

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DOMATES BİTKİSİNDE TUZ STRESİ

KOŞULLARINDA TOTAL RNA

MİKTARININ BELİRLENMESİ

Ali PEKTEZ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Burçin ÇOKUYSAL

Toprak Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 501.13.01

Sunuş Tarihi: 14.12.2009

Ali PEKTEZ tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “**Domates Bitkisinde Tuz Stresi Koşullarında Total RNA Miktarının Belirlenmesi** ” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 14/12/2009 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof.Dr. Burçin ÇOKUYSAL	
Raportör Üye	: Prof.Dr. Nevin ERYÜCE	
Üye	: Doç.Dr. Hülya İLBİ	

ÖZET
DOMATES BİTKİSİNDE TUZ STRESİ KOŞULLARINDA TOTAL RNA
MİKTARININ BELİRLENMESİ

PEKTEZ, Ali

Yüksek Lisans Tezi, Toprak Bölümü
Tez Yöneticisi: Prof.Dr. Burçin ÇOKUYSAL
Aralık 2009, 48 sayfa

Stres koşullarında, bitkilerde moleküler düzeyde gözlenen tepkilerin belirlenmesinde RNA izolasyonu ilk ve önemli aşamalardan biridir. RNA izolasyonunun yapılması ile Poly(A)⁺RNA, Northern Blot Hibridizasyonu, cDNA analizleri ile stres koşullarında üretilen proteinlerin özelliklerinin belirlenmesi mümkün olmaktadır. Bu çalışmalar ile bitkinin stres koşullarına adaptasyon ve tolerans mekanizması ile strese dayanıklılığı sağlayabilecek genler ortaya konabilir, yapısal özellikleri belirlenen stres proteinleri dışarıdan bitkilere uygulanarak stres koşullarına uyumlarının sağlanması ile ilgili araştırmalara zemin oluşturulabilir. Ancak tüm çalışmaların yapılabilmesi için yüksek saflıkta ve konsantrasyonda total RNA'nın izole edilmesi ön koşuldur.

Bu araştırma, günümüzde giderek artan tuzluluk problemi altındaki alanlarda yetiştirilen ürünlerden olan domates bitkisinin tuz stresi altında total RNA miktarında meydana gelen değişimin ve RNA izolasyon kitlerinin domates bitkisi örneklerinde kullanım olanaklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Deneme tam otomasyonlu topraksız tarım tekniğiyle üretim yapan sera koşullarında gerçekleştirilmiştir. İki farklı verime yatmış domates bitkisi sırasına sırasıyla 50 ve 100 mM NaCl çözeltisi, tuz stresi oluşturmak için 15 gün süre ile uygulanmış, diğer bir domates sırası ise kontrol amaçlı kullanılmıştır.

Araştırma sonucunda, denemeye alınan domates bitkilerinin uç yapraklarından bitki örneği alınmış ve total RNA analizleri, RNA izolasyon kitleri ile İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Laboratuvarlarında yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, kontrol grubuna göre 100 mM NaCl uygulanan örneklerde önemli bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Tuz stresi, total RNA miktarı, domates

ABSTRACT**TOMATO PLANTS OF THE SALT STRESS CONDITIONS TOTAL RNA
IN THE DETERMINATION OF QUANTITY**

PEKTEZ, Ali

MSc in Soil Science

Supervisor: Prof. Dr. Burçin ÇOKUYSAL

December 2009, 48 sayfa

Under stress conditions, RNA isolation is the first significant step as the molecular response. By RNA isolation, Poly (A)⁺RNA, Northern Blot Hybridization cDNA analysis, stress protein properties would be determined. Moreover, adaptation to stress conditions, the tolerance mechanisms, stress resistant genes, application of proteins could be studied. Moreover, the prerequisite is to isolate a highly concentrated and pure total RNA.

This research, today an increasing salinity problem in the area under the stress of the products that are grown tomato plants under the stress of the salt in the amount of total RNA, and the changes of the RNA isolation kit tomato plant samples to determine possible use is made of.

Experiment with fully automated production soilless agricultural techniques in the greenhouse conditions were conducted. 2 different plants during tomato yield was down to 50 and 100 mm NaCl solution, respectively for a period of 15 days was applied in order to control other tomatoes were used.

A result of research in the experiment received the tips of tomato plants from the leaves of the plant samples were taken and total RNA analysis, RNA isolation kits were made with the Izmir Institute of Technology laboratories. Obtained results, compared to the control group were significant in samples applied to 100 mm NaCl.

Key words: Salt stress, the amount of total RNA, tomato

TEŞEKKÜR

Bana bu konuda çalışma olanağı sağlayan, çalışmam boyunca beni her zaman destekleyen ve yol gösteren, fikir ve görüşlerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen değerli hocam **Prof. Dr. Burçin ÇOKUYSAL** 'a,

Araştırmada kullanılan RNA analiz kitlerini bedelsiz olarak temin eden MedSanTEk Laboratuar Hizmetleri San. Ve Tic. A.Ş.'ne ve **Genel Müdürü İbrahim SELÇUK**'a

Tezimin hazırlanması sırasında destek ve yardımlarını her zaman hissettiğim **arkadaşlarıma**,

Hayatım boyunca ve Yüksek Lisans öğrenimimin her safhasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili **aileme**, **amcam Kamil PEKTEZ**'e ve **yengem Aydeniz PEKTEZ**'e, teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
RESİMLER DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1 Tuzlulukla İlgili Çalışmalar.....	6
2.2 Tuz stresi ve RNA sentezi ile ilgili çalışmalar	9
3.MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem.....	16
4.BULGULAR VE TARTIŞMA.....	21
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	25
KAYNAKALAR DİZİNİ	27
ÖZGEÇMİŞ.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Kullanılan analiz kitine ait özet işlem basamakları	19
3.2. RNA örneklerinin saflığına ait absorbands değerleri skalası	20

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Türkiye’de Tuzlu Toprakların Dağılımı	2
2.1 Bazı kültür bitkilerinin tuza tolerans durumları	7
2.2. Farklı bitki doku ve yapraklarında izole edilen total RNA’lar ait absorbans değerleri	10
4.1 Örneklere ait total RNA değerleri.....	21
4.2. Uygulanan farklı tuz seviyelerinin Total RNA miktarı üzerine etkinliğine ait varyans analiz tablosu	22
4.3. Yapılan farklı uygulamalara ait LSD testi sonuçları.....	23

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
3.1.Deneme seralarının yerine ait harita	13
3.2.Denemenin yürütüldüğü sera.....	14
3.3.1.Deneme materyali olarak kullanılan Bandita F1	15
3.1.2.Analizlerde kullanılan bitki RNA kiti	15
3.1.3.İYTE Moleküler Biyolojive Genetik Bölümü Labotuarı	16
3.2.1.Denemenin kurulduğu iki sıra domates bitkisi	16
3.2.2.Gübre tankına tuz çözeltisinin uygulanması.....	17

1. GİRİŞ

Tuz ve su stresi dünya tarımında gittikçe daha büyük bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Tuz ve su stresinin bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla bugüne kadar tarla ve sera şartlarında pek çok denemeler yapılmıştır. Bitkilerin tuzluluğa tepkisini belirlemek amacıyla yapılan bu tip araştırmaların birçoğunda NaCl başlıca tuz kaynağı olarak kullanılmıştır (Greenway and Munns, 1980; Botella et al., 1994; Botella et al., 1997; Al Karaki, 2000).

Domates, Akdeniz ülkelerinin yarı-kurak bölgelerinde yetiştirilen önemli bir sera ve tarla bitkisidir. Bu bölgelerde, toprak ve sulama suyundaki tuzluluk domates üretiminde gerek verimi gerekse kaliteyi önemli oranda etkilemektedir. Tuz stresine toleranslı türlerin geliştirilmesi için birçok çalışma yapılmaktadır. Bazı türlerin genotipinde gerçek toleransı sağlayan genlerin bulunamaması, bir karakterin birçok gen tarafından kontrol ediliyor olması ve çok sayıda bitkide aynı anda gen taramasının yapılmasındaki zorluklar gibi nedenler bu alanda yapılan çalışmalarda başarı şansını azaltmaktadır. Çevresel stres koşulları bitkilerin tüm fizyolojik ve biyokimyasal unsurlarını etkilediği için, bugüne kadar yapılan çalışmalardan tarımsal ürünlerin tuz toleransının geliştirilmesinde birçok karakterin kombinasyonuna gereksinim duyulduğu anlaşılmaktadır (Sekmen vd., 2005).

Akdeniz gibi dünyanın yarı kurak bölgelerinde sulama için yeterli miktarda kaliteli su bulmak sorun olmaktadır. Bu durum aşırı oranlarda çözünebilir tuzlar içeren ve çoğunlukla klor bileşenli yer altı sularının kullanımına yol açmaktadır (Fernández-García et al., 2004). Türkiye’de Ege Bölgesinde yer altı suları %38.74 ve akarsular %29.34 oranında kullanılırken, Akdeniz Bölgesinde yer altı suları %26.63 ve akarsular %37.97 oranında kullanılmaktadır (Kendirli ve Çakmak, 2005). Ülkemizde üretim alanlarının değişik miktarlarda olmakla birlikte tuzluluk ve alkalilik tehlikesi altında bulunmakla birlikte sorunlu alanların yaklaşık %75’i tuzluluk tehlikesi altındadır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 Türkiye’de Tuzlu Toprakların Dağılımı (Sönmez ve Kaplan, 2004)

Sorunun Niteliği	Alan (ha)	Sorunlu Alanlara Göre %
Hafif Tuzlu	614617	41.0
Tuzlu	505603	33.0
Alkali	8641	0.5
Hafif Tuzlu-Alkali	125863	8.0
Tuzlu-Alkali	264958	17.5
Toplam	1518722	100.0

Tuzluluk; özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanarak yeraltı suyuna karışan çözünebilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun topraktan ayrılarak tuzun toprak yüzeyinde ve yüzeye yakın bölümünde birikmesi olayıdır (Prakash and Prathapasenan, 1988).

Tuzluluk, bitkinin morfoloji ve anatomisini de içine alan bütün metabolizması için etkili bir faktördür. Bitkilerde görülen en önemli tuz zararı büyüme ve gelişmenin engellenmesidir. Tuz stresi, toleransa bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroz ve nekrotik lekelerin oluşmasına yol açabilmekte, verim ve kaliteyi azaltarak ani ölümlere neden olabilmektedir. Tuzlu koşullar altında azalan bitki büyümesini etkileyen en önemli faktörler toprak çözeltisindeki düşük su potansiyelinin teşvik ettiği “fizyolojik kuraklık”, bitkilerdeki düşük su potansiyeli, düşük nispi turgorite ve hücrelerde iyon konsantrasyonunun artması sonucunda bitkilerde meydana gelen ozmotik düzenlemedir. Tuzlu koşullarda meydana gelen bu değişiklikler hormonal dengesizliklere, stoma açılımının ve CO₂ alımının azalmasına, transpirasyon kaybına, kloroza ve büyümenin azalmasına neden olmaktadır. Tuz tolerans bakımından bitkiler arasında familya, cins ve türler arasında farklılıklar bulunduğu gibi, aynı türe ait çeşitler arasında da tuza tolerans yönünden ayrımların bulunduğu bilinmektedir (Turhan vd., 2005).

Yetiştirilen bitkinin veriminde görülecek azalmalar, çözeltinin konsantrasyonuna bağlı olduğu kadar, bitkinin tuza dayanımı ile de ilgilidir. Tuza dayanımı fazla olan bitkiler yüksek tuzluluklarda bile verimde önemli azalmalar oluşturmazken, tuza dayanımı fazla olmayan bitkiler düşük tuzluluklarda bile önemli azalmalar gösterebilir (Aubert et al., 1999). Bitkilerin tuza dayanımları, iklim koşulları, toprağın nem durumu, tuz çeşidi ve ortamdaki diğer tuzlara göre oldukça farklılık göstermektedir. Bitkilerin tuza olan toleranslarının göstergesi kök bölgesindeki

eriyebilir tuzların belli seviyesi için tahmin edilen verim azalmasıdır. Bu verim tuzsuz koşullar altında elde edilen verimle kıyaslanır. Böylece oransal verimler elde edilir.

Tuzlu şartlarda ortamın osmotik basıncı arttığından su alımını engellemekte ve buna bağlı olarak da çimlenmeyle ilgili metabolik olaylar başlatılamamaktadır (Edreva, 1998). Tuzun büyüme ve gelişme üzerine olumsuz etkisi çimlenme döneminde en fazladır (Salisbury and Rose, 1992). Birçok araştırmacıya göre tuzlu şartlarda büyütülen bitkilerde bir taraftan toplam yaprak alanı azalırken (Levitt, 1972), bir taraftan da stomaların kapanmasıyla fotosentez hızı yavaşlar (Polijakoff and Gale, 1975). Bütün bu etkiler bir araya gelince, bitki büyüme ve gelişmesi genel anlamda olumsuz etkilenir ve bazı hallerde bitki hayat devresini tamamlamadan ölür. Uzun yıllar tuzun büyüme ve gelişme üzerindeki olumsuz etkisi fizyolojik kuraklık olarak ortaya çıktığı kabul edilmiştir (Levitt 1980). Fakat yapılan bazı çalışmalar bitkilerin kültür ortamında artan osmotik basınca bir miktar uyum gösterdiği ve böylece tuzun zararlı etkisine kısmen karşı koyduğu anlaşılmıştır (Ali et al., 1999).

Çoğunlukla hücresel düzeyde oksidatif bir zararlanma olarak ortaya çıkan tuz stresi, kurak ve yarı kurak bölgelerde verimi etkileyen önemli bir faktördür (Gadallah, 1999; Özdemir 1995). Tuza karşı gösterilen tepki bakımından bitki türleri ve çeşitleri, hatta organları arasında fizyolojik ve metabolik değişimler bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır (Awank et al., 1993). Genotipe bağlı olarak farklı şiddetlerde ortaya çıkan tuzdan etkilenme derecesi, tuz stresi altında geliştirdiği metabolik değişimlere bağlıdır. Bitkilerdeki bu değişik tepkiler incelenerek, tuzluluğa karşı tolerans gösteren bitkilerin seçimleri için bazı kriterler geliştirmek olasıdır (Luna et al., 1994; Perez-Alfocea et al., 1996). Çeşitli inorganik iyonların ve osmoregülatör olarak görev yapan değişik organik maddelerin birikimi (Hamada et al., 1992; Çiçek, 1999) yapraklardaki fotosentetik aktivitelerin belirlenmesi (Sharma and Hall 1992, Babourina vd. 2000) hücre zarı geçirgenliğinde ortaya çıkan zararlanma (Ashraf 1994, Salama et al., 1994) kuru madde stres indeksi (Ashraf et al., 1996), yaprak sayısı, iyon miktarı, potasyum seçiciliği (Cuartero et al., 1992) strese toleranslı bitkilerin seçiminde kullanılabilecek parametreler arasındadır. Domates türlerinde yapılmış çalışmalarda, tüm bu fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ve başka bazı özellikler incelenerek, tuza tolerans bakımından genotip düzeyinde farklılıklar bulunduğu belirlenmiştir (Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994).

Bitkiler tuz stresinin üstesinden gelmek için değişik moleküler ve biyokimyasal mekanizmalar geliştirmiştir. Biyokimyasal yollar tuz stresinin geliştirdiği eklemeli ve muhtemelen sinerjistik olarak etki eden ürünlere ve proseslere etki yapar (Iyengar and Reddy,1996). Biyokimyasal stratejiler; kabul etmeme, kökler tarafından iyon alınımının kontrolü ve yapraklara transportu, hücrel ve tüm bitki düzeyinde iyonların belli bölgelerde tutulması, uyumlu bileşiklerin sentezi, fotosentetik yolda değişme, membran yapısında değişme, antioksidan enzimlerin indüklenmesi bitki hormonlarının indüksiyonunu içerir (Parida ve Das, 2005).

Tuz tolerans mekanizmaları basit ya da karmaşık olabilir. Basit mekanizmalar biyokimyasal yolların farklılaşması şeklinde oluşur. Yüksek komplekslik gösteren mekanizmalar ise fotosentez ve respirasyonda (Botella et al., 1994); kromatin ve kromozom yapısında meydana gelen önemli proseslerdeki değişiklikleri kapsar (Walbot and Cullis, 1985).

Stres altındaki canlıların genelinde olduğu gibi bitkilerde de stres karşısında serbest oksijen radikallerini zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidant miktarları ve antioksidant enzim aktiviteleri yüksek olduğunda, o bitkiler oskidatif zararlanmaya karşı daha dayanıklı olmaktadırlar. Bitkideki kloroplastlar, toksik oksijen türevlerine karşı antioksidatif savunma sistemlerine sahip olup, bu antioksidantların başında vitamin E, vitamin C, glutatyon ve karotenoidler (beta-karoten ve zeaxanthin) gelmektedir (Karanlık, 2001). Süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) gibi enzimler serbest oksijen radikallerinin yok edilmesinde en etkin antioksidatif enzimler olarak bilinmektedirler (Çakmak ve Marschner, 1992; Cakmak, 1994; Gossett et al., 1994).

Son yıllarda bitki fizyologları ve ıslahçıları, kültür bitkileri çeşitlerinin tuza dayanıklılık açısından varyasyonlarına eğilmiş ve saptadıkları farklılıklardan yararlanarak, tuza dayanıklı çeşitler ortaya koymuşlardır (Maas and Hoffman 1977; Edreva, 1998). Bitki fizyologları ise bu dayanıklılığın moleküler temellerini açıklamaya çalışmakta (Salisbury and Ross, 1992) ve bitkilerin tuz, vb stres faktörlerine dayanıklılıkta iki yol izlediklerini, ilkinin "Kaçınma" olduğunu açıklamaktadır. Bu amaçla bitkiler, yapılarında morfolojik ve kimyasal değişiklikler gerçekleştirmektedirler. İkinci dayanıklılık mekanizması ise "Tolerans" dır, yani stres faktörünün etkisini azaltma çabasıdır ve bu amaçla hücre ve doku seviyesinde değişiklikler gerçekleştirilir. Örneğin, hücre duvarlarının güçlendirilmesi (membran

dayanıklılığı), sekonder metabolit üretimi ve prolin gibi stres proteinlerinin sentezlenmesi bunların başında gelmektedir. Bitkilerin, kök bölgesindeki tuz (NaCl) yoğunluğu, Na^+ 'un yapraklarda birikerek klorofil moleküllerinin Mg^{++} ile yer değiştirmesini ve klorofillerin yapısını bozarak kloroz ile sonuçladığı bilinmektedir (Avcıoğlu ve Gürel, 2000). Benzer koşullarda ve yine aşırı Na^+ yoğunluğunda, bir stres proteini olan prolin'in hücrelerde üretimi ve birikimi artmaktadır (Soldatini and Gianni, 1985). Tuz stresine dayanıklılığın önemli bir göstergesi olan "Zar Dayanıklılığı" da, stres koşullarında bitki dokularında açığa çıkan serbest iyon miktarını saptayarak ölçülebilmekte, bu açıdan doku ekstraksiyonlarının elektriksel geçirgenliğini, mmhos/cm cinsinden ölçmek en sağlıklı göstergeyi oluşturmaktadır (Polijakof–Mayber and Gale, 1975).

Bu araştırma, iki ana amaca yönelik temel problemin çözüme ulaşmak için tasarlanmıştır. Araştırmanın birinci temel amacı, tuz stresi koşullarında domates bitkisinin vermiş olduğu moleküler düzeyde tepkilerden önemli bir tanesi olan total RNA sentezinin ortaya konmasında konvansiyonel analiz yöntemlerinin (Çokuysal, 2000; Liu ve ark., 2005; Çokuysal ve ark., 2006) komplike olması, zaman alması, bitkilerin polisakkarit içeriklerine bağlı olarak tüm bitkiler için elverişli olmaması nedenleriyle daha pratik ve hassas sonuçlar verebilecek bir analiz kiti yapılabilirliğinin ortaya konmasına yöneliktir. İkinci olarak ise, tuz stresi etkisiyle ortaya çıkan ve stresin moleküler seviyede tepkisini ortaya koymada önemli bir gösterge olan total RNA miktarı belirlenmeye çalışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu bölümde önceki çalışmalar; tuzluluk, tuz stresi ve RNA sentezi olmak üzere 2 başlık altında sınıflandırılmıştır.

2.1. Tuzlulukla İlgili Çalışmalar

Tuzluluk bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan en önemli çevresel etmenlerden biridir. Yüksek tuzluluğun bitkiler üzerindeki zararlı etkileri bitkinin ölümü ve/veya üretimin düşmesi şeklinde gözlenebilir. Birçok bitki türü ya hücrelerine tuzu almayarak ya da tuzu hücre içinde tolere edecek mekanizmalar geliştirmişlerdir. Tuz stresi etkisinde fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması etkilenir. Tuz stresi biyolojisi ve bitkilerin yüksek tuza karşı gösterdikleri tepkiler geçen yirmi yıl boyunca araştırmacılar tarafından tartışılmıştır. Bu araştırmalarda tuz stresinin fizyolojik ve biyokimyasal etkileri ile bitkilerin tuz stresine karşı göstermiş oldukları tolerans mekanizmaları detaylı olarak araştırılmıştır (Parida and Das, 2005).

Romero-Aranda et al., (2001) *L. esculentum* çeşidiyle yaptıkları çalışmada, 2 ay süre ile 35 ve 70 mM NaCl stresi uygulanan domates bitkilerinin stoma iletkenliğinde önemli bir azalma bulmuşlardır. Benzer şekilde, Sekmen vd., (2005) 100 mM NaCl stresi uygulanan domates fidelerinin stoma iletkenliğinde önemli bir azalma görüldüğünü bildirmişlerdir.

Turhan ve Eriş (2004) Camarosa çilek çeşidi ile yaptıkları çalışmada, değişik konsantrasyonlardaki (0, 500, 1000 ve 2000 mg/l NaCl) tuz uygulamalarının bitkinin iyonik ve morfolojik kompozisyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmada, NaCl artışına bağlı olarak bitkide ciddi zararların olduğu, yapraklarda Na, Cl, Ca ve Mg artışına karşılık K ve P azaldığını saptamışlardır. Tuz uygulamalarının bitki kökünde Na ve Cl miktarını artırırken K ve Mg miktarını azalttığı, Ca ve P miktarına etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Tuza tolerans bakımından bitkiler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Aile, cins ve türler arasında farklılıklar bulunduğu gibi, aynı türe ait çeşitler arasında da tuza tolerans bakımından farklılıkların bulunduğu bilinmektedir. Çizelge 2.1'de bazı kültür bitkilerinin tuza karşı gösterdikleri tolerans durumları gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Bazı kültür bitkilerinin tuza tolerans durumları (Knott, 1996; Maas and Hoffman, 1977)

Tolerant EC 5-10 dSm⁻¹	Orta Derecede Tolerant EC 3-5 dSm⁻¹	Duyarlı EC 1.5-3 dSm⁻¹
TARLA BİTKİLERİ		
Arpa, Şeker Pancarı, Darı, Pamuk, Buğday	Yer Fıstığı, Mısır, Çeltik, Şeker Kamışı, Ayçiçeği, Soya Fasulyesi	Mercimek, Bezelye, Susam
MEYVELER		
Hurma	Armut, İncir, Asma Nar, Guava	Elma, Turunçgiller Şeftali, Ahududu Çilek, Kayısı
SEBZELER		
Ispanak, Kırmızı Pancar Kabak, Kuşkonmaz Baş Salata, Kereviz, Karpuz	Lahana, Patates, Domates Karnabahar, Tatlı Patates, Kavun, Hıyar, Biber	Fasulye, Turp, Havuç, Soğan

Doğan vd., (2008) 22 yerli (*Lycopersicum esculentum*), 3 adet yabancı (*Lycopersicum peruvianum*, *L. pennellii*, *L. hirsutum*) olmak üzere toplam 25 çeşit domates tohumu ile yaptıkları çalışmada, tohumları 0, 50, 75, 100, 125 ve 150 mM tuz (NaCl) stresi altında 15 gün çimlenmeye bırakılarak fizyolojik özellikler bakımından bir sınıflandırmaya tabi tutmuşlardır. Tohumlar tuz toleransına en duyarlı olabilecekleri çimlenme devresinde, çimlenme yüzdesini esas alarak incelemişler, tolerans sınırları içerisinde tuzluluğun çimlenme yüzdesine ne şekilde etki ettiği araştırarak elde edilen sonuçları değerlendirmişlerdir. Literatürden tuza dayanıklı olduğu bilinen yabancı genotiplere en çok benzerlik gösteren yerli türler dayanıklı, en çok farklılık gösteren türler ise hassas olarak belirlemiş, domates çeşitlerinde maksimum tuz konsantrasyonu toleranslı genotiplerde 125–150 mM NaCl ortamında, hassas genotiplerde ise 50-75 mM NaCl ortamda tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada domates genotiplerinde çimlenmeyi kontrole göre % 60 azaltan konsantrasyon 100 mM ile 150 mM arasında değerler olarak belirlenmiştir. Kullanılan domates genotipleri için 150 mM NaCl'den yüksek dozlar çimlenme için toksik olarak belirlenmiştir.

Akıncı (2000) yaptığı bir araştırmada farklı patlıcan çeşitlerinin çimlenme dönemindeki tuza tepkilerini incelemiştir. Denenen farklı tuz uygulamaları içerisinde, 0 ve 50 mM NaCl dozlarının çimlenme oranı ve süresi; sürgün ve kök boyu ile bitki yaş ağırlığı için oransal büyüme hızı özelliklerine olumlu; artan tuz düzeylerinin de (100 ve 150 mM) olumsuz etkide bulunduğunu saptamıştır.

Yetiştirme ortamının tuz yönünden sorunlu olması birçok olumsuz etkiyi de beraberinde getirir. Bu olumsuz etkiler içinde, enzim aktivasyon bozukluğu, besin dengesizliği, membran disfonksiyonu, genel metabolik süreçte aksamalar, ozmotik uyumsuzluk ve su alımında dengesizlik, oksidatif stres ve genel gelişim yetersizliği olarak sıralanabilir (Orcutt and Nilsen, 1996). Mısır bitkisi de tuzluluğa duyarlı bir bitki olup, yetiştirme ortamının elektriksel geçirgenlik değeri 5.9 dS m^{-1} değerinin üzerine çıktığında ürünlerdeki azalma yaklaşık olarak %50'ye ulaşabilmektedir (Orcutt and Nilsen, 1996). Tuzlu topraklarda yetiştirilen bitkilerde, ürünlerdeki azalışa neden olarak topraktaki artan ozmotik potansiyelden dolayı bitkinin suyu yeterince kullanamaması veya tuzlu topraklarda aşırı miktarda bulunan sodyum (Na) ve klor (Cl) gibi iyonların neden olduğu toksik etki ve iyon dengesindeki bozulmalar gösterilmektedir (Taban vd., 1999; Ebrahimzadeh et al., 2000; Essa, 2002). Çiçek ve Çakırlar (2002) çalışmalarında tuz stresine maruz bırakılan mısır bitkisinde, bitki boyu, nispi su içeriği ile toplam yaş ve kuru ağırlıklarda azalma saptarken, prolin, Na ve Na/K oranlarında artma rapor etmişlerdir. Yine Azevedo Neto et al., (2004) tarafından mısır bitkisi kullanılarak yapılan bir çalışmada, tuz stresine maruz bırakılan bitkinin yaprak ve köklerin Na içeriği arttıkça potasyum (K) içeriğinin düştüğü, yaprak su potansiyeli ve transpirasyon yeteneğinin özellikle tuza hassas çeşitte bozulduğu bildirilmiştir.

Saied et al (2005) Elsanta ve Korana çilek çeşitleri ile yapmış oldukları çalışmada $0,3 \text{ dS m}^{-1}$, $2,6 \text{ dS m}^{-1}$ ve $5,1 \text{ dS m}^{-1}$ elektrik iletkenliğine sahip tuz çözeltileri ile bitkileri sulamışlar ve etkisini incelemişlerdir. Araştırmada, tuz çözeltisinin uygulanmasının Koronada %44'e ve Elsantada %90'a kadar bitki gelişimini azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca, her iki çilek çeşidinde Na içeriğinin tüm tuz seviyelerinde 3 mg/g kuru ağırlığın altında olmasından dolayı çilek bitkisinin bir Na atıcı olduğu ileri sürülmüştür. Klor miktarının Elsantada en fazla yaprak sapında bulunmasına karşın, Koronada çiçek taçlarında ve köklerde tutulduğu da saptanmıştır. Tuz stresinin Koronada %27'ye ve Elsantada %74'e kadar meyve verimini azalttığı belirlenmiştir.

2.2. Tuz stresi ve RNA Sentezi İlgili Çalışmalar

Hızla artan dünya nüfusunun 2050 yıllarında 6 milyar daha fazla olacağı beklenirken, bu nüfusu besleyebilecek olan tarımsal üretim alanları da çeşitli nedenlerle azalırken mevcut üretim alanları büyük ölçüde tuz, soğuk ve kuraklık stresi altında tarımsal üretim potansiyelini olumsuz olarak etkilemektedir (Parida ve Das, 2005; Majahan ve Tuteja, 2005). Tüm dünyada 230 milyon ha olan sulanabilir tarım alanlarının %20'si tuzluluk problemi ile karşı karşıya bulunurken, ülkemizde sulanabilir tarım alanlarının %40'ı orta ve yüksek seviyede tuzluluk tehdidi altındadır (FAO, 2006).

Stres faktörlerine bitkilerin moleküler düzeyde gösterdikleri tepkilerden en önemlisi, hücresel faaliyetlerini azaltma yada durdurma yanında, normal koşullarda gözlenmeyen ikincil bileşikler, polisakkaritler ve strese özel proteinlerin üretimidir (Edreva, 1998). Bitkilerde stres koşullarında üretilen özel proteinlerinin, Differential Display (DD) analiz yöntemleri ile belirlenmesinde RNA'dan cDNA'nın izole edilmesi gereklidir ve birçok fizyolojik durum karşısındaki gen anlatımı DD ile tespit edilmektedir. Ultraviyole, yüksek sıcaklık, oksijen ve tuzluluk gibi çevresel faktörlerden etkilenen stres cevabından sorumlu genler DD ile izole ve karakterize edilebilmişlerdir (Yamazaki ve Saito, 2002). Ancak analizlerde kullanılacak olan ekstrakte edilmiş RNA'nın yüksek saflıkta, bozulmamış ve konsantrasyonun yeterli olması gerekmektedir (Arda, 2007, Montagu, 1987).

Bitkiler, stres koşullarında normal hücresel faaliyetlerini minimize ederek, karşılaşılan strese tolerans ve dayanıklılık mekanizmalarını devreye sokar. Bu amaca yönelik olarak, strese özel proteinlerin üretilmesi için, hücre çekirdeğinde bulunan DNA zincirindeki bu proteini kodlayacak gene ait olan kısım açılır, RNA (hnRNA-heteronükleer RNA) bu kısmın bir kopyasını alır ve çekirdek içerisinde işlendikten sonra poly(A)⁺RNA oluşturularak ribozomlarda strese özel proteinin oluşumu gerçekleştirilir. Uygun yöntem ve saflıkta izolasyonu yapılan total RNA'dan elde edilen Poly (A)⁺RNA'dan Differential Display analiz tekniği ile cDNA (RNA'dan reverse transcriptase enzimi yardımı ile DNA'nın kopyasının sentezi) stres tarafından teşvik edilen hücrelerde spesifik anlatım yapan genler izole edildikten sonra klonlanabilir. Ayrıca genlerin transkripsiyon düzeyinde iken analizlerini yapmada, doku ve organlardaki mRNA belirleme gibi işlemler için kullanılan Northern Blot Hibridizasyonu için elde edilen total RNA'lar kullanılabilir. Ancak tüm bu işlemlerin

istenen bitkide yapılabilmesi için yüksek saflıkta ve konsantrasyonda total RNA'nın izole edilmesi ön koşuldur (Çokuysal vd., 2006; Gehring et al., 2000).

Bitkilerde gerek total RNA'yı ve gerekse diğerlerini (viral RNA, mRNA) izole etmede ve saflaştırmada birçok analiz yöntemi geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Hepsinde de ortak ve önemli nokta RNA'ların DNA ile kontaminasyonunu önlemek, Ribonükleaz enzim aktivitesi ile RNA'ların bozulmasını engellemek ve örneklerin polisakkarit içeriklerine bağlı olarak uygun analiz yönteminin oturtulması yönündedir (Chirgwin et al., 1979; Çokuysal, 2000; Liu et al., 2005; Çokuysal vd., 2006).

Daohong et al. (2004), Yüksek seviyede fenolik bileşikler ve karbonhidrat içeren bitkilerde total RNA analiz yöntemi üzerinde yaptıkları çalışmada; RNase enzim aktivitesinin inhibe edildiği koşullarda daha yüksek saflıkta RNA izolasyonu yapılabileceğini bildirmişler ve bitkiye özel belirlenen analiz yönteminin gerekliliğini bildirmişlerdir.

Tuz stresinin bitkilerde RNA miktarı ve moleküler düzeyde tepkilerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde genellikle kısa süreli sera ve saksı denemelerinin, doku kültürü ve hücre süspansiyon kültürü çalışmalarının yoğunlukla kullanıldığı gözlenmiştir (Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz, 1998; Jacoby, 1999; Çokuysal, 2000; Zhu, 2002; Katerji et al., 2003; Yamaguchi and Blumwald, 2005).

Kiefer et al. (2000) yaptıkları çalışmada belirlenen RNA'nın konsantrasyon ve saflığını 260/280 absorbans (A) değerlerinin ölçülebildiği bir UV spektrofotometre ile belirlemişlerdir (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Farklı bitki doku ve yapraklarından izole edilen total RNA'lara ait absorbans değerleri (Kiefer et al. 2000)

Bitki	Doku	A _{260/280}
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Yaprak	2.0
<i>Hordeum vulgare</i>	Yaprak	2.0
<i>Lycopersicum esculentum</i>	Yaprak, Meyve	2.0
<i>Solanum tuberosum</i>	Yaprak	2.0
<i>Phaseolus tuberosum</i>	Kök	1.6
<i>Nicotina tabaccum</i>	Yaprak	2.0

Vanharler et al., (2002) NanoDrop ND1000 spektrofotometresi ile yaptıkları çalışmada saf RNA örneklerine ait A260/280 absorbans okuma oranının 2.1 olduğunu bildirirken, 1.8-2.0 arasında belirlenen değerlerinde saf RNA örneği olduğunu, bu değerlerden düşük yada yüksek olarak belirlenen oranların örneklerde protein, fenol kalıntısı ve RNA'nın RNase enzimi nedeniyle bozulmuş olabileceğini açıklamışlardır.

Qiagen (2006) referans notlarında Brandstadter et.al (1993)'e atfen normal koşullar altında yetiştirilen domates bitkisi için 100 mg taze yaprak örneklerinde belirlenen RNA miktarını $65 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, mısırdaki $25 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, tütünde ise $60 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ belirlenebilirken çeşit özellikleri, bitkinin büyüme durumu ve yetiştirme ortam koşullarına bağlı olarak değişim gösterebileceği bildirilmiştir.

Çokuysal (2006) yapmış olduğu çalışmada standart yöntemle yapılan RNA analiz yönteminde total RNA izolasyonunun 2 gün sürdüğünü ve 30'dan fazla işlem basamağına sahip olduğunu, bu nedenle uzun zaman alan ve karmaşık işlem basamaklarına sahip analiz yöntemi yerine uygun analiz kitlerinin kullanılmasının analizlerde kolaylık sağlayacağını bildirmiştir. Benzer şekilde Keifer et al. (2000) standart analiz yöntemi veya analiz kitleri içinde bitkilerin farklılıklarına göre yada belli modifikasyonlar yapılması gerektiğini ya da uygun analiz kitlerinin kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Azevedo et al., (2004) standart RNA analiz yönteminde yüksek saflıkta RNA elde edebilmek için RNase enziminin mutlak surette elimine edilmesi gerektiğini bildirmiştir. Bu nedenle analizde kullanılacak çözeltilerin DEPC (diethyl pyrocarbonate) uygulanmış su ile hazırlanması ve otoklavlanması gerektiğini, tüm cam malzeme ve havanın 4 saat boyunca 180°C 'de tutulması gerektiğini ve bu malzemelerin hiç birine eldivensiz dokunulmaması gerektiğini bildirmişlerdir.

Bertrand et al., (2008) 16 saat aydınlık ve 25°C , 8 saat karanlık ve 18°C koşullarda yetiştirdiği domates bitkisinin yapraklarında karatinoidlerin birikimini inceledikleri çalışmalarında standart RNA analiz yöntemini kullanarak total RNA miktarını belirlemişlerdir.

Portillo et al., (2006) domates bitkisinde 3 farklı homojenizasyon yöntemi ve guanidine isothiocyanate içeren 3 farklı ayracın kombinasyonunu deneyerek elde edecekleri RNA'nın saflık ve miktarına etkilerini incelemişlerdir. Farklı homojenizasyon teknikleri ile farklı ticari ekstraksiyon ayracının kombinasyonunun

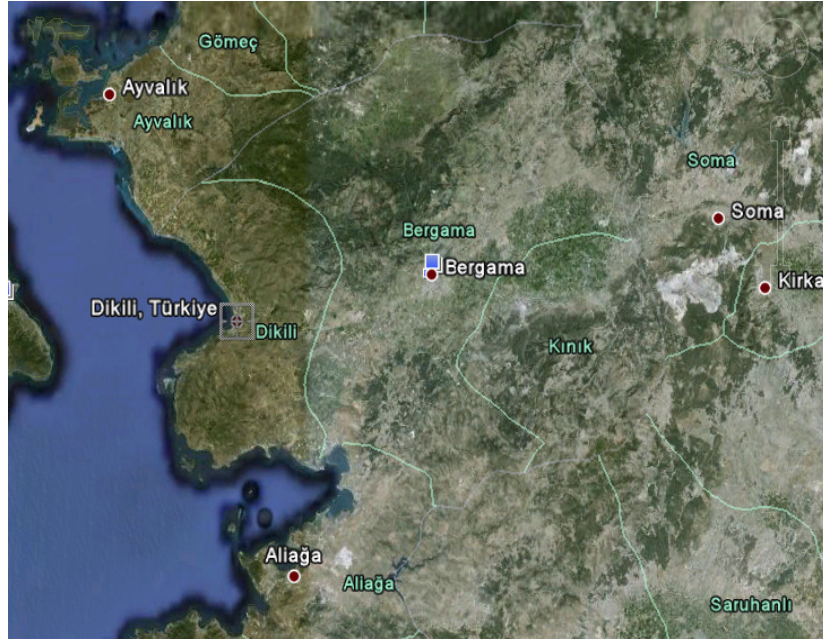
denendiği bir çalışma olması açısından önemli olan araştırmanın sonucunda RNA miktar ve kalitesi üzerine istatistiki olarak önemli seviyede etkin olduğu sonucuna varılmıştır.

Sahu and Shaw (2009), doğal bir halofit olan *Sueada maritima*'ya 425 mM NaCl uygulanan bitki yapraklarından alınan örneklerde LiCl metodu ile yaptıkları total RNA analizinde elde ettikleri RNA'nın saf ve mRNA elde edebilecek ve cDNA prepasyona yetecek miktarda izolatlar verdiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma 2008 yılı içerisinde, İzmir Dikili bölgesinde faaliyet gösteren Akcelep Star Seracılık firmasına ait 30000 m² büyüklüğünde serada gerçekleştirilmiştir. Bu bölümde, araştırmada kullanılan materyal ile çalışmada kullanılan yöntemlere ilişkin bilgiler verilmiştir. Araştırmanın yapıldığı yere ait harita ve seralara ait görüntü Resim 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.

Resim 3.1. Deneme seralarının yerine ait harita (Google Earth)



Resim 3.2. Denemenin yürütüldüğü sera (www.akcelep.com)



Kullanılan seralar, oluk altı 5 metre, mahya yüksekliği 7 metre ölçülerinde, Hanging Gutter sistemi ile kurulmuştur. Jeotermal ısıtmalı, yüksek ışık geçirilebilme ve ışığı homojen dağıtabilme özellikleri olan uluslararası standartlarda bir örtüye sahip ve Hooqeendorn tam otomasyon düzeni ile çalışmaktadır.

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak; denemenin gerçekleştirildiği serada üretim sezonu boyunca yetiştiriciliği yapılan Bandita F1 domates çeşidine ait bitkiler kullanılmıştır.

Çeşit olarak kullanılan Bandita F1 çeşidi ülkemizde topraksız tarım tekniğiyle üretim yapılan seralarda yaygın olarak kullanılan orta erkenci, sırk domates çeşididir. Ege ve Akdeniz Bölgesi için önerilen, sofralık tüketime uygun ve ihracatta aranan niteliklere sahip olan bu çeşit 14.07.2004 tarihinde İstanbul Tarım adına ticari olarak tescil edilmiştir (Şeniz vd., 2006). Çeşide ait görüntü Resim 3.1’de verilmiştir.

Resim 3.1.1. Deneme materyali olarak kullanılan Bandita F1 (www.istanbultarim.com)



Araştırmanın laboratuvar çalışmalarında kullanılan ve Qiagen firması tarafından üretilen bitki RNA izolasyon kitleri ve set halindeki çözeltiler Medsantek Laboratuvar Malzemeleri san. Tic. Ltd. Şti'nden tedarik edilmiştir (Resim 3.1.2).

Resim 3.1.2. Analizde kullanılan bitki RNA kiti (www.qiagen.com)



Araştırmanın laboratuvar çalışmaları İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiş ve laboratuvara ait görüntü Resim 3.1.3'te verilmiştir.

Resim3.1.3. İYTE Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarı



3.2. Yöntem

Deneme Resim 3.2.1'de verilen iki sıra domates bitkisi üzerinde kurulmuştur. Tuz konsantrasyonu NaCl kullanılarak 50 ve 100 mM olacak şekilde hazırlanmıştır. Stres 120 günlük domates bitkilerinde 15 gün süre ile uygulanarak yaratılmıştır (Resim 3.2.2). Diğer bir bitki sırası ise kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Resim 3.2.1. Denemenin kurulduğu iki sıra domates bitkisi



Resim 3.2.2. Gübre tankına tuz çözeltisinin uygulanması



15. gün sonunda örnekler, bitkilerin üstteki çiçek salkımlarının karşısındaki uç yapraklarından, her tekrarlardan olacak şekilde alınmış ve her tekrar laboratuvarında 2 paralelli analiz edilmiştir. (Kacar ve Katkat, 2007; İbrikçi ve ark., 2004).

Denemede yetiştirime ortamının homojen, ısı, ışık, havalanma gibi diğer çevresel faktörlerin standart olması nedeniyle denemenin istatistiksel modeli tesadüf parselleri deneme desenine uygun olarak planlanmıştır (Little and Hills, 1978). Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri de Yurtsever (1984)'e göre hesaplanmıştır.

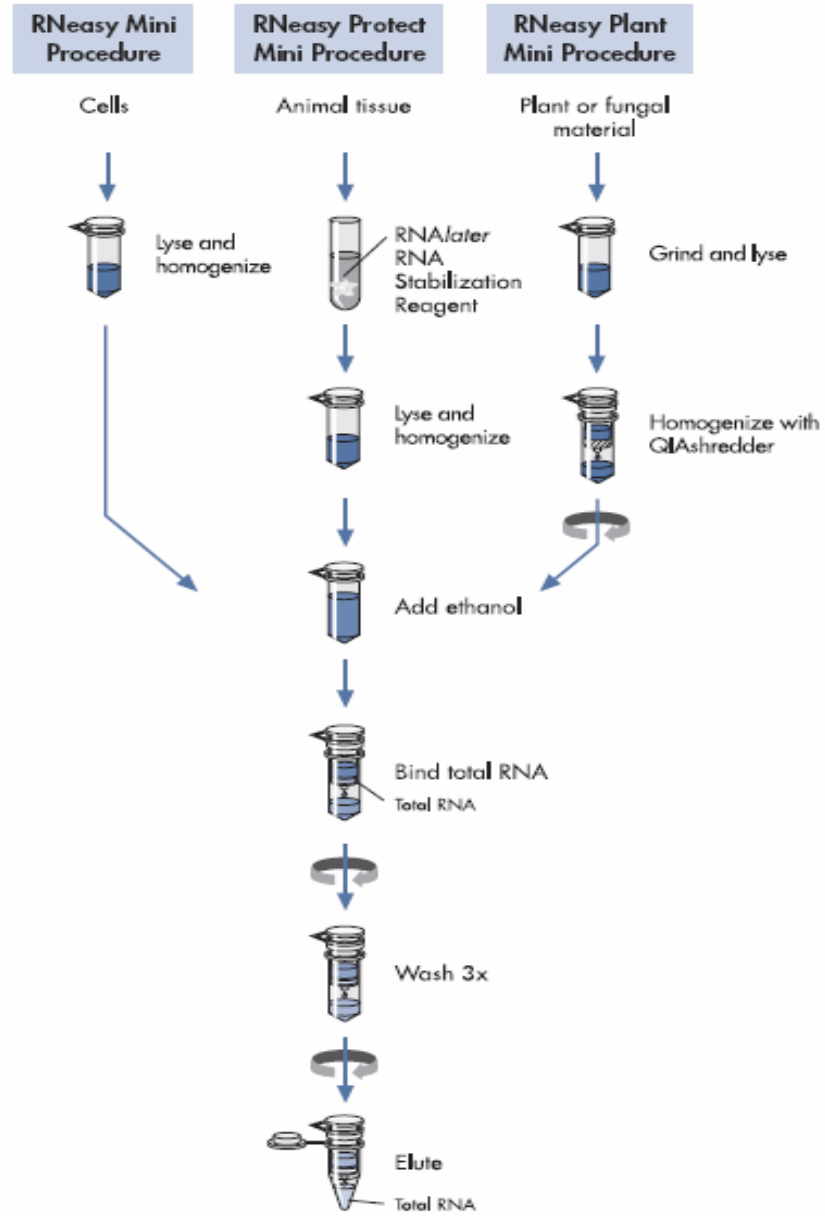
Taze olarak alınan bitki örneklerinde total RNA belirleme işlemi için Qiagen firması tarafından üretilen Plant Mini Kit (Qiagen 2007) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu protokole göre total RNA analizinin aşamaları aşağıdaki işlem basamakları takip edilerek tamamlanmış ve firma tarafından Resim 3.3.3'te gösterilen şekilde özetlenmiştir.

100mg ağırlığındaki bitki örneği hassas terazi yardımıyla tartılarak alınır. Alınan bitki örneği sıvı azotla porselen havanda parçalanır.

- Tamamen parçalanıp beyaz renk almış örnek hızlı bir şekilde 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılır.
- Örnek üzerine 1 ml Lysis Buffer + 10 µl merkaptotanol ilave edilir , karışım vorteks yardımıyla titretme işlemine tabi tutularak karışması sağlanır.
- 3 dakika beklendikten sonra 1200 devir/dk olacak şekilde 5 dakika santrifüj işlemine tabi tutulur.

- Santrifüj işleminden sonra tüpün üst kısmında kalan örnek yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Örnek üzerine 500 µl etanol (%100-96) ilave edilir ve vorteks yardımıyla karışması sağlanır
- Örnek 1200 devir/dk olacak şekilde 15 saniye santrifüj edilir. Bu işlem tüpün üst kısmında kalan örnek alınıp 500 µl etanol ilavesiyle birkez daha tekrar edilir.
- Santrifüj işleminden sonra yıkama aşamasına geçilir. Santrifüj tüpünün üst kısmında kalan örnek pipet yardımıyla alınıp yıkama tüpüne (wash tube) aktarılır. Örnek üzerine 700 µl Wash Buffer 1 ilave edilerek 1200 devir/dk olacak şekilde 15 saniye santrifüj işlemine tabi tutulur.
- Santrifüj edilen örneğin yıkama tüpünün üst kısmında kalan miktarı yeni bir yıkama tüpüne aktarılarak üzerine 500 µl Wash Buffer 2 eklenir. Örnek 1200devir/dk da 15 saniye santrifüj edilir. Bu işlem bir kez daha tekrar edilir.
- Kurutma işlemi için örneğin tüpün üst bölümünde kalan kısmı 1200 devir/dk da 1 dk santrifüj edilir.
- Kurutma işleminin ardından örnek Recovery tüpüne aktarılıp üzerine 60 µl destile su ilave edilerek 1200 devir/dk da 1 dk santrifüj edilir.

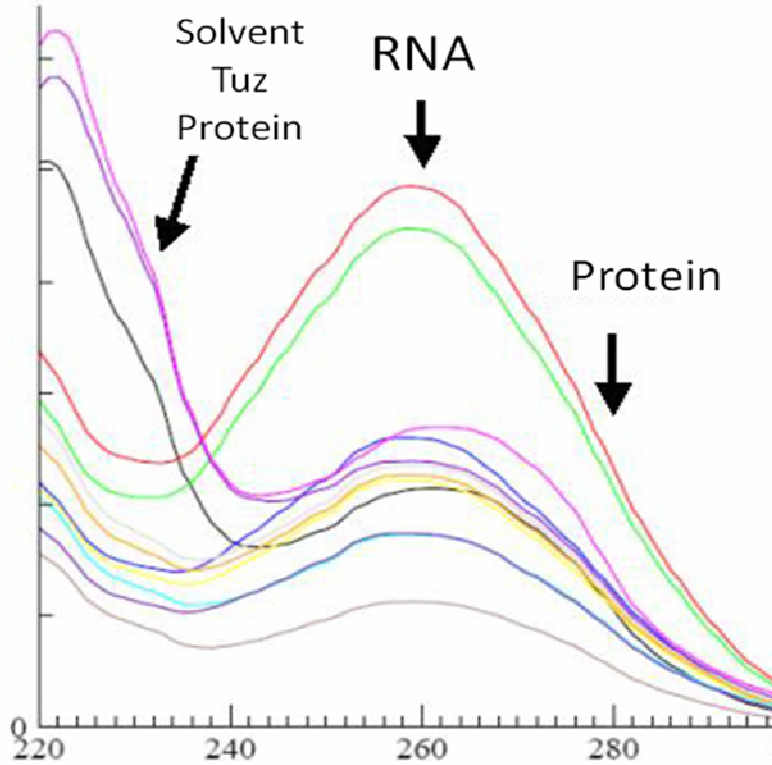
Resim 3.3.3.Kullanılan analiz kitine ait özet işlem basamakları (www.qiagen.com)

- Son aşamada santrifüj edilen örneğin üst kısmında kalan bölümü uzaklaştırılıp alt kısmı alınır. Elde edilen çözeltideki RNA miktarı, çok az miktarda örnek ile ölçme yapabilen Nano Drop spektrofotometre ile belirlenir.

- Bunun dışında örneklerdeki total RNA miktarları jel elektroforezi ile de belirlenebilir. Bunun için son aşamada elde edilen örneğe 18 ml Loading Die boyar çözeltisi eklenerek örnekler jel elektroforezine yerleştirilir. Alet çalıştırılarak 20 dakika beklendikten sonra UV ışınları yardımıyla elde edilen görüntüden skalaya bakarak total RNA miktarı belirlenir.

Elde edilen RNA'ya ait saflığı Nano Drop ND1100 kullanılarak okunan optik yoğunluk ($A_{260/280}$ absorbans) değerleri oranlanarak belirlenmiş ve saflığı gösterir skala Resim 3.3.4'te verilmiştir (Chomczynski et al., 1987; Çokuysal, 2000; Huc et al., 2002).

Resim 3.3.4. RNA örneklerinin saflığına ait absorbans değerleri skalası



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Laboratuar çalışmaları sonucunda elde edilen total RNA miktarları çizelge 4.1. de görülmektedir.

Çizelge 4.1. Örneklere ait total RNA değerleri (100 mg taze yaprak örnekleri için)
(Tablodaki tüm değerlerin birimi $\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$ 'dir. **TK:** Tekrar, **A:** A260/280 Absorbans oranı)

TK	Kontrol grubu			50 mM NaCl Uygulanmış Grup			100 mM NaCl Uygulanmış Grup		
	Paralel	Paralel		Paralel	Paralel		Paralel	Paralel	
	I	II	A	I	II	A	I	II	A
1	90,2	91,0	1.97	93,5	91,8	1.98	122,2	124,1	1.86
2	89,4	88,7	1.95	90,1	89,8	1.89	120,2	119,7	1.99
3	93,5	94,0	1.99	96,3	95,1	1.95	125,4	128,6	2.01
4	85,4	86,0	2.01	91,2	91,6	1.99	123,7	123,9	1.98
5	88,1	89,2	1.94	93,0	92,5	2.00	126,4	125,3	1.96
ORT	89,32	89,78	1.97	92,82	92,16	1.96	123,58	124,32	1.96

İzole edilen RNA örneklerinin saflığının belirlenmesinde kullanılan absorbans oranı (A260/280) oranı araştırmacılar tarafından 2.0 olarak rapor edilmiştir (Maniatis et al., 1982; Sambrook et al., 1989; Boztok ve Çokuysal, 2006). Vanharle et al., (2002) ise saf RNA için NanoDrop spektrofotometresi için A260/280 absorbans okuma oranının 2.1 olduğunu bildirirlerken, 1.8-2.0 arasında belirlenen değerlerin elde edildiği RNA izolatlarının saf olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir.

Gehrig et al., (2000) farklı bitki dokularında yaptıkları total RNA analizlerinde A260/280 oranlarını Crassulaceae familyasına ait bitkilerde 1.85-1.91, Clusiaceae familyasına ait bitkilerde 1.60-1.95, Cactaceae familyası için 1.9 değerlerinin saf RNA'yı ifade ettiğini bildirmişlerdir. Keifer et al., (2000) ise domates yapraklarında bu değerin 2.0 olduğu durumlarda RNA'nın saf olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.1 incelendiğinde, örneklerle ait A260/280 oranının 1.96 ve 1.97 olarak belirlendiği izlenmektedir. Denemede kontrol dâhil diğer iki tuz uygulamasında da ve yukarıda verilen literatürlerle belirlenen sınırlar içinde absorbans oranlarının elde edilmiş olması kullanılan analiz kitinin istenen saflıkta RNA elde etmek için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.1 incelendiğinde, 100 mg taze yapraktaki total RNA miktarı, kontrol grubunda ortalama 89.55, 50 mM NaCl dozunda 92.49, 100 mM NaCl dozunda ise 123.96 ng μl^{-1} olarak belirlendiği izlenmektedir. Qiagen (2007) referans notlarında Brandstadter et.al (1993)'e atfen normal koşullar altında yetiştirilen domates bitkisi için 100 mg taze yaprak örneklerinde belirlenen RNA miktarını 65 ng μl^{-1} civarında belirlenebilirken çeşit özellikleri, bitkinin büyüme durumu ve yetiştirme ortam koşullarına bağlı olarak değişim gösterebileceği bildirilmiştir.

Sonuçların geneli incelendiğinde, kontrol grubundan başlayıp artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak belirlenen RNA miktarlarında artma eğiliminde olduğu gözlenmektedir. Kontrol grubuna göre 50 mM NaCl uygulanmış bitkilerin total RNA miktarında önemli bir değişim olmazken 100 mM NaCl uygulanan grupta ortalama % 33 oranında artış belirlenmiştir. Bu değişimlerin istatistiksel açıdan değerlendirmesine ait sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Uygulanan farklı tuz seviyelerin Total RNA miktarı üzerine etkinliğine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Hesaplanan F Değeri	Tablo F Değeri	
				% 5	% 1
Uygulamalar	2	3636.25	265.298**	3.890	6.930
Hata	12	6.853			

Varyans analiz tablosu incelendiğinde; Kontrol, 50 mM NaCl ve 100 mM NaCl uygulamalarının domates bitkisinde total RNA miktarı üzerine istatistiksel olarak %1 seviyede etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu analizle uygulamaların incelenen RNA parametresi üzerine etkinliği belirlenirken hangi uygulamanın en etkin olduğunu belirlemek amacıyla LSD analizi de yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir.

4.3. Yapılan farklı uygulamalar ait LSD testi sonuçları

Uygulamalar	Ortalama	Belirlenen Grup
Kontrol	89.550	B
50 mM NaCl	92.490	B
100 mM NaCl	123.950	A
LSD _{0.01} = 5.057		

LSD testi sonuçları incelendiğinde, 100 mM NaCl uygulaması ile yaratılan tuz stresinde belirlenen total RNA değeri en yüksek uygulama olarak belirlenmiş ve ilk farklı grup olan A ile adlandırılmıştır. Kontrol ve 50 mM NaCl uygulamalarının istatistiksel açıdan total RNA üzerinde birbirlerinde farklı bir etki yapmadığı, bu nedenle her iki uygulama aynı grupta yer alarak ikinci farklı grubu oluşturan B ile adlandırılmıştır.

Bulgularımızı destekler nitelikte, Portillo et al. (2006) normal koşullarda yetiştirilen domates bitkisinde farklı homojenizasyon yöntemi ve ayraçlar kullanarak yaptıkları total RNA analizlerinde 100 mg taze yapraktaki total RNA miktarlarını 60-95 ng μl^{-1} arasında belirlemişlerdir.

Tez çalışmasında, Kontrol örnekleri ve 50 mM NaCl dozunda belirlenen total RNA miktarının literatürde belirtilen sınırlar içinde olduğu gözlenirken 100 mM NaCl dozunda ise normalden daha fazla total RNA miktarı saptanmıştır.

Kim et al. (2008) Arabidopsis bitkisinde 100 mM NaCl dozu ile yaratılan stres koşullarında RNA miktarına artış saptamışlar ve bu artışların tuz stresine dayanıklılıkta etkili olan proteinlerin üretimine bağlı olarak gözlemlendiği sonucuna varmışlardır.

Low and Rausch (1996), havuç bitkisinde uygulanan 100 mM NaCl dozu ile yaratılan strese bağlı olarak total RNA ve çözünebilir protein miktarının arttığını

bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Kawasaki et al. (2001) pirinç köklerinde tuz stresinde belirlenen RNA miktarındaki artışın tuza dayanımı sağlayan proteinlerin üretimine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tuz stresi koşullarında domates bitkisinde total RNA miktarını belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular önceki çalışmalar ışığında aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir.

Stres koşullarında, bitkilerde moleküler düzeyde gözlenen tepkilerin belirlenmesinde RNA izolasyonu ilk ve önemli aşamalardan biridir. RNA izolasyonunun yapılması ile Poly(A)⁺RNA, Northern Blot Hibridizasyonu, cDNA analizleri ile stres koşullarında üretilen proteinlerin özelliklerinin belirlenmesi mümkün olmaktadır. Bu çalışmalar ile, bitkinin stres koşullarına adaptasyonu, tolerans mekanizması ve strese dayanıklılığı sağlayabilecek genler ortaya konabilir, yapısal özellikleri belirlenen stres proteinleri dışarıdan bitkilere uygulanarak stres koşullarına uyumlarının sağlanması ile ilgili araştırmalara zemin oluşturulabilir. Ancak tüm çalışmaların yapılabilmesi için yüksek saflıkta ve konsantrasyonda total RNA'nın izole edilmesi ön koşuldur.

Uzun ve karmaşık işlem basamakları ile RNase kontaminasyonuna çok açık olan konvansiyonel analiz yöntemleri yanında RNA analiz kitleri ile çalışmak daha kısa zamanda daha pratik sonuçlar vermektedir. Ancak bu kitlerin hassasiyeti ve elde edilecek sonuçların başarısı bitki dokularının polifenol, ikincil metabolitler, polisakkaritler gibi bileşik içeriklerine bağlı olarak değişmektedir. Çalışmada, total RNA miktarını belirlemede pratik ve kolay çalışma imkanı sunan bir RNA izolasyon kitinin domates bitkisi örneklerinde uygulanma imkanı araştırılmıştır.

Yapılan laboratuvar çalışmaları sonucundan domates bitkisi örneklerinde kullanılan RNA izolasyon kiti ile yüksek verim ve saflıkta total RNA'nın belirlenebileceği ortaya konmuştur. İlerleyen çalışmalarda; bu analizlerle elde edilen verim ve saflıkta RNA örnekleri kullanılarak, Poly(A)⁺RNA, Northern Blot Hibridizasyonu, cDNA analizleri ile stres koşullarında üretilen proteinlerin özelliklerinin belirlenmesi mümkün görünmektedir.

Bilindiği üzere tarım topraklarında tuzlulaşma sorunu bilinçsizce yapılan sulama ile giderek artmaktadır. Tuzluluk sorunu küresel ısınma ile meydana gelen kuraklıkla birlikte kültür bitkilerinde önemli düzeyde verim kaybına neden olmaktadır. Bu

Çalışmada ayrıca, tuz stresinin bitkilerde meydana getirdiği değişimler moleküler düzeyde saptanmaya çalışılmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçlardan da anlaşılacağı üzere denemeye alınan domates bitkileri uygulanan NaCl özeltisinin oluşturduğu tuz stresinin etkisiyle; kontrol grubuna göre 100 mM NaCl uygulanan bitkilerde total RNA miktarı önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu artışın; yapılan önceki çalışmalara uygun olarak tuz stresini koşullarında, dayanıklılığı ve toleransı sağlayabilecek mekanizmaların çalışması ve strese özel olarak üretilen proteinlerin sentezlenebilmesi nedeniyle gözleendiği sonucuna varılmıştır.

İlerleyen yıllarda tuz stresinin kültür bitkileri üzerine olan etkilerinin çok daha iyi anlaşılabilmesi, bitkilerin stres faktörlerine karşı oluşturdukları tepki mekanizmalarının tam anlamıyla çözümlenebilmesi ve stres etmenlerine dayanıklı kültür bitkisi çeşitlerinin geliştirilmesi çerçevesinde çözüm yollarının bulunabilmesi amacıyla moleküler düzeyde yapılacak çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca tuz stresini koşullarında üretilen proteinlerin yapı ve işlevlerinin de belirlenebilmesi ile bitkilerin strese tolerans mekanizmalarının geliştirilmesinde dışarıdan uygulanabilecek preparatların geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Hızla artan dünya nüfusunun gıda ihtiyacını karşılayabilmek adına; tarımda verimliliği büyük ölçüde kısıtlayan ve gün geçtikçe ilerleyen tuzluluk probleminin hızlı, pratik ve ekonomik yollardan çözüm yollarının üretilmesi Türkiye ve dünya tarımı için büyük bir gelişme olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ.

Akıncı S., 2000, Bazı Patlıcan Çeşitlerinin Çimlenme Döneminde Tuza Tepkileri, Fen ve Mühendislik Dergisi 2000 Cilt 3, Sayı 1

Ali, G., Srivastava, P. S. and Iqbal, M., 1999, Proline Accumulation Protein Pattern, Photosynthesis in Bacopa Monnaria Regenerates Grown Under NaCl Stress, Biologia Plantarum, 42: 89-95.

Al Karaki, G. N. , 2000 Growth Water Use Efficiency, and Sodium and Potassium Acquisition by Tomato Cultivars, Journal of Plant Nutrition 23(1) 1-8

Arda, M. 2007. Hastalıkların teşhisinde biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması. (www.mikrobiyoloji.org)

Ashraf M, Mcneilly T, Bradshaw AD, 1996. The potential for evaluation of salt (NaCl) tolerance of seven grass species. New Phytologist, 103, 299-309.

Ashraf M, 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences, 13(1), 17-42.

Aubert , S. Hennion, F. Bouchereau, A. , Gout, E. , Bligny , R. and Dome, A. J. 1999 Subcellular Compartmentation of Proline in the Leaves of the Subantarctic Kerguelen Cabbage *Brassica Antiscorbutica* R-Br. In vivo ¹³C-NMR Study. Plant Cell Environ. 22: 225-259.

Avcıoğlu, R. ve Gürel, A., 2000, Bitki Fizyolojisi, Ege Üniv. Ziraat Fak. Ders Notları Yayın No:64/1 Ege Üniv. Ziraat Fak. Ofset Basımevi, İzmir.

Azevedo Neto ,A. D. , Prisco J. T. , and Eneas-Filho, J. 2004 Effects of Salt Stress on Plant Growth, Stomatal Response and Solute Accumulation of Different Maize Genotypes. Braz. J. Plant Physiol ., 16:1, 31-38

Awank YB, Atherton JG, Taylor AJ, 1993. Salinity effects on strawberry plants grown rock wool, growth and leaf relations. Journal of Horticultural Science, 68, 783-790.

Babourina O, Leonova T, Shabala S, 2000. Effect of sudden salt stress on ion fluxes in intact wheat suspension cell. *Annals of Botany*, 85, 759-767.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Bertrand, A. M, Stammitti, L., Telef, N., Colardelle, P., Brouquisse, R., Rolin, D., Ctallusci, P. 2008. Effect of exogenous glucose on carotinoid accumulation in tomato.

Botella, M. A. , Quesada, M. A. , Kononocinicz, A. K. ,Bressan, R. A. Pliego, F. , Hasegawa, P.M. , and Valpuesta, V. , 1994. Characterization and in- stu Localization of a Salt İnduced Tomato Peroxidase Messenger RNA. Plant Mol. Biol. 25: 105-114

Botella, M. A. ,Martinez, V. , Nieves, M. , Cerda, A. , 1997, Effects of Salinity on the Growth and Nitrojen Uptake by Wheat Seedlings. Journal of Plant Nutrition V(20) 6p. 793-804.

Boztok Ş., Çokuysal, B. 2006. An Improvement in Total RNA Isolation Protocol for Ecologic Studies: Case Study Tobacco Cells. Pakistan Journal of Biological Sciences, Vol. 9 (8), 1601-1604

Chomczynski, P. and N. Sacchi. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocynate-phenol-choloroform extraction. Anal. Biochem. 162. pp. 156-159.

Cuartero J, Yeo Ar, Flowers T, 1992. Selection of donors for salt-tolerance in tomato using physiological traits. New Phytology, 121, 63-69.

Çakmak., I., 1994. Activity of Ascorbate-Dependent H2O2 Scavenging Enzymes and Leaf Chlorosis are Enhancend in Magnesium and Potassium Deficient Leaves, But Nat in Pohsphorus Deficient Leaves. J. Exp. Bot., 45:1259- 1266.

Çakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium defficiency and hilight intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. Plant Physiol, 98: 1222-1226.

Chirgwin, J.M., Przybyla, A.E., McDonald, R.J., Rutter, W.J. 1979. Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. Amercan Chemical Society, Vol.18, No.24,Pp.5294-5299.

Çiçek, N. and Çakırlar, H. , 2002, The Effect of Salinity on Some Physical Parameters in Two Maize Cult. Bulg. J. Plant Physiol. , 28 (1-2), 66-74.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Çiçek N., 1999. İki mısır (*Zea mays* L.) çeşidinin gelişiminde tuzluluğun bazı fizyolojik aktiviteler ve fotosistem II üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi Hacettepe Üniversitesi, 94 s.

Çokuysal, B. 2000. Changes of amount of total RNA at the different time course in tobacco cells during the salt stress conditions. The Journal of Agricultural Faculty of Ege University. Vol 37. pp. 97-103.

Çokuysal, B., Çakıcı, H., Erbaş, E. 2006. Effect of salt stress on Total RNA and poly(A)+RNA contents in Tobacco cultured cells at the different time course. PJBS. Vol.9, Iss.1, Pp.22-25.

Daohong, W., Bochu, W., Biao, L., Chuanren, D., Jin, Z.,2004. Extraction of total RNA from Chrysanthemum containing high levels of phenolic and carbohydrateo colloid and surfaces. Vol 36 (2), 111 – 117.

Doğan, M. , Avu, A. , Can N.E. , Aktan A. , 2008, Farklı Domates Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Tuz Stresinin Etkileri. SDÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Derg. 2008 3(2) 174-182.

Ebrahimzadeh, H. , Meighany, F. , Rahimian, H. , 2000, Role of Mineral İons in Salt Tolerance of Two Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Cultivars. Pakistan Journal of Botany, 32, 2, 265-271.

Edvera, A., 1998, Molecular Bases of Stress in Plants. Bitkilerde stres Fizyolojisinin Temelleri, 22-26 Haziran, İzmir.

Ellialtıoğlu, Ş., Tıprıdamaz, R. 1998. Doku kültürünün tuz stresine dayanıklılıkta kullanımı. Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri. EBİLTEM, İzmir.

FAO. 2006. Extent and causes of salt affected soils in participating countries. (www.fao.org)

Fernandez-García, N., Martínez, V. and Carvajal, M., 2004. Effect of salinity on growth mineral composition and water relations of grafted tomato plants. J. Plant Nutr. Soil Sci., 167: 616-622

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gadallah, M. A. A., 1999, Effects of Proline and Glycinebetaine on Vicia Faba Response to Salt Stres, Biol. Plant, 42: 249-257.

Gehrig, H. H., Winter, K., Cushman, J., Borland, A., Taybi, T. 2000. An improved RNA Isolation method for succulent plant species rich in polyphenols and polysaccharides. Plant Molecular Biology Reporter. 18:369-376.

Greenway, H. and Munns, R., 1980 Mechanism of Salt Tolerance in Nonholophytes, Annu. Rev. Plant Physiol 31, 149-190.

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

Hamada EAM, Hamoud MA, IL-Sayed MA, Kirkwood RC, El-Sayed, H. 1992. Studies on the adaptation of selected species of the family Gramineae A. Juss. to salinization. Feddes Repertorium, 103(1-2), 87-98.

Huc, G., C. Honda, B. Kita, Z. Zhang, T. Tsuda and T. Moriguchi. 2002. A Simple protocol for RNA isolation from fruit trees containing high levels of polysaccharides and polyphenol compounds. Plant Molecular Biology Reporter 20. pp.69a-69g.

Jacoby, B. 1999. Mechanisms involved in salt tolerance of plants. Handbook of Plant and Crop Stres Ed. Pessaraki, M., ISBN:0-8247-1948-4.Marcel Dekker Inc., NY.

Iyengar, E. R. R., and Reddy, M. P., 1996, Photosynthesis in Highly Salt Tolerant Plants. In: Pesserkali , M. (Ed), Handbook of Photosynthesis. Marshall Dekar, Baten Rose, USA, pp 897-909.

Kacar, B., Katkat, V., 2007. Bitki Besleme. Nobel Yayın Dağ. p. 975

Katerji, N., Hoorn, J. W., Hamdy, A., Nastnorilli, N., 2003. Salinitiy effect on crop development and yield anaysis of salt tolerance according to several classification methods. Agricultural water manegement. Vol 62 (1), 259 - 262

Karanlık, S., 2001. Değişik Buğday Genotiplerinde Tuz Stresine Dayanıklılık ve Dayanıklılığın Fizyolojik Nedenlerinin Araştırılması. (Doktora Tezi, basılmamış), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 125 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kendirli, B. ve Çakmak B., 2005, Sulanan Arazilerde Problemler ve Çözüm Önerileri, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dergisi Türk Tarım 164: 28-33.

Kawasaki, S., Borchert, C., Deyholos, M., Wang, H., Brazille, S., Kawai, K., Galbraith, D., Bohnert, H. J. 2001. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in Rice. The Plant Cell, Vol. 13, 889-905.

Kiefer, E., Heller, W., Ernst, D. 2000 A Simple and Efficient protocol for isolation of functional RNA from plant tissues rich in secondary metabolites. Plant Biology Reporter. 18: 33 – 39

Kim, J.S., Kyung, A. K., Oh, R. T., Park, M. C., Kang, H. 2008. Functional characterization of DEAD-Box RNA Helicases in *Arabidopsis thaliana* under abiotic stress conditions. Plant Cell Physiol., 49 (10):1563-1571.

Knott, J.E., 1996. Handbook for Vegetable Growers. New York, London, Sydney, p.44.

Levitt, J. 1972. Response of plants to environmental stresses. New York Academic Press. New York. 597 p.

Levitt, J. 1980. Response of plants to environmental stresses. New York Academic Press. London. 297 p.

Liu, W., Wang, B., Duan, C., Li, B. 2005. A method for isolating functional RNA from callus of *Dendrobium candidum* contained rich polysaccharides. Colloids and Surfaces B:Biointerfaces. Vol. 42, Iss.3-4, Pp.259-262.

Little, M.T., Hills, J.F. 1978. Agricultural experimentation, Design and analysis. John Wiley and Sons, New York.

Low, R., Rausch, T. 1996. In suspension-cultured daucus carota cells salt stress stimulates H^+ - transport but not ATP hydrolysis of the V-ATPase. Journal of Experimental Botany 47: 304

Luna C, Gonzalez C, Trippi V, 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. Plant Cell Physiology, 5, 11-15

Majahan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stress:An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics. Vol. 444, Iss. 2, Pp.139-158.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Maniatis, T, E. F. Fritsch and J. Sambrook. 1982. Molecular cloning a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Chp. 6, NY, USA.

Mass, E. and Hoffman, G. J., 1977, Crop Salt Tolerance-Current Assesment, J. Irring, Drain, Div, ASCE, 102(122): 115-134.

Species *Lycopersicum Pennelli* but Not in the Cultivated Species, *Physiol Plant*, 115: 393-400.

Montagu, M. 1987. Isolation of RNA from plant tissue. Practical Course on Plant Molecular Biology, Ghent, Belgium.

Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T., 1996, the Physiology of Plants Under Stres, Soil and Biotic Factors, PP: 177-273, John Wiley and Sons, inc NY.

Özdemir S, 1995. Tuzluluk stresinin bitkilere etkileri. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10(3), 69-82..

Perez-Aflocea F, Estan MT, Caro M, Guerrier G, 1996. Osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennellii* under sodium chloride and polyethylene glycol 6000 iso-osmotic stress. *Physiology Plant*, 87, 493-498

Parida, A. K. and Das, A. B., 2005, Salt Tolerance and Salinty Effects on Plants, *Areview Ecotoxicology and Envirmental Safety* 60: 324-349.

Polijakoff,-Mayber, A. and Gale, J., 1975, Plants in Saline Enviroments, Springer-Verlag, Berlin.

Portillo, M., Fenoll, C., Escobar, C. 2006. Evalation of different RNA extraction methods for small quantities of plant tissue. *Physiologia Plantarum*. 128(1-7).

Prakash, L. and Prathapasenan, G., 1988, Effect of Salinity and Putresine on Shoot Growth Tissue İon Concentration and Yield of Rice, *J. Agronomy and Crop Science*, 160: 325-334.

Romero-Aranda, R., Soria, T. and Cuatero, J., 2001, Tomato Plant-Water Uptake and Plant-Water Relationships Under Saline Growth Conditions, *Plant Sci.*, 160: 265-272.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Sahu, B. B., Shaw, B. P. 2009. Isolation, identification and expression analysis of salt induced genes in *Suaeda maritima*, a natural halophyte, using RCR-Based suppression subtractive hybridization. *BMC Plant Biology* 9:69.

Saied, A. S., Keutgen, A. J., Noga, G., 2005, the Influence of NaCl Salinity on Growth, Yield and Fruit Quality of Strawberry cvs 'Elsanta and Corona', *Scientia Horticulture* 103: 289-303.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. 1989. Molecular cloning a laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Salama S, Trivedi S, Busheva M, Arafa AA, Garab G, Erdei L, 1994. Effects of NaCl salinity on growth, cation accumulation, chloroplast structure and function in wheat cultivars differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 144, 241-247.

Salisbury, F. B. and Ross C. W., 1992, *Plant Physiology*, Wadsworth Pub. Com Inc. Belmont, California-USA

Sharma PK, Hall Do, 1992. Changes in carotenoid composition and photosynthesis in sorghum under highlight and salt stresses, *Journal Plant Physiology*, 140, 661-666

Sekmen, H. A., Demiral T., Tosun, N., Türküsay, H., Türkan, İ., 2005, Tuz Stresi Uygulanan Domates Bitkilerinin Bazı Fizyolojik Özellikleri ve Toplam Protein Miktarı Üzerine Bitki Aktivatörlerinin Etkisi, *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 42(1) 85-95.

Soldatini, G. F. and Gianni, A., 1985, the Effect of Water and Salt Stress on Fixation of CO₂ and on Amino Acid Metabolism in Seedlings of *Zea Mays* L. *Agrochimica* 1: 29-74.

Şeniz, V., Çetinkaya, Ş., Ceylan, F., Coşkun, S. 2006. Domates yetiştiriciliği, sebze çeşit özellikleri. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı yay. Ankara

Taban, S., Güneş, A., Alparslan, M., ve Özcan, H., 1999, Değişik Mısır Çeşitlerinin Tuz Stresine Duyarlılıkları, *Tr. J. of Agric and Forestry* 23(3): 625-633.

Tıprıdamaz R, Ellialtıoğlu Ş, 1994. Domates genotiplerinde tuza dayanıklılığın belirlenmesinde değişik tekniklerin kullanımı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fak Yayınları, Yayın No: 1358, Bilimsel Araştırma ve İnceleme 752, 21s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Turhan, E. and Eris A., 2004, Effects of Sodium Chloride Application and Different Growth Media on Ionic Composition in Strawberry Plant, J.of Plant Nutrition, Vol. 27, No 9: 1653-1665.

Vanherler, B., Timmer, E., Wackers, P. 2002. RNA quality control using the NonoDrop ND-1000. Genome Center Maastricht. (www.biomedicalgenomics.org)

Qiagen. 2006. R Neasy Plant Mini Handbook (www.qiagen.com)

Walbot, V. and Culls, C. A., 1985, Rapid Genomic Change in Higher Plants, Annu. Rev. Plant Physiol, Plant Mol. Biol. 36: 367-396.

Yamaguchi, T., Blumwald, E. 2005. Developing salt-tolerant crop plants challenges and oppornities. Trends in Plant Sciences, Doi:10.1016/j.tplants.2005.10.2005. Article in Plants.

Yamazaki, M., Saito, K. 2002. Differential display analysis of gene expression in plants. CMLS Cellular and Molecular Life Sciences. Vol.59, Pp 1246-1255.

Yurtsever, N. 1984. Deneysel istatistik metodlar. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.

Zhu, J. K. 2002. Salt and drought stress signal in plants. Annual Rew. Plant Biol. Vol:53 p.247-273.

ÖZGEÇMİŞ

1 Ağustos 1983 yılında Beyşehir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Beyşehir’de de tamamladı. 2001 yılında başladığı Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Teknolojisi Programının Toprak alt opsiyonundan 2006 yılında mezun oldu. 2007 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı’nda Lisansüstü öğrenimine başladı. T. C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı bünyesinde ziraat mühendisi olarak çalışmaya devam etmektedir.