden olduğunu bulan Serrano et al. (1999)'un çalışması ile açıklanabilir. Bu yöndeki bulgularımız aynı zamanda tuz stresi altında *P. media*'nın büyümesinde kaydedilen azalmayı da açıklamaktadır. Bitkiler su potansiyelindeki düşme ve buna neden olan streslere karşı su alınımları ve kaybını değiştirerek direnç gösterirler. Düşük su potansiyelinden kaçınmak için bitkiler suda çözünebilen çeşitli bileşikleri biriktirirler (Verslues, 2006). Çalışmamızda *P. maritima* tuz stresi altında yaprak su içeriğini, sitoplazmada suyun yerine kolayca geçebilen sorbitol, mannitol, prolin gibi ozmolitleri sentezleyerek korumuş olabilir. Nitekim bu görüşe uygun olarak Ahmad et al. (1979), Jefferies et al. (1979), Nadwodnik and Lohaus (2008) *P. maritima*'nın artan tuz konsantrasyonuna (0-400 mM NaCl) karşı uyumlu bileşiklerden biri olan sorbitol sentezini arttırdığını gözlemişlerdir. Ayrıca tuz

stresi koşullarında yalnız *Plantago* türlerinin değil bazı bitkilerinde sorbitol sentezini arttırdıkları bulunmuştur (Lambers et al., 1981; Königshofer, 1983).

Çalışmamızda, tuzluluğun PSII aygıtı üzerindeki etkisini aydınlatmak için Fv/Fm olarak ifade edilen klorofil floresans değeri ölçülmüştür. Tuz stresi *P. maritima*'da klorofil floresansını etkilemezken, *P. media* da azalmaya neden olmuştur. Bu azalma tuz stresi altında *P. media*'nın PSII aygıtında ciddi bir hasarı işaret etmektedir. Tuza duyarlı bitkiler olan alfalfa (Khavarinejad and Charparzadeh, 1998) ve kanola (Qasim et al., 2003)'nın fotosentez veriminin stres altında azaldığı saptamıştır.

Tuzluluğun bitkinin tümü üzerindeki etkisinin anlaşılmasındaki en büyük ölçütlerden biri stoma açıklığıdır. Kökün çevresindeki tuzluluğun yarattığı ozmotik etkiye bağlı olarak stomanın tepkileri artar. Tuzluluk, stoma iletkenliğini 1) su ilişkilerinin bozulması 2) ABA'nın lokal olarak sentezlenmesi nedeniyle hemen etkiler (Munns and Tester, 2008). Dolayısıyla tuz stresinin fotosentezi sınırlamasının 2 büyük nedeni vardır. Bunlardan ilki, stoma iletkenliğindeki azalma diğeri ise fotosentez için yaprağın biyokimyasal kapasitesinin azalmasıdır (Flanagan and Jefferies, 1988; Steduto et al., 2000; Meloni et al., 2003). Bu görüşleri destekler nitelikte çalışmamızda *P. media*'nın tuz stresi altında yalnızca fotosentez verimliliğini değil stoma iletkenliğinin de azaldığını saptadık. Sonuç olarak, *P. media*'nın fotosentez veriminde gözlenen düşüş, PSII etkinliği ve stoma iletkenliği aracılığıyla dışarıdan alınan CO₂ miktarındaki azalmayla ilişkilendirilebilir (Seeman and Critchley 1985).

Şekil 2.2'den de görülebileceği gibi *P. media*'nın yaprak alanında, tuz stresine bağlı olarak azalma meydana gelmiştir. Kuraklık ve tuz stresi

altındaki yaprak alanındaki bu azalma, ozmotik stres altındaki birçok bitkide su kaybını azaltan koruyucu bir mekanizma olarak tanımlanmaktadır (Blum, 1986; Save et al.,1994; Ruiz-Sanchez et al., 2000). Tuzluluğa bağlı olarak total yaprak alanındaki azalma, yaprak turgorundaki düşüşe bağlanabilir. Bu durum, hücre duvar özellikleri ve ya fotosentezdeki düşüş hızıyla değişmektedir (Franco et al., 1997). Çalışmamızda *P. media*'nın fotosentez veriminin azalma nedenlerinden bir diğeri yaprak alanının ve buna bağlı birim alana düşen kloroplast sayısındaki azalma olabilir. Bu tür ilişki, Munns ve Tester (2008)'in çalışma sonuçlarında da rapor edilmiştir. Diğer yandan, tuz stresi *P. maritima*'nın klorofil floresans değerini etkilemezken stoma iletkenliğinde azalmaya neden olmuştur. Bu bulgular, halofitlerin yüksek tuzluluk koşullarında stoma iletkenliklerinin azaldığını gözlemleyen Farquar et al. (1982) ve Guy and Reid (1986)'in sonuçlarını desteklemektedir. Tuz stresine bağlı olarak *P. maritima*'da klorofil floresansının değişmemesi de Sharma ve Hall (1991)'in arpa ve sorghumda elde ettikleri sonuçlara benzerlik göstermektedir. *P. media*'nın aksine, tuz stresi altında *P. maritima*'nın yapraklarında herhangi bir semptomun görülmemesi ise, Leigh and Storey (1993) ve Rodriguez et al. (2005)'un arpa ve *Asteriscus maritimus* üzerine elde ettikleri bulgularla benzerlik göstermektedir. Sözü edilen çalışmalarda, bu durum, tuza-dirençli bitkilerde tuzun hücre içindeki etkili bir şekilde bölmelendirilmesiyle açıklanmaktadır.

Tuz stresinin neden olduğu hücrenin herhangi bir organelindeki ROS (reaktif oksijen türleri)'ların üretimi ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması hücrenin zarar görmesine neden olan oksidatif stresle sonuçlanır (Mittler, 2002; Scandalios, 2002; Ashraf, 2008). Bitki türlerinin ya da bir bitki türüne ait kültürvarların tuzluluğa duyarlılık ya da

dirençlerinin bu bitkilerin antioksidan yanıtlarıyla yakından ilişkili olduğu ortaya konmuştur. SOD, CAT, POX, APX ve GR gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri ile bazı metabolitlerin tuz stresi koşullarında arttığı (Hernandez et al., 1993, 1995) ve duyarlılara göre dirençli türlerde daha yüksek aktivite rapor edilmiştir (Shalata et al., 2001; Bor et al., 2003; Vaidyanathan et al., 2003; Demiral et al., 2004, 2005; Yazıcı et al., 2007; Sairam et al., 2005; Neto et al., 2006; Khan and Panda, 2008). Antioksidan savunma sisteminin bileşenleri çeşitli hücrel bölmelerde bulunabilir (Jimenez et al., 1997).

Süperoksit dismutaz, ilk olarak McCord and Fridovich (1969) tarafından keşfedilmiştir. Bu enzim ROS'lara karşı hücrel savunma mekanizmalarında anahtar bir rol oynar. SOD, süperoksit radikallerinin, moleküler oksijene ve hidrojen peroksite parçalanmasını katalize eder (Scandalios, 1993). Çalışmamızda SOD aktivitesi, tuz stresinin uygulama süresine ve konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak *P. maritima*'da artmış, *P. media*'da ise azalmıştır. Bu bulgular, tuza toleranslı genotipin süperoksit radikallerini süpürme yeteneklerinin daha fazla olduğunu göstermektedir. Benzer sonuçlar tuza toleranslı bezelye, yabancı pancar, mısır ve domateste de elde edilmiştir (Hernandez et al., 2000; Bor et al., 2003; Azevedo Neto et al., 2005; Koca et al., 2006).

Tuz stresi altındaki *P. maritima*'nın yapraklarındaki SOD aktivitesindeki belirgin artış, spesifik izoenzimlerin geçici olarak düzenlenmesiyle ve yeni izozimlerin oluşumundaki artışla ilişkilendirilmiştir. Enzimlerin çoklu izoformlarının kullanımı, bitkilerde hücrel metabolizmanın ilk denetleme noktalarından biridir (Sen-Dupty et al., 1993; Alscher et al., 2002). Ökaryotik hücrelerde 3 temel SOD izoformu bulunur. Bu izoformlardan Mn-SOD mitokondri ve peroksizomlarda; Cu/Zn-SOD

kloroplast, sitoplazma ve hücre dışı boşluklarda; Fe-SOD izozimi ise plastidlerde yerleşmiştir. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde özellikle Mn- ve Cu/Zn SOD aktivitelerinin ve hidrojen peroksit seviyelerinin arttığı görülmüştür. Cu/Zn- ve Mn-SOD hemen hemen bütün bitkilerde bulunurken Fe-SOD için bu söylenemez (Bowler et al., 1991; Foyer and Mullineaux 1994). Fe-SOD izoziminin düzeyindeki artış, her zaman oksidatif bir stres uygulamasının bir sonucu olmayabilir. Dolayısıyla stres uygulamasından sonra enzim aktivitesi ve Fe-SOD arasında ilişki olmayabilir (Ertürk et al., 2002). Ancak stroma zarıyla ilişkili olması bu bölgede oluşan süperoksit radikallerinin süpürülmesine olanak sağlamaktadır. Donahue et al. (1997) bezelye yapraklarında oksidatif strese yanıt olarak Cu/Zn SOD aktivitesinde herhangi bir artış gözlememiş, ancak oksidatif strese direnç ile yüksek mRNA seviyesi arasında bir ilişki elde etmiştir. Diğer yandan Perez-Lopez ve ark. (2009) tuza dirençli arpa kültürünün tuz stresine karşı total SOD aktivitesinin arttığını ve bu artışın nedeninin Cu/Zn-SOD1 aktivitesindeki artış olduğunu bulmuştur. Yüksek yapılı bitkilerin peroksizom ve mitokondri gibi organellerindeki Mn-SOD 'un yüksek düzeydeki ekspresyonu oksidatif stres ile ilişkilendirilmektedir (Gomez et al. 1999). Badawi et al. (2004) transgenik tütün bitkilerinin kloroplastlarındaki Cu/Zn-SOD'un; tuz, kuraklık streslerine karşı fotosentetik performansı koruduğunu bulmuştur. Ayrıca aynı çalışmada, Cu/Zn-SOD, oksidatif strese karşı bitki korunmasında reaktif oksijen türlerinin ilk süpürücüsü olarak kabul edilmiştir. Cu/Zn SOD'lar, süperoksit radikallerini süpürerek fotosentez hızını arttırıp oksidatif stresi azaltmayı bilmektedirler. Benzer şekilde, paraquat (Perl et al., 1993) ve ozon (Camp et al. 1994) gibi çevresel stresler tarafından üretilen ROS'lara karşı gösterilen tolerans, SOD'un yüksek ekspresyonuyla ilişkilendirilmiştir. Yu ve Rengel (1999), 100 mM tuz stresine maruz bırakılan lüpen bitkisinde SOD

aktivitesinin değişmediğini, ancak Cu/Zn-SOD aktivitesinde artış olduğunu rapor etmiştir. Uzun ve kısa süreli tuz stresi, farklı bitki türlerine bağlı olarak toplam SOD ve izoenzimlerinin aktivitelerini değiştirebilir. Örneğin bezelye 70mM NaCl stresine maruz kaldığında SOD aktivitesinde herhangi bir değişiklik görülmezken 110-160 mM NaCl hem total hem de Cu/Zn SOD aktivitesini arttırmıştır (Hernandez et.al., 1999). Gapinska et al. (2008) hem uzun hem de kısa süreli tuz stresi altında domates bitkisinde toplam SOD ve Cu/Zn-SOD aktivitesinin artışını rapor etmiştir.

Çalışmamızda tuz uygulamasının 7. ve 14. gününde iki farklı türde farklı izoenzimler tanımlanmıştır. Örneğin SOD1 izozimi, tuz stresinin 7. gününde her iki *Plantago* türünde ortaktır. SOD2, 3 ve 4 izozimleri yalnız *P. maritima*, SOD5 ve SOD6 izozimleri ise yalnız *P. media*'da gözlenmiştir. Tuz stresinin 14. gününde ise 7. gündeki bazı izoenzimler (SOD2, 3, 4 gibi) tanımlanamamıştır. Ayrıca tuz stresinin hem 7. hem 14. gününde *P. maritima*'da SOD1 izoziminin yoğunluğunun, *P. media*'ninkinden her zaman daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, SOD izozimleri üzerinde inhibitör çalışması yapılmadığından izozimlerin tipleri belirlenmemiştir. Ancak yukarıda verilen literatürler ışığında; tuz stresinin *P. media*'nın fotosentez verimi üzerindeki olumsuz etkisi, tuz stresiyile aktiviteleri azalan SOD1, SOD2, SOD4, ve SOD5 izozimlerinin Cu/Zn-SOD olabileceğini düşündürmektedir.

Tuz uygulamasının;

1) 7. gününde *P. media*'nın yapraklarındaki SOD5 ve SOD6 izozimlerinin tuz stresindeki artışa bağlı olarak azalması

2) 14. günde 100 mM NaCl stresinde heriki türde de yeni bir izozimin ortaya çıkması (SOD6)

3) SOD 7 izoziminin 7 gün süresince tuz stresine maruz kalan *P. media*'da gözlenmezken 14. günde belirmiş olması *Plantago*'da SOD izoformlarının aktivitelerinin tuz stresinin uygulama süresinden etkilendiğini göstermektedir. Bu veriler, daha önce *Phaseolus vulgaris*, *Oryza sativa* ve buğday gibi bitkilerde de SOD izoformlarındaki tuz stresine bağlı değişimlerin rapor edildiği çalışmaları da desteklemektedir (Fadzilla et al., 1997; Tejera et al., 2004; Sairam et al., 2005).

Bitkiler, SOD aktivitesi ya da fotorespirasyonla oluşan H_2O_2 'yi su ve oksijene dönüştürerek zararsız hale getiren iki büyük enzimatik yola sahiptir. Bu yollardan birini katalaz (CAT), diğerini ise askorbat peroksidaz (APX) enzimi yürütmektedir. Katalaz ve askorbat peroksidaz, aktif oksijen türlerine karşı geliştirilmiş ikinci savunma bariyerleridir. Katalazın ROS'ları etkisiz hale getirmesinin yanısıra SAR (sistemik olarak kazanılmış direnç) gibi hidrojen peroksidin sinyal olarak kullanıldığı sinyal iletim yolunda da rol aldığı bilinmektedir. (Jones, 1994; Willekens et al., 1997). Çalışmamızda 100 mM NaCl, deneme süresince tuza dirençli *P. maritima*'da CAT ve APOX aktivitesini etkilemezken 200 mM NaCl, CAT'ın aktivitesini hem 7. hem de 14. günde, APX aktivitesini ise yalnızca 7. günde arttırmıştır. Buna karşılık *P. media*'nın yapraklarındaki CAT aktivitesi, tuz stresinin uygulama süre ve konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalmıştır. APX aktivitesi ise 7. günde 200 mM NaCl stresiyle azalmış, ancak 14. günde kontrol grubuna göre farklılık göstermemiştir. Dolayısıyla tuz stresinin 7. gününde her iki enzimin

aktivitesinin birlikte artması, *P. maritima*'da hidrojen peroksit detoksifikasyonunda CAT ve APX enzimlerinin eşit ölçüde önemli olduğunu göstermektedir. Benzer sonuçlar, tuza toleranslı domates (Shalat and Tal, 1998), şeker pancarı (Bor et al., 2003), çeltik (Demiral and Türkan, 2005) bezelye (Hernandez et al., 2000) ve arpada (Perez ve Lopez, 2009) da elde edilmiştir. Tuz stresi uygulama süresinin artmasıyla (14. gün) *P. maritima*'da APX aktivitesinin değişmezken CAT aktivitesinin artması, hidrojen peroksit süpürücülüğündeki bu ortaklığı bozmuştur. Dolayısıyla CAT enzimi, tuz uygulamasının 14. gününde hidrojen peroksitin süpürülmesinde daha etkili olmuştur. Diğer yandan tuza duyarlı *P. media*'da tuz stresine bağlı CAT aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Bu bulgular, Lee et al. (2001)'nin çeltik, Parida et al.(2004)'ün mangrov ve Amor et al. (2006)'ün *Cakile maritima* üzerinde yaptıkları çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Tuz stresi altında *P. media*'da CAT ve APX aktivitesinin düşmesi, hücre içinde hidrojen peroksit miktarında artışa neden olur. Hücre içinde yüksek miktardaki hidrojen peroksitin yüksek miktarı hidroksil radikali gibi ölümcül reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olur (Dat et al., 2000). Oksidatif hasarın bir belirteci olan lipid peroksidasyonunun *P. media*'da fazla oluşu hücre içindeki hidrojen peroksit miktarının toksik düzeye ulaştığını göstermektedir.

Peroksidazlar, bitkilerde sadece H₂O₂ radikallerinin süpürülmesinde değil büyüme, gelişme, lignin ve suberin oluşumu gibi yollarda da rol oynarlar (Dionisio-Sese and Tobita, 1998). Stres altındaki tuza toleranslı bitkilerin POX enziminin aktivitesini arttırdıkları bilinmektedir (Bor et al. 2003; Meloni et al. 2003). Benzer şekilde çalışmamızda *P. maritima*'da da POX aktivitesi tuz uygulamasının 7. gününde artmıştır. Ancak tuz

uygulamasının 14. gününde aktiviteleri kontrol grubuna göre değişmemiştir. *P. media* 'da ise en yüksek tuz konsantrasyonunda POX aktivitesi önemli bir artış göstermiştir. Heriki türdeki bu artış karşılaştırıldığında en yüksek aktivitenin *P. maritima*'da olduğu görülmektedir. Benzer sonuçlar tuz stresine maruz bırakılan domates (Shalata and Tal, 1998), çeltik (Dionisio-Sese and Tobita, 1998) ve *Colocasia esculent* (Chang et al., 1984)'te de elde edilmiştir. Peroksidaz izoenzimlerinin de tuz toleransında önemli bir yeri olduğu bilinmektedir (Hath et al, 1968; Screenivasulu et al., 1999). Çalışmamızda tuz stresinin 7. gününde heriki türde POX1 ve POX2 izoenzimlerine rastlanırken, POX3, POX4 ve POX 5 izozimleri sadece *P. maritima*'da tanımlanmıştır. *P. maritima*'da POX1 ve POX 2 izoenzimlerinin yoğunlukları tuz stresine bağlı olarak, *P. media*'ninkinden daha fazla artmıştır. Tuz uygulamasının 7. günün ölçülen bu değerler, *P. maritima*'da total POX aktivitesindeki artışın nedenini açıklamaktadır. Bu bulguları Grosser et al. (1994), Sudhakar et al. (2001), Lin ve Kao et al. (2002)'nin tuz stresi altında sırasıyla pamuk, marul ve çeltik ile yaptıkları çalışma sonuçları da desteklemektedir. Tuz stresinin 7. günündeki total POX aktivitesindeki artış, Mittal ve Dubey (1991) tarafından rapor edileninin aksine, yeni izoenzimlerin sentezlenmesinden çok, varolan izoenzimlerin aktivitesinin artması sonucu meydana gelmiştir.

Tuz stresinin 14. gününde, 7. günde gözlenen bazı POX izozimleri tanımlanamamıştır. Dolayısıyla POX izozimlerinin aktivitesi tuzluluğun uygulanma süresine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. *P. maritima*'da toplam POX aktivitesi değişmezken *P. media*'da artmıştır. Ancak bu artışın nedeni, hidrojen peroksidin neden olduğu oksidatif strese karşı bitkileri korumak değil lignin oluşumunu arttırmak olabilir. Bunun aksine, neden

olduğu lignin oluşumundaki artışa bağlı olarak hücre uzamasındaki azalma tuz hasarının tipik belirtisi olan büyümenin baskılanmasına neden olmaktadır. Cavalcanti et al. (2004)'nin tuz stresi altındaki *Vigna unguiculata* ile yaptığı çalışmalarda benzer bulgular elde edilmiştir.

Askorbat-glutasyon döngüsünün son enzimi olan glutasyon redüktaz (GR) okside edilmiş glutasyonun NADPH'a bağlı indirgenmesini katalizler. GR, birçok bitkiyi oksidatif stresten koruyan önemli bir enzimdir (Foyer 1991). Çalışmamızda tuz uygulamasının 7. gününde 100 mM NaCl stresi, *P. maritima*'da GR aktivitesini etkilememiştir. Ancak diğer uygulamaların tümü *P. maritima*'da GR aktivitesinde önemli artışlara neden olmuştur. *P. maritima*'nın aksine, *P. media* 'nın GR aktivitesi ise tuz stresi altında azalmıştır. GR aktivitesindeki bu azalış, *P. media*'nın tuz stresine duyarlılığını arttıran değişkenlerden biri olabilir. karşı daha hassas olmasına neden olmuş olabilir. Tuz stresine tepki olarak *P. maritima*'da GR aktivitesindeki artış, NADP⁺/NADPH oranını arttırmış ve böylece fotosentezde elektron taşınım zincirinden gelen elektronları yakalayacak yeterli miktarda NADP⁺ sağlamış olabilir (Jung, 2004). Bunun sonucu, elektronların oksijene akışıyla süperoksit radikalinin üretimi azalmakta ve dolayısıyla Haber-Weiss reaksiyonuyla son derece reaktif olan ·OH radikallerinin oluşumuna engel olabilmektedir. *P. maritima*'da zarların peroksidede olmaması *P. media*'da ise kontrole göre 3.5 kat artması, GR'nin *P. maritima*'daki artışına, *P. media*'daki ise azalışına bağlı olabilir. Tuz stresinin özellikle 14. gününde *P. maritima*'da APX aktivitesinin korunması ve GR aktivitesinde önemli bir artış oluşması, Askorbat-glutasyon yolunu kullanarak daha az oranda hidrojen peroksit biriktirmesine neden olmuştur.

Böylece *P. maritima* lipid membranların peroksidasyonunun azalmasıyla, tuz stresi altında oluşan oksidatif hasardan korunmuştur.

Lipid peroksidasyonu, hücre düzeyinde tuz stresinin neden olduğu hasarın bir göstergesidir (Hernandez and Almansa, 2002; Hernandez et al., 2003, Elkahoui et al., 2005). Çalışmamızda *P. maritima*'nın yapraklarındaki MDA miktarı tuzluluktan etkilenmezken *P. media*'nın yapraklarında önemli bir artış meydana gelmiştir. *P. maritima*'nın MDA seviyesinde herhangi bir değişikliğin gözlenmemesi, tuz stresi altında tuza toleranslı bitkilerin daha iyi korunduğunu göstermektedir. *P. media* yapraklarındaki tuza bağlı daha fazla oksidatif hasar oluşumu antioksidan enzim sisteminin yeterince uyarılmamasına bağlanabilir. *P. maritima* ise tuz stresine karşı antioksidatif sistemi daha etkili tepki vermiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz antioksidatif sistem aktivitesi ile lipid peroksidasyon arasındaki ilişkiye benzer sonuçlar, Shalata ve Tal (1998), Hernandez ve Almansa (2002) ve Azevedo-Neto et al. (2005) tarafından da rapor edilmiştir.

Sonuç olarak;

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre çeşitli parametreler dikkate alındığında tuz stresinin *P. maritima* ve *P. media* üzerindeki etkileri, belirgin farklılıklar göstermiştir. *P. maritima*'nın *P. media*'ya göre tuz stresinden daha az etkilenmiştir. Tuz stresi altında *P. media*'nın stoma iletkenliğinin ve buna bağlı olarak fotosentez veriminin, SOD, CAT, APX ve GR gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri azalırken peroksidasyonun artışı bu bitkinin tuza direnç göstermesini önlemiştir. Buna karşın tuz stresi altında *P. maritima*'nın yaprak bağıl su içeriği, fotosentez verimliliği, POX ve APOX aktiviteleri korunurken SOD, CAT ve GR aktivitelerinin artması *P. media*'ya

göre *P. maritima*'nın tuzluluk direncinin artmasına katkıda bulunmuştur. Bu bulgular *P. maritima*'da stres altında antioksidan enzim aktivitesinin uyarılmasının, bu bitkinin tuzluluğa karşı göstermiş olduğu toleransta yer aldığını göstermektedir.

Dolayısıyla çalışmamızda ortaya konulan bulgular ve değerlendirmelerle, *P. maritima* ve *P. media*'nın nisbi tuz toleransında antioksidan enzim sisteminin rolü aydınlatılmıştır.

5. KAYNAKLAR DİZİNİ

Ahmad, I., Larher, F. and Stewart, G.R., 1979, Sorbitol, a compatible osmotic solute in *Plantago maritime*. *New Phytol* 82: 671–678

Ali Dinar, H.M., Ebert, G. and Ludders, P., 1999. Growth, chlorophyll content, photosynthesis and water relations in guava (*Psidium guajava* L.) under salinity and different nitrogen supply. *Gartenbauwissenschaft* 64, 54–59.

Ali, A.A. and Alqurainy, F., 2006, Activities of antioxidants in plants under environmental stress. In: Motohashi N, editor. The lutein-prevention and treatment for diseases, India: Transworld research network, p. 187–256.

Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M. and Murata, N., 2000, Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp., *Plant Physiol*, 123:1047-1056.

Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S., 2002, Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants, *J Exp Bot*, 53(372): 1331-1341.

Amor, N.B., Hamed, K.B., Debez, A., Grignon. C. and Abdelly, C., 2005, Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. *Plant Sci*, 168:889–99.

Amtmann, A. and Sanders, D., 1999, Mechanisms of Na⁺ uptake by plant cells. *Adv. Bot. Res.*, 29: 75-112.

Apse, M.P., Aharon, G.S., Snedden, W.A., Blumwald, E., 1999, Salt tolerance conferred by overexpression of vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*, *Science*, 285: 1256-1258.

Arnon, D.L., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol*, 24: 1-10.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Asada K, Yoshikawa K, Takahashi M, Maeda Y and Enami K., 1975, Superoxide dismutases from a blue-green alga, *Plectonema boryanum*, *J Biol Chem*, 250:2801.

Asada, K., 1994, Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. In: Foyer and Mullineaux, Causes of oxidative stress and amelioration of defense systems in plants pp. 78-99 CRC Press, Boca Raton, FL.

Asada, K., 1999, The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *A Rev Plant Physiol Plant Mol Bio*, 50: 601-639.

Asada, K., and Takahashi, M., 1987, Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, In *Photoinhibition*. Kyle DJ, Osmond BJ, Arntzen CJ, eds, Elsevier, Amsterdam, pp. 227-287.

Ashraf, M., 2009, Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers, *Biotechnology Advances*, 27: 84-93.

Azevedo-Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, Braga de Abreu C.E., Gomes-Filho, 2005, Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt tolerant and salt sensitive maize genotypes, *Environ Exp Bot* 56: 87-94.

Badawi, G.H., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., Kawano, N. and Tanaka, K., 2004, Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts, *Plant Sci*, 66:919-28.

Ballantyne, J.S. and Chamberlin, M.E., 1994, Regulation of cellular amino acid levels. In: Strange K, editor. Cellular and molecular physiology of cell volume regulation . Boca Raton, CRC Press, pp.111-122.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Bandeoğlu, E., Eyidoğan, F., Yücel, M. and Oktem, H.A., 2004, Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl, *Plant Growth Regul* 42: 69–77.

Bartoli, C.G., Simontacchi, M., Tambussi, E., Beltrano, J., Montalde, E. and Puntarulo, S., 1999, Drought and watering dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. *J Exp Bot*, 50:375–83.

Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D., 1973, Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant Soil*, 39: 205-207.

Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971, Superoxide dismutase: Improved assays and applicable to acrylamide gels, *Analytical Biochemistry*, 44: 276-287.

Bergmeyer, N., 1970, Methoden der enzymatischen Analys. Vol.1, Akademie Verlag, Berlin, pp. 636-647.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V., 2003, Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 91:179–94.

Blum, A., 1986, Salinity resistance. in: Blum, A. (Ed.), Plant Breeding for Stress Environments, CRC Press, Boca Raton, pp. 1163–1169.

Bohnert, H.J. and Jensen, R.G., 1996, Metabolic engineering for increased salt tolerance. The next step, *Aust J Plant Physiol*, 23: 661-667.

Bor, M., Ozdemir, F. and Türkan I., 2003 The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L., *Plant Sci*, 164: 77-84.

Bowler, M., Montagu, V. and Inze, D., 1992, Superoxide dismutase and stress tolerance, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 43:83-116.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Bradford, M.N., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal Biochem*, 72: 248-254.

Breesan R.A., Hasegawa P.M. and Pard J.M., 1998, Plants use calcium to resolve salt stress, *Trends Plant Sci*, 3: 411-412.

Breusegem, F.V., Vranova, E., Dat, J.F., Inze, D., 2001, The role of active oxygen species in plant signal transduction, *Plant Sci*, 161:405–14.

Bunkelmann, J.R. and Trelease, R.N., 1995, Molecular cloning and characterization of ascorbate peroxidase localized to the glyoxysome membranes of cotton cotyledons, *Plant Physiol*, 108:8-67.

Bunkelmann, J.R. and Trelease, R.N., 1996, Ascorbate peroxidase: a prominent membrane protein in oilseed glyoxysomes, *Plant Physiol*, 110:589–98.

Campa A., 1991, Peroxidases in chemistry and biology, vol. 2. Boca Raton, F.L.: CRC Press, p. 25–30.

Cavalcanti, A.R., Oliveira, J.T.A., Martins-Miranda, A.S., Viegas, R.A. and Gomes, Silveira, J.A., 2004, Süperoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salstressed cowpea leaves, *New Phytol*, 163: 563-571.

Chang, H., Siegel, B.Z. and Siegel, S.M., 1984, Salinity induced changes in isoperoxidase in isoperoxidase in taro, *Colocasia esculenta*, *Phytochem*, 23: 233–235.

Chartzoulakis, K. and Klapaki, G., 2000, Response of two green house pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages, *Sci. Hortic.*, 86, 247–260.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Chinnusamy V, Jagendorf, A, Zhu, J-K, 2005, Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop. Sci.* 45: 437-448.

Creissen, G.P., Broadbent, P., Kular, B., Reynolds, H., Wellburn, A.R., and Mullineaux, P.M., 1994, Manipulation of glutathione reductase in transgenic plants: implications for plant responses to environmental stress., *Proc R Soc Edin*, 102B:167–75.

Csonka, L.N. and Epstein, W., 1996, Osmoregulation,. In Neidhardt FC, and others, editors, *Escherichia coli* Salmonella: cellular and molecular biology vol1 Washington, DC: *Am Social Microbiology*, pp 1210-1223.

Cuin, T.A., Miller, A.J., Laurie, S.A., Leigh R.A., 2003, Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves, *J Exp Bot*, 54: 657-661.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., VanMontagu, M., Inzé, D. and Van Breusegem, F., 2000, Dual action of the active oxygen species during plant stress responses, *Cell Mol Life Sci*, 57:779–95.

Dat, J.F., Pellinen, R., Beeckman, T., Van De Cotte, B., Langebartels, C., Kangasjärvi, J, 2003, Changes in hydrogen peroxide homeostasis trigger an active cell death process in tobacco, *Plant J*, 33:621–32.

Delane, R., Greenway, H., Munns, R. and Gibbs, J., 1982, Ion concentration and carbohydrate status of elongating leaf tissue of *Hordeum vulgare* growing at high external NaCl. I. Relationship between solute concentration and growth, *J Exp Bot*, 33: 557-573.

Delauney, A.J. and Verma, D.P.S., 1993, Proline biosynthesis and osmoregulation in plants, *Plant J*, 4:215-223.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Demiral, T. and Türkan, I., 2004, Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment, *J Plant Physiol*, 161(10): 1089-1100.

Demiral, T. and Türkan, I., 2005, Comparative lipid peroxidation, antioxidant defence systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance, *Environ Exp Bot*, 53(3): 247-257.

Desikan, R., A-H-Mackerness, S., Hancock, J.T. and Neill, S.J., 2001, Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress, *Plant Physiol*, 27:159-72.

Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S., 1998, Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress, *Plant Sci*, 135: 1-9.

Donahue, J., Okpodu, C. M, Cramer, C. L., Grabau, E. A., and Alscher, R. G., 1997, Responses of Antioxidants to Paraquat in Pea Leaves, *Plant Physiol.*, 113:249-257.

Dudeck, A.E., Singh, S., Giardona, C.E., Nell, T.A., and Mc Connell, D.B., 1983, Effectes of sodium chloride on Cynodon turf grasses, *Agron. J.* 75:927-930.

Edwards, E.A., Rawsthorne S. and Mullineaux P.M., 1990, Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.), *Planta*, 180:278-84.

Elkahoui, S., Hernandez, J.A., Abdelly, C., Ghrir, R., Limam, F., 2005, Effcets of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharanthus roseus* suspension cells, *Plant Sci*, 168: 607-613.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Elstner, E. F., 1991, Mechanism of oxygen activation in different compartments of plant cells. In: Pell, E. J. and Steffen, K. L., (ed.) *Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism*, pp. 13-25 *American Society of Plant Physiologists*, Rockville, MD ISBN 0-943088-22-4.

Erdei, L. and Kuiper, P.J.C., 1979, The effect of salinity on growth, cation content, Na⁺ uptake and translocation in salt-sensitive and salt-tolerant *Plantago* species, *Physiol Plant*, 47: 95–99.

Ertürk, HN, 1999, PhD thesis, Responses of süperoxide dismutases to oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*, January, Blaksburg, Virginia.

Fadzilla, N.M., Finch, R.P. and Burdon, R.H., 1997, Salinity oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice, *J Exp Bot*, 48:325–331

FAO, 2008, FAO Land and Plant Nutrition Management Service, <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.

Farquar, G.D., Ball, M.C., Von Caemmerer, S. and Roksandic, Z., 1982, Effect of salinity and humidity on 13C value of halophytes—evidence for diffusional isotope fractionation determined by the ratio of intercellular/atmospheric partial pressure of CO₂ under different environmental conditions, *Oecologia*, 52: 121–124.

Farwick, M., Siewe, R.M. and Kramer, R., 1995, Glycine betaine uptake after hyperosmotic shift in *Corynebacterium glutamicum*, *J. Bacteriol*, 177: 4690-4695.

Flanagan, L.B. and Jefferies, R.L., 1988, Stomatal limitation ophotosynthesis and reduced growth of halophyte, *Plantago maritima* L., at high salinity, *Plant Cell Environ*, 11: 239–245.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Flohé, L. and Günzler, W.A., 1984, Assays of glutathione peroxidase, *Methods and Enzimology*, 105: 114-121.

Flowers, T.J., Hajibagheri, M.A. and Clipson, N.J.W., 1986, Halophytes, *Quart Rev Biol*, 61: 313–335.

Ford, C.W., 1984, Accumulation of low molecular weight solutes in water stressed tropical legumes, *Phytochem*, 23, 1007-1015.

Foyer, C. H. and Mullineaux, (eds.) ,1994, Causes of oxidative stress and amelioration of defense systems in plants, CRC Press, Boca Raton, FL.

Foyer, C.H. and Halliwell, B., 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, 133: 21-25.

Foyer, C.H. and Harbison, J., 1994, Oxygen metabolism and the regulation of photosynthetic electron transport. In: Foyer CH, Mullineaux P, editors. Causes of photooxidative stresses and amelioration of defense systems in plants. Boca Raton, Florida, USA: CRC. Press; p. 1-42.

Foyer, C.H. and Noctor, G., 2000, Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling, *New Phytologist*, 146: 359-388.

Foyer, C.H. and Noctor, G., 2003, Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria, *Physiol Plant*, 199:355-364.

Foyer, C.H., Lelandais, M., Galap, C. and Kunert, K.J., 1991, Effect of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions, *Plant Physiol*, 97: 863–872.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F. and Scott, I.M., 1997, Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling, *Physiol Plant*, 100:241–54.

Franco, J.A., Fernández, J.A., Bañón, S. and González, A., 1997, Relationship between the effects of salinity on seedling leaf area and fruit yield of six muskmelons cultivars, *J. Hortic. Sci.*, 32, 642–647.

Fricke W, Peters WS, 2002, The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley, A study at the cell level, *Plant Physiol*, 129: 374-388.

Fridovich, I., 1986, Superoxide dismutases. *in:* Meister A. (eds) *Advances In: Enzymology*, vol 58, John Wiley and Sons, New York, pp 61-97.

Fridovich, I., 1989, Superoxide dismutases: An adaptation to a pragmatic gas. *J. Biol. Chem.* 264:7761-7764.

Fridovich, I.,1995, Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 64:97-112.

Frugoli, J.A., Zhong, H.H., Nuccio, M.L., McCourt, P., McPeck, M.A., Thomas, T.L. and McClung, C.R., 1996, Catalase is encoded by multigene family in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, *Plant Physiology*, 112(1): 327-336.

Gapinska, M., Skłodowska, M, Gabara, B., 2008, Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots, *Acta Physiol Plant*, 30:11–18.

Garthwaite, A.J., von Bothmer, R., Colmer, T.D., 2005, Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na⁺ and Cl⁻ into the shoots, *J Exp Bot*, 56: 2365-2378.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gechev, T.S., Breusegem, F.V., Stone, J.M., Denev, I., Laloi, C., 2006, Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death, *BioEssays*, 28:1091–101.

Goddjin, O.J.M., Verwoerd, T.C., Voogd, E., Krutwagen, R.W.H.H., de Graaf, P.T.H.M., Poels, J., van Dun, K., Ponstein, A.S., Damm, B., Pen, J., 1997, Inhibition of trehalase activity enhances trehalose accumulation in transgenic plants, *Plant Physiol*, 113:181-190.

Gomez, J.M., Jimenez, A., Olmos, E. and Sevilla, F., 2004, Location and effects of long-term NaCl stress on superoxide dismutase and ascorbate peroxidase isoenzymes of pea (*Pisum sativum* cv. Puget) chloroplasts, *J Exp Bot*, 55:119–30.

Gomez, M., Hernandez, J.A., Jimenez, A., del-Rio, L.A. and Sevilla, F., 1999, Differential response of antioxidative system of chloroplasts and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants, *Free Radic Res*, 31:11-18.

Grant, J.J. and Loake, G.J., 2000, Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance, *Plant Physiol*, 124:21–9.

Greenway, H. and Munns, R., 1980, Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, *Annu Rev Plant Physiol*, 49: 256-259.

Grosset, D.R., Millhollon, E.P. and Lucas, M.C., 1994, Antioxidant response to NaCl stress in salt tolerant and salt sensitive cultivars of cotton, *Crop Science*, 34:706-714.

Gupta, K.J, Stoimenova, M. and Kaiser, W.M., 2005, In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, in vitro and in situ, *J Exp Bot*, 56:2601–9.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Guy, R.D. and Reid, D.M., 1986, Photosynthesis and the influence of CO₂ enrichment on ¹³C values in a C3 halophyte, *Plant Cell Environ*, 9: 65–72

Halfter, U., Ishitani, M. and Zhu, J.K., 2001, The Arabidopsis SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by calcium-binding protein SOS3, *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 3735-3740.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999, Free radicals in biology and medicine, 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press.

Hammond-Kosack, K.E. and Jones, J.D., 1996, Resistance gene-dependent plant defense responses, *Plant Cell*, 8:1773–91.

Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J., 1998, Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress, *Plant Cell Environment*, 21: 535-553.

Hasegawa, M., Bressan, A., Zhu, J.-K. and Bohnert, H.J., 2000, Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio*, 51: 463-499.

Heath, R.L. and Packer, L., 1968, Photoperoxidation in isolated chloroplasts 1. Kinetics and stoichiometry of fattyacid peroxidation, *Arch. Biochem. Biophys.*, 125 189-198.

Hernandez, J.A., Almansa, M.S., 2002, Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves, *Physiol Plant*, 115: 251–257.

Hernandez, J.A., Campillo, A., Jimenez, A., Alacon, J.J., Sevilla, F., 1999, Response of antioxidant system and leaf water relations to NaCl stress in pea plants, *New Phytol* 141: 241–251.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Hernández, J.A., Corpas F.J., Gomez, M., Del-Rio, L.A., and Sevilla, F., 1993, Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria, *Physiol Plant*, 89: 103-110.

Hernández, J.A., Del-Rio, L.A., and Sevilla, F., 1994, Salt stress-induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *Vigna unguiculata* (L.) Wlap, *New Phyto*, 126: 37-44.

Hernández, J.A., Jiménez, A., Mullineaux, P. and Sevilla, F., 2000, Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences, *Plant Cell Environ*, 23: 853-862.

Hernández, J.A., Olmos, E., Corpas F.J., Sevilla, F. and Del-Rio, L.A., 1995, Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants, *Plant Sci*, 105:151- 167.

Herzog, V. and Fahimi, H., 1973, Determination of the activity of peroxidase, *Analytical Biochem*, 55: 554-562.

Hideg, E., 1997, Free radical production in photosynthesis under stress conditions. In: Pessarakli M, editor. Photosynthesis. 2nd edition. New York, USA: CRC Press; p 911–30.

Holmström, K.O., Mantyla, E., Welin, B., Mandal, A., Palva, E.T., 1996, Drought tolerance in tobacco, *Nature*, 379:683-684.

Horemans, N., Foyer, C.H., Potters, G., Asard, H., 2000, Ascorbate function and associated transport systems in plants, *Plant Physiology of Biochemistry*, 38:531–40.

Huang, A. H. C., Trelease, R. N., and Moore, T. S., 1983, *Plant Peroxisomes*, Academic Press, New York, NY.

Imlay, J.A., Linn, S., 1988, DNA damage and oxygen radical toxicity, *Science*, 240, 1302-1309.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Inzé, D. and Van Montagu, M., 1995, Oxidative stress in plants, *Curr Biol*, 6:153-158.

Jebbar, M., Talibart, R., Gloux, K., Bernard, T., Blanco, C., 1992, Osmoprotection of *E. coli* by ectoine: uptake and accumulation characteristics, *J. Bacteriol.*, 174: 5027-5035.

Jefferies, R.L., Rudmik, T., Dillon, E.M., 1979, Responses of halophytes to high salinities and low water potentials, *Plant Physiol*, 64: 989-994.

Jimenez, A., Hernandez, J.A., Del Rio, L.A., Sevilla, F., 1997, Evidence for the presence of the ascorbate glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves, *Plant Physiol*, 114:275-84.

Jones, J.D., 1994, Plant pathology, Parasitoid plants have their genes examined, *Curr Biol*, 4(8):749-751.

Jung, S., 2004, Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought, *Plant Sci*, 166: 459-466.

Kaiser, W.M., 1979, Reversible inhibition of the Calvin cycle and activation of oxidative pentose phosphate cycle in isolated intact chloroplasts by hydrogen peroxide, *Planta*, 145:377-82.

Karakas, B., Ozias-Akins, P., Stushnoff, C., Suefferheld, M., Rieger, M., 1997, Salinity and drought tolerance of mannitol accumulating transgenic tobacco, *Plant Cell Environ*, 20: 609-616.

Karpinski, S., Gabrys, H., Mateo, A., Karpinska, B., Mullineaux, P.M., 2003, Light perception in plant disease defence signalling, *Curr Opin and Plant Bio*, 6:390-6.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kavi Kishor, P.B., Hong, Z., Miao, G.H., Hu, A.A., Verma, D.P.S., 1995, Overexpression of pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerans in transgenik plants, *Plant Physiol.*,108:1387-1394.

Khan, M.A., Ungar, I.A., Showalter, A.M., 2000, The effect of salinity on the growth, water status and ion content of a leaf a succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa*(L.) Forssk, *J Arid Environ*, 45: 73–84.

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 Physio Plantarum*, 30/1:81-89.

Khavarinejad, R.A., and Chaparzadeh, N., 1998, The effects of NaCl and CaCl₂ on photosynthesis and growth of alfalfa plants, *Photosyn*, 35:461-466.

Kiddle, G., Pastori, G.M., Bernard, S., Pignocchi, C., Antoniw, J., Verrier and P.J., 2003, Effects of leaf ascorbate content on defence and photosynthesis gene expression in *Arabidopsis thaliana*, *Antioxidant Redox Signal*, 5:3-32.

Kieselbach, T., Bystedt, M., Hynds, P., Robinson, C. and Schröler, W.P, 2000, A peroxidase homologue and novel plastocyanin located by proteomics to the *Arabidopsis* chloroplast thylakoid lumen, *FEBS Lett.* 480: 271-276.

Koca H., Bor M, Ozdemir F. and Türkan I., 2007, Effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environ Exp Botany*, 60: 344-351.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kono, Y. and Fridovch, I., 1983, Inhibition and reactivation of manganese catalase implications for valence changes at the active site manganese, *J. Biol. Chem.*, 258: 13646-13648.

Königshofer, H., 1983, Changes in ion composition and hexitol content of different *Plantago* species under the influence of salt stress *Plant and Soil* 72, 289-296.

Kuo, C.F., Mashino, T., and Fridovich, I., 1987, α - β -dihydroxyisovalerate dehydratase a superoxide sensitive enzyme, *J. Biol. Chem.*, 262:4724-4727.

Laemmli, UK, 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685

Laloi, C., Apel, K. and Danon, A., 2004, Reactive oxygen signalling: the latest news., *Curr Opin Plant Bio*, 7:323–8.

Lamb, C. and Dixon R.A, 1997, The oxidative burst in plant disease resistance, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bol*, 48: 251–75.

Lambers, H., Blacuiere, T. and Stuiver, B., 1981, Interactions between osmoregulation, and the alternative respiratory pathway in *Plantago coronopus* as affected by salinity, *Physiologia Plantarum*, 51:63-68.

Larson, R.A., 1988, The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27:969–78.

Lauchlii, A., 2002, Introduction to salinity: Environment-Plants-molecules, ed. A. Lauchlii, U Lüttge, pp. İx-x. Dordrecht, Netherlands: Kluwer.

Lee DH, Kim YS, Lee CB, 2001, The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.) *Plant Physiol* 158:735-747.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Leigh, R.A. and Storey, R., 1993, Intercellular compartmentation of ions in barley leaves in relation to potassium nutrition and salinity, *J. Exp. Bot.* 261, 755–762.

Leonardis, S.D., Dipierro, N. and Dipierro, S, 2000, Purification and characterization of an ascorbate peroxidase from potato and tuber mitokondria. *Plant Physiology of Biochemistry*, 38; 773-779.

Lilius, G., Holmberg, N. and Bülow, L.I., 1996, Enhanced NaCl stress tolerance in transgenic tobacco expressing bacterial choline dehydrogenase, *Bio-Technol*, 14: 177-180.

Lin, C.C. and Kao, C.H., 2000, Effect of NaCl on metabolism in rice leave, *Plant Growth Reg.* 30:151-155.

Liu, J. and Zhu, J-K., 1998, A calcium sensör homolog required for plant salt tolerance, *Science*, 280: 1943-1945.

Liu, J., Ishitani, M, Halfter U, Kim, C-S, and Zhu J-K, 2000, The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance, *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 3730-3734.

Lopez, F., Vansuyt, G., Case-Delbart, F., Fourcroy, P., 1996, Ascorbate peroxidase activity, not the mRNA level, is enhanced in salt-stressed *Raphanus sativas* plants, *Physiol Plant*, 97:13–20

Louis, P and Galinski, E.A, 1997, Characterization of genes for the biosynthesis, of the compatible solute ectoine from *Marinococcus halophilus* and osmoregulated expression in *Escherichia coli*, *Microbiology*, 143: 1141-1149.

Maathius, F.J.M., Ichida, B., Sanders and D., Schroeder, 1997, Roles of higher plants potassium channels, *Plant Physiol.* 114: 1141-1149.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Maathuis, F.J.M. and Prins, H.B.A., 1990, Electrophysiological membrane characteristics of the salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*, *Plant Soil*, 123: 233–238.

Madhava Rao, K.V., and Sresty, T.V.S., 2000, Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses, *Plant Science*, 157: 113-128.

Malin G, and Lapidot A., 1996, Induction of synthesis of tetrahydropyrimidine derivatives in *Streptomyces* strains and their effect on *E. coli* in response to osmotic and heat stress, *J. Bacteriol*, 178-385-395.

Mateo, A., Mühlenbock, P., Rustérucci, C., Chi-Chen, Chang, C., Miszalski, Z., Karpinska, B., 2004, Lesion simulating disease 1 is required for acclimation to conditions that promote excess excitation energy, *Plant Physiol*, 136: 2818–30.

Mehler, A., 1951, Studies on reactions of illuminated chloroplasts. II Stimulation and inhibition of the reaction with molecular oxygen, *Archive Biochemistry*, 34: 339-351.

Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A and Cambraia, J., 2003, Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress, *Environ Exp Bot*, 49: 69–76.

Mendoza-Cozatl, D.G. and Moreno-Sanchez, R., 2006, Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress, Pathway modeling for plants. *J Theor Biol*, 238:919–36.

Miao, Y, Lv, D., Wang, P., Wang, X.C., Chen, J., Miao, C., Song, C.P., 2006, An Arabidopsis glutathione peroxidase functions as both a redox transducer and a scavenger in ABA and drought stress responses, *Plant Cell*, 18: 2746-2766.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mittal, R., and Dubey, R.S., 1991, Behaviour of peroxidases in rice :changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance, *Plant Physiology Biochemistry*, 29:31-40.

Mittler, R. and Zilinskas, B.A.,1992, Molecular cloning and characterization of gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. *J Biol Chem*, 267:21802–7.

Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioksidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.

Mittler, R., 2004, Reactive oxgen gene network of plants, *Trends in Plant Science*, 9: 490-498.

Munss, R., 2005, Genes ans salt tolerance: Bringing them together, *New Phytol*, 167: 645-663.

Munns R., Guo J., Passioura JB, Cramer GR, 2000, Leaf water status controls day time-but notbdaily rates of leaf expansion in salt-treated barley, *Aust J Plant Physiol*, 27: 949-957.

Munss, R. and Tester, M., 2008, Mechanisms of salinity tolerance, *Annu. Rev. Plant. Bio.*,59:651-681.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture, *Physiol Plant*, 15: 473-497.

Nadwodnik, J. and Lohaus, G., 2008, Subcellular concentrations of sugar alcohols and sugars in relation to phloem translocation in *Plantago major*, *Plantago maritima*, *Prunus persica*, and *Apium graveolens*, *Planta*, 227: 1079-1089.

Nakano, Y. and Asada, K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplasts, *Plant and Cell Physiology*, 22: 867-880.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Nakayama, H., Yoshida, K., Ono, H., Murooka, Y., Shinmyo, A., 2000, Ectoine, the compatible solute of *Halomonas elongata* confers hyperosmotic tolerance in cultured tobacco cells, *Plant Physiol*, 122: 1239-1248.

Navrot, N., Collin, V., Gualberto, J., Gehaye, E., Hirasawa, M., Rey, P., Knaff, D.B., Issakidis, E., Jacquot, J.P., Rouhier, N., 2006, Plant glutathione peroxidases are functional peroxierdoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses, *Plant Physiology*, 142: 1362-1379.

Nayyar, H. and Gupta, D., 2006, Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants, *Env and Exp Bot*, 58:106–13.

Neill, S.J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R.D., Hancock, J.T., 2002, Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants., *Journal of Experimental Botany*, 53:1237–47.

Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Van Norren, K. And Van Leeuwen, P.A., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am J Clin Nutr*, 74:418–25.

Noctor, G. and Foyer, C., 1998, Ascorbate and glutathione: keeping active oxgen under control, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249-279.

Nohl, G., Jordan, N., and Hegner, D., 1981, Identification of free hydroxyl radicals in respiring rat heart mitochondria by spin trapping with the nitrone DMPO. *FEBS Lett.* 123:241-44.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Nuccio, M.L., Rhodes, D., McNeill, S.D., Hanson, A.D., 1999, Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance, *Curr Opin Plant Biol*, 2: 128-134.

Ogawa, K., Kanematsu, S., and Asada, K., 1997, Generation of superoxide anion and localization of CuZn-superoxide dismutase in the vascular tissue of spinach hypocotyls: Their association with lignification, *Plant Cell Physiol*, 38:1118-1126.

Okajima, T., and Yamazaki, I., 1972, Myelo peroxidase EC-1.11.1.7 of the leukocyte of normal blood part 5 spectral conversion of myelo-peroxidase EC-1.11.1.7 to a cytochrome oxidase like derivative, *Biochim. Biophys. ACTA* 284:355-359.

Orozo-Cardenas, M.L., Ryan, C., 1999, Hydrogen peroxide is generated systematically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:6553-7.

Parida, A.K., Das, A.B., Mohanty, P., 2004, Investigations on the antioxidative defense responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential, regulations of isoforms of some antioxidant enzymes, *Plant Growth Regul*, 42: 213-226.

Pastori, G.M. and Foyer, C.H., 2002, Common components, networks, and pathways of crosstoleranceto stress, The central role of 'redox' and abscisic acid-mediated controls, *Plant Physiol*, 129:460-8.

Pei, Z.M., Murata, Y., Benning, G., 2000, Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells, *Nature*, 406:731-4.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Perez-Lopez, U., Robredo, A., Lacuesta, M., Sgherri, C., Munoz-Rueda, A., Navari-Ízzo, F., Mena-Petite, A., 2009, The oxidative stress caused by salinity in two barley cultivars ,s mitigated by elevated CO₂, *Physiol. Plant.* 135:29-42.

Perl, A, Perl-Treeves R., Galili S., D Aviv, E. Shalgi, Sm Amakin, Glun E., 1993, Enhanced oxidatif stress defense in transgenic potato expressing tomato (Cu/Zn SOD) süperoksit dismutases. *Theor. Appl. Genet.* 85: 568 576.

Pilon- Smits, E.A.H., Ebskamp, M.J.M., Paul, M.J., Jeuken, M.J.W., Weisbeek, P.J., Smeekens, S.C.M., 1995, Improved performans of transfenic fructon- accumulating tobacco under drought stress, *Plant Physiology*, 107: 125-130.

Polle, A., 2001, Dissecting the superoxide dismutase–ascorbate–glutathione pathway by metabolic modeling: computer analysis as a step towards flux analysis, *Plant Physiol*, 126:445–62.

Quasim, M., Ashraf M., Jamil, M.A., Ashraf M.Y.,Shafiq-Ur-Rehman and Rha, E.S., 2003, Water relations and leaf gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus*) lines under salt stress, *Ann. Appl. Biol.*, 142:307-316.

Qui, Q.S., Guo, Y., Dietrich, M.A., Schumaker, K.S., Zhu, J-K, 2002 , Regulation of SOS1, plasma membrane Na⁺/H⁺ exchanger in *Arabidopsis thaliana* by SOS2 and SOS3, *Proceed. Natl. Acad. Sci., USA* 99: 9061-9066.

Rengasamy, P., 2002, Transient salinity and subsoil constraint to dryland farming in Australian sodic soils:an overview, *Aus J of Exp Botany Agriculture*, 42: 351-362.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Rodriguez, P., Torrecillas, A., Morales, M.A., Ortunu, M.F., Sanchez-Blanco, M.J., 2005, Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants, *Environmental and Experimental Botany*, 53:113-123.

Romero, C, Belles, J.M., Vaya, J.L., Serrano, R., Culianez-Macia, F.A., 1997, Expression of the yeast trehalose- 6-phosphate synthase gene in transgenic tobacco plants:pleiotropic phenotypes include drought tolerance, *Planta*, 201: 293-297.

Rubinstein, B. and Luster, D. G., 1993, Plasma membrane redox activity: Components and role in plant porocesses, *Annu. Rev. Plant Physiol.-Plant Mol. Biol.*, 44:131-155.

Ruiz-Sánchez, M.C., Domingo, R., Savé, R., Biel, C., Torrecillas,A., 1997. Effects of water stress and rewatering on leaf water relations of lemon plants, *Biol. Plant.* 39, 623–631.

Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002, Changes in antioxidant activity in subcellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long-term salt stress, *Plant Scie*, 162: 897–904.

Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Agarwal, S., Meena, R.C., 2005, Differences in antioxidant activity in response to salinitystress in tolerant and susceptible wheat genotypes, *Biol Planta* 49: 85–91.

Sakamoto, A., Alia, Murata, N., 1998, Metabolic engineeing of rice leading to biosynthesis of GB and tolerance to salt and cold, *Plant Molecular Biology*, 38: 1011-1019.

Sandalio, L. M., Jose, M., and del Rio, L.A., 1987, Localization of manganese superoxide dismutase in peroxisomes isolated from *Pisum sativum* L., *Plant Science*, 51:1-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Savé, R., Olivella, C., Biel, C., Adillón, J., Rabella, R.,1994, Seasonal patterns of water relationships, photosynthetic pigments and morphology of *Actinidia deliciosa* plants of the Haywards and Tomouri cultivars, *Agronomie*, 2: 121–126.

Scandalios, J.G., 1993, Oxygen stress and superoxide dismutase, *Plant Physio*, 101:7-12.

Scandalios, J.G., 2002, Oxidative stress responses – what have genome-scale studies taught us, *Genome Biology*, 3(7): 1019.1-1019.

Schafer, R.Q., Wang, H.P., Kelley, E.E., Cueno, K.L., Martin, S.M., Buettner, G.R., 2002, Comparing carotene, vitamin E and nitric oxide as membrane antioxidants, *Biol Chem*, 383:671–81.

Seemann, J.R., Critchley, C., 1985, Effects of salt stress on the growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L., *Planta*, 164: 151–162.

Seevers, F.M., Daly, J.M. and Caterdal, F.F., 1971, The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust, *Plant Physiology* 48: 353-360.

Serrano, R., Mulet, J.M., Rios, G., Marquez, J.A., de Larrinoa, I., Leube, M.P., Mendizabal, I., Pascual-Ahuir, A., Proft, M., Ros, R., Montesinos, C., 1999, A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress, *J Exp Bot*, 50: 1023–1036.

Shalata, A. and Tal, M., 1998, The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*, *Physiologia Plantarum*, 104: 169-174.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal. M., 2001, Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon perenne* to salt dependent oxidative stress: the root antioxidative system, *Physiologia Plantarum*, 112:487-494.

Sharma, P.K., Hall, D., 1992, Changes in carotenoid composition and photosynthesis in sorghum under high light and salt stresses, *Journal of Plant Physiology*, 140(6):661-666.

Sheleva, E., Chmara, W., Bohnert, H.J., Jensen, R.G., 1997, Increased salt and drought tolerance by D-ononitol production in transgenic *Nicotiana tabacum*, *Plant Physiology*, 115: 1211-1219.

Shen, B., Jensen, R.G., Bohnert, H.J., 1997, Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals, *Plant Physiology*, 115:527-32.

Shi, H, Zhu, J-K, 2002a, SOS4, a pyridoxal kinase gene, is required for root hair development in Arabidopsis, *Plant Physiol*, 129: 585-593.

Shi, H, Zhu, J-K, 2002b, Regulation of expression of the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene ATNHX1 by salt stress and ABA.

Shi, H. Quintero, F.J., Pardo, J.M., Zhu J-K, 2002, The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁺ transport in plants, *Plant Cell*, 14: 465-477.

Shi, H., Ishitani, M, Kim, C-S, Zhu J-K, 2000, The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter, *Procedd. Natl. Acad., Sci, USA* 97; 6896-6901.

Shigeoka, S, Ishikawa, T, Tamol, M, Miyagawa, Y, Takeda, T, Yabuta, Y, Yoshimura, K, 2002, Regulation and function of ascorbate peroxidase isozymes, *Journal of Experimental Botany*, 53: 1305-1319.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Singha, S. and Choudhuri, M.A., 1990, Effect of salinity (NaCl) stress on H₂O₂ metabolism in *Vigna* and *Oryza* seedlings, *Biochemie and Physiologie der Pflanzen*, 186: 69-74.

Smart, R.E, and Bingham, G.E., 1974, Rapid estimates of relative water content, *Plant Physiol*, 53: 258-260.

Smirnoff, N., 1993, The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New Phytol*, 125: 27-58.

Smirnoff, N., 2000, Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule, *Curr Opin Plant Bio*, 3:229–35

Smirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989, Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes, *Phytochem*, 28: 1057-1060.

Smirnoff, N.,2005, Antioxidants and reactive oxygen species in plants. Blackwell Publishing Book.

Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. and Weschke, W., 2000, Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*), *Physiol Plant*, 109: 435-442.

Staal, M., Maathius, F.J.M., Elzenga, J.T.M., Overbeek, J.H.M., Prins, H.B.A., 1991, Na⁺/H⁺ antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*, *Physiol Plant*, 82: 179–184

Steduto, P., Albrizio . R., Giori P., Sorrentino G., 2000, Gas exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salt stress, *Environl Exp Bot*;44: 243-255.

Storey, R. and Walker, R.R., 1999, Citrus and salinity, *Science Hortic*, 78: 39-81.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Szalbocs, I., 1989, Salt-affected soils, Boca Raton, FL: CRC Press.

Takahashi, M. and Asada, K.,1988, Superoxide production in aprotic interior of chloroplast thylakoids, *Arch. Biochem. Biophys.*, 267:714-722.Blo C.

Talibart, R., Jebbar, M., Gouesbet, G., Himdi-Kabbab, S., Wroblewski, H., Blanco, C., Bernard, T., 1994, Osmoadaptation in rhizobia: ectoine-induced-salt tolerance, *J Bacteriol*, 176: 5210-5217.

Tanaka, K., Otsubo, T., and Kondo, N., 1982, Participation of hydrogen peroxide in the inactivation of calvin-cycle SH enzymes in SO₂-fumigated spinach leaves, *Plant Cell Physiol*, 23:1009-1018.

Tanaka, K., Suda, V., Kondo, N., Sugahara, K., 1985, O₃ tolerance and the ascorbate-dependent H₂O₂ decomposing system in chloroplasts, *Plant Cell Physiol*, 26:425–31.

Tanaka, Y., Hibino, T., Hayashi, Y., Tanaka, A., Kishitani, S., Takabe, T.S., 1999, Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts, *Plant Sci*, 148:131–8.

Tanczos, O.G., Erdei, L., Snijder, J.,1981, Uptake and translocation of sodium in salt sensitive and salt tolerant *Plantago* species, *Plant Soil*, 63: 27–32.

Tarczynski, M.C., Jensen, R.G., Bohnert, H.J., 1993, Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol, *Science*, 259: 508-510.

Tausz, M and Grill, D., 2000, The role of glutathione in stress adaptation of plants, *Phyton*, 40:111–8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Tejera, N.A., Campos, R., Sanjuan, J., Lluch. C., 2004, Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in Phaseolus vulgaris nodules formed by Rhizobium tropici isogenic strains with varying tolerance to salt stress, *J Plant Physiol*, 161(3) 329-338.

Temple, M.D., Perrone, G.G. and Dawes, L.W., 2005, Complex cellular responses to reactive oxygen species, *Trends Cell Biol*, 15:319–26.

Thomas, C.E., McLean, L.R., Parker, R.A., Ohlweiler, D.F., 1992, Ascorbate and phenolic antioxidant interactions in prevention of liposomal oxidation. *Lipids*, 27:543–50.

Tolbert, N.E., 1982, Leaf peroxisomes, *Ann New York Acad Sci*, 386:254–68.

Türkan I., Demiral T., 2008, Salinity tolerance mechanisms of higher plants. *Abiotic stress and Plant Responses*, Khan N.A., Singh S. (edt.)I.K. International Publishing House Pvt. Ltd.

Ursini, F., Maiorino, M., Brigelius- Flohé, R., Aumann, K.D., Roveri A., Schomburg, D., and Flohe L., 1995, Diversity of glutathione peroxidase, *Methods Enzimol*, 252; 38-53.

Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R., Thomas, G., 2003, Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.)-differential response in salt-tolerant and sensitive varieties, *Plant Sci*, 165:1411–1418.

Van Camp, W., Bowler, C., Villarroel, R., Tsang, E.W., Van Montagu, M., and Inze D., 1990, Characterization of iron superoxide dismutase cDNAs from plants obtained by genetic complementation in *Escherichia coli*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 87(24): 9903-9907.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Van Camp, W., Capiou, K., Van Montague, M. V., Inze, D., and Slooten, L.- 1996, Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-Superoxide dismutase in chloroplasts, *Plant Physiol*, 112:1703-1714.

Van den Bosch, H., 1992, Biochemistry of peroxisomes, *Annu Rev Biochem*, 61:157-197.

Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. and Zhu, J-K., 2006, Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that effect plant water status, *The Plant J*, 45: 523-539.

Very, A.A., Sentenac, H., 2002, Cation channels in the Arabidopsis plasma membrane, *Trends Plant Sci* 7: 168-175.

Very, A.A., Sentenac, H., 2003, Molecular mechanisms and regulation K transport in higher plants *Annu Rev Plant Bio*, 54: 575-603.

Vicente, O., Boscaiu, M., Naranjo, M.A., Estrelles, E., Belles, J.M., Soriano, P., 2004 Responses to salt stress in the halophyte *Plantago crassifolia* (Plantaginaceae), *J Arid Environ* 58: 463–481

Vierstra, R.D., John, T.R. and Proff, K.L., 1982, Kaempferol 3-O-galactoside 7-O-rhamnoside is the major green fluorescing compound in the epidermis of *Vicia faba*, *Plant Physiol*, 69:522–32.

Wang, S., Assmann, S.M., Fedoroff, N.V., 2008, Characterization of the Arabidopsis heterotrimeric G protein. *J Biol Chem*;283:13913–22.

Wang, Z.Y., Seto, H., Fujioka, S., Yosida, S. and Chori, J., 2001,

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., 1997, Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. The *EMBO Journal*; 16:4806–16.

Wyn, Jones, R.G., Storey, R., Leigh, R.A., Ahmad, N, Pollard A., 1977, A hypothesis on cytoplasmic osmoregulation In. Marre E, Ciffer O, editors. Regulation of cell membrane activities in plants Amsterdam, Elsevier, pp. 12-136.

Yamamoto, A., Bhuiyan, M.N.H., Waditee, R., Tanaoka, Y., Esaka, M., Oba, K., 2005, Suppressed expression of the apoplastic ascorbate oxidase gene increases salt tolerance in tobacco and Arabidopsis plants, *J Exp Bot* 56:1785–96.

Yazici, I., Türkan, I., Sekmen, A.H. and Demiral, T., 2007, Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation, *Environ Exp Bot*, 61(1): 49-57.

Yost, F. J., Jr. and Fridovich, I., 1973, An iron containing superoxide dismutase from *E.coli.*, *J Biol Chem*, 248:4905-4908.

Youn, H. D., Kim, E. J., Roe, J. H., Hah, Y. C., and Kang, S. O. (1996) A novel nickelcontaining superoxide dismutase from *Streptomyces* spp., *Biochem J.*, 318:889-890

Yu Q, Rengel Z., 1999, Drought and salinity differentially influence activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupins, *Plant Sci*, 142:1-11.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zhang, J and Kirkham, MB., 1995, Water relations of water-stressed, split-root C4 (*Sorghum bicolor*; Poaceae) and C3 (*Helianthus annuus*; Asteraceae) plants, *Am J Bot* 82:1220–9.

Zhang, J.Z., Creelman, R.A, Zhu J-K, 2004, From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis*, to engineer salt, cold, drought tolerance in crops, *Plant Physiol*, 135: 615-621.

Zhu, J-K, 2003, Regulation of ion homeostasis under salt stress, *Curr Opin Plant Biol* 6:441-445.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı: Aşkım Hediye SEKMEN ESEN

Doğum tarihi ve yeri: 09/06/1977, İzmir

EĞİTİM

Lisans Biyoloji Öğretmenliği 1994-1998 Dokuz Eylül Üni.

Y. Lisans Biyoloji 1999-2003 Ege Üni.

ALDIĞI ÖDÜL VE BURSLAR

1998, Dokuz Eylül Üni. Buca Eğitim Fak. Biyoloji Öğretmenliği
Bölüm Birinciliği

2007, TÜBİTAK Doktora İçi Araştırma Burs Programı, California
University (Riverside), Science Faculty, Department of Plant Science (3 ay)

YAYIN LİSTESİ

Ardıç, M., **Sekmen, A.H.**, Tokur, S., Ozdemir, F. and Turkan, I.,
Antioxidant responses of chickpea plants subjected to Boron Toxicity, *Plant
Biology*, 2009 (in press)

Seckin B., **Sekmen A H.**, Turkan I., An enhancing effect of
exogenous mannitol on the antioxidant enzyme activities in roots of wheat
under salt stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2009 (in press).

Ardıç, M., **Sekmen, A. H.**, Tokur, S., Turkan, I and Ozdemir, F. The
effect of Boron toxicity on root antioxidant systems of two chickpea (*Cicer
arietinum* L.), *Plant and Soil*, 314 (1-2): 99-108, 2009.

Sekmen AH., Turkan I., Takio S. Differential responses of
antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant
Plantago maritima L. and salt-sensitive *Plantago media* L. *Physiologia
Plantarum*, 131:399-411, 2007.

Yazıcı I., Turkan I., **Sekmen A.H.** and Demiral T. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation *Environmental and Experimental Botany* 61(1): 49-57, 2007.

A.H. Sekmen, T. Demiral, Tosun N. Türküsay H., Türkan I., Effect of the plant activator on some physiological, characteristics and total protein content of tomato plants under salts stress. Ege University, *Faculty of Agriculture Journal* 42(1): 85-95 (Türkçe), 2005.

Türkan I., Demiral T., **Sekmen A.H.**, Tosun N., Türküsay H., Salts Stress and Plant Activators. Re-Defining Agronomy with Natural and Novel Solutions, International Agronomy Symposium of Improcrop, Istanbul, Turkey, March-April 02, 2005.

A.H. Sekmen, F. Ozdemir, I. Türkan, Effects of salinity, light, and temperature on seed germination in a Turkish endangered halophyte, *Kalidiopsis wagenitzii* (Chenopodiaceae) *Israel Journal of Plant Sciences*, Vol. 52, 2004 pp. 21–30, 2004.

I. Turkan, T. Demiral, **A. H. Sekmen**, N. Tosun, Abiotic Stresses and Plant Activators. In: Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium on Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Lyons T.P. and Jacques K.A. (eds.), Nottingham University Press. England, pp. 387-390, 2004.