



**PATLICANDA (*Solanum melongena* L.) TUZ STRESİNE DAYANIM İLE
DIŞSAL H₂O₂ VE NO UYGULAMALARININ ETKİLEŞİMLERİ
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2018

Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR tarafından hazırlanan “PATLICANDA (*Solanum melongena* L.) TUZ STRESİNE DAYANIM İLE DIŞSAL H₂O₂ VE NO UYGULAMALARININ ETKİLEŞİMLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Hayri DUMAN

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

İkinci Danışman: Prof. Dr. Rukiye TIPIRDAMAZ

Botanik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan: Prof. Dr. Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Prof. Dr. Murat EKİCİ

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Prof. Dr. Zeki AYTAÇ

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Cahit DOĞAN

Botanik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 9/7/2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR

09/07/2018

PATLICANDA (*Solanum melongena* L.) TUZ STRESİNE DAYANIM İLE DIŞSAL
H₂O₂ VE NO UYGULAMALARININ ETKİLEŞİMLERİ ÜZERİNDE

ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2018

ÖZET

Dışsal H₂O₂ ve NO donörleri ile inhibitörlerinin uygulanmasının tuz stresine maruz bırakılan iki patlıcan (*Solanum melongena* L.) genotipinde (tuza dayanıklı; Mardin ve tuza duyarlı; Artvin) iyon dengesi, lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim aktiviteleri ile oksidatif-nitrosatif mekanizma üzerine olası katılımı ve tuz stresinin olumsuz etkilerini iyileştirebilme potansiyelleri araştırılmıştır. Bu amaçla, dört-beş yapraklı döneme kadar Hoagland besin çözeltisinde büyütülen fidelerin yapraklarına H₂O₂ ve NO donörleri (H₂O₂, SNP) ile inhibitörleri (DPI, cPTIO) 48 saat süresince spreylenecek şekilde uygulanmış, sonrasında 10 gün boyunca 100 mM NaCl'e maruz bırakılmıştır. Tuz stresi ile azalan yaprak taze ağırlığı, klorofil ve K⁺ miktarı H₂O₂ ve NO donörü SNP'nin ayrı ayrı ya da birlikte uygulamaları ile artmıştır. Tuz stresi ile artan MDA, H₂O₂, Na⁺ miktarları ve Na⁺/K⁺ oranı H₂O₂ ve NO donörü SNP'nin ayrı ayrı ya da birlikte uygulamaları ile azalmıştır. Dıştan uygulanan H₂O₂ ve NO, antioksidan savunmayı harekete geçirerek, prolin miktarını, SOD ve CAT aktivitesini artırmıştır. H₂O₂ ve NO'nun tekli uygulamalarına göreceli olarak birlikte uygulanması, bitkilerde tuz toleransında artışa neden olmuştur. Veriler genel olarak değerlendirildiğinde, Mardin genotipine göre tuza duyarlı olan Artvin genotipinin, dıştan yapılan donör ve inhibitörlerden daha fazla etkilendiği görülmüştür.

Bilim Kodu : 20304

Anahtar Kelimeler : Patlıcan, *Solanum melongena*, H₂O₂, NO, tuz stresi

Sayfa Adedi :100

Danışman : Prof. Dr. Hayri DUMAN

İkinci Danışman : Prof. Dr. Rukiye TIPIRDAMAZ

RESEARCHES ON THE INTERACTIONS BETWEEN EXTERNAL H₂O₂ and NO
APPLICATIONS AND RESISTANCE OF CULTURED EGGPLANT

(*Solanum melongena* L.)

(Ph. D. Thesis)

Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2018

ABSTRACT

In this study, we investigated the possible involvement of ionic balance, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities and oxidative-nitrosative mechanism and potential to improve the adverse effects of salt stress in the two genotypes (salt tolerant, Mardin and salt sensitive, Artvin) of eggplant (*Solanum melongena* L.) by application of exogenous H₂O₂ and NO donors and inhibitors then exposed to salt stress. For this purpose, H₂O₂ and NO donors (H₂O₂, SNP) and inhibitors (DPI, cPTIO) were sprayed to the leaves of the seedlings for 2 days then exposed to 100 mM NaCl for 10 days. Leaf fresh weight, chlorophyll content and K⁺ amount were decreased with the salt application while they increased with H₂O₂ and SNP application. Additionally, MDA, H₂O₂, Na⁺ contents and Na⁺/K⁺ ratio were increased with salt stress application and decreased with the H₂O₂ and SNP application. Exogenous H₂O₂ and NO treatments increased the amount of proline, SOD and CAT activity by activating antioxidant defense. It is believed that the co-application of H₂O₂ and NO provides better salt tolerance than the single application. When the data are evaluated in general, it is seen that the salt-sensitive Artvin genotype, which is compared to the Mardin genotype, is more affected than the exogenously applied donor and inhibitors.

Science Code : 20304

Key Words : Eggplant, *Solanum melongena*, H₂O₂, NO, salt stress

Page Number : 100

Supervisor : Prof. Dr. Hayri DUMAN

Co-Supervisor : Prof. Dr. Rukiye TIPIRDAMAZ

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca kendilerinden bilim insanı olmayı öğrendiğim, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş oldukları hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli danışman hocalarım, sayın Prof. Dr. Hayri Duman ve Prof. Dr. Rukiye Tıprıdamaz'a teşekkür ederim. Birer TİK üyesi olmanın çok daha ötesinde, çalışmalarım boyunca gerek fikri gerekse manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, Prof. Dr. Şebnem Ellialtıoğlu ve Prof. Dr. Murat Ekici'ye, gerek deneysel çalışmalarım da gerekse tez yazım aşamasında bana yol gösteren, her türlü desteğini bir an olsun esirgemeyen değerli hocam, ablam Arş. Gör. Dr. Gökçen Baysal Furtana'ya, deneysel çalışmalarımı yürütmek üzere, laboratuvarının imkanlarından faydalanmamı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Yusuf Kalender'e, enzim analizlerini yapmamda desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Fatma Gökçe Apaydın'a, iyon analizlerini yapmamda yardımcı olan Doç. Dr. Özcan Yalçınkaya'ya, teşekkür ederim. Beni bugünlere getiren annem Hatice Öcal ve babam Yardımsever Öcal'a her zaman yanımda olan kız kardeşlerim Merve ve Beyza'ya, bana ve tezime her zaman destek olan sevgili eşim Hakan Özdamar'a, tüm bu çalışmaları yaparken evlatlarıma gözüm arkada kalmadan bakan kayınvalidem Şerife Özdamar'a teşekkürü bir borç bilirim. Sayelerinde tezimi anne olarak yazdığım canım evlatlarım Aybüke ve Ayyüce Özdamar'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Tuz Stresi ve Bitki	3
2.1.1. Tuz stresinin doğası ve mekanizmaları	3
2.1.2. Tuz stresine adaptasyon mekanizmaları	4
2.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	9
2.2.1. H ₂ O ₂ kaynakları.....	10
2.2.2. Hücrelerde H ₂ O ₂ oluşumu	12
2.2.3. H ₂ O ₂ ' in görevleri ve fizyolojik işlevleri.....	13
2.2.4. H ₂ O ₂ 'in süpürülmesi.....	14
2.2.5. DPI (Difeniliyodinyum klorür).....	14
2.3. RNS ve NO	15
2.3.1. NO'in fizyolojik işlevleri.....	16
2.3.2. Hücrelerde NO oluşumu	17
2.3.3. NO'in detoksifikasyonu.....	19
2.4. H ₂ O ₂ ve NO Etkileşimi	20
2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) ilişkisi	20

	Sayfa
2.4.2. H ₂ O ₂ ve NO ilişkisinin tuz stresindeki rolü	21
3. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	25
4. MATERYAL VE METOD	31
4.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi	31
4.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	33
4.3. İncelenen Parametreler	35
4.3.1. Yaprakların taze ağırlığı	35
4.3.2. Yaprak dokularında klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarlarının belirlenmesi	35
4.3.3. Yaprak dokularında prolin analizi	36
4.3.4. Yaprak dokularında malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi	36
4.3.5. Antioksidatif enzim analizleri	36
4.3.6. Yaprak dokularında H ₂ O ₂ analizi	37
4.3.7. İyon analizi	37
4.3.8. İstatistiksel analiz	38
5. BULGULAR	39
5.1. Yaprak Taze Ağırlığındaki Değişimler	40
5.2. MDA (Malondialdehit) Miktarındaki Değişimler	42
5.3. Klorofil ve Karotenoid Miktarındaki Değişimler	44
5.3.1. Klorofil a	44
5.3.2. Klorofil b	47
5.3.3. Klorofil a+b	49
5.3.4. Karotenoid	51
5.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerindeki Değişimler	54
5.4.1. CAT aktivitesi	54
5.4.2. SOD aktivitesi	56

	Sayfa
5.5. İçsel H ₂ O ₂ Miktarındaki Değişimler.....	58
5.6. Prolin Miktarındaki Değişimler.....	60
5.7. İyon Miktarlarındaki Değişimler.....	62
5.7.1. Sodyum (Na ⁺).....	62
5.7.2. Potasyum (K ⁺).....	64
5.7.3. K/Na oranındaki değişimler.....	66
6. TARTIŞMA.....	69
KAYNAKLAR.....	81
ÖZGEÇMİŞ.....	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Radikal olan ve olmayan ROS'lar	10
Çizelge 2.2. Antioksidan enzimler	14
Çizelge 2.3. Reaktif nitrojen türleri (RNS)	15
Çizelge 4.1. Hoagland kültür çözeltilisinin bileşimi	31
Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler ve molekül formüller	33
Çizelge 5.1. İncelenen parametrelerin t-testi ile genotiplerine göre değerlendirilmesi ..	39



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Tuz stres yanıtlarında SOS yolağı	6
Şekil 2.2. Bitki Hücrelerinde H ₂ O ₂ 'in Oluşumu: Tuz stresi.....	12
Şekil 2.3. Nitrik Oksitin enzimatik ve enzimatik olmayan kaynakları	18
Şekil 2.4. Bitkilerde Nitrik Oksitin ortadan kaldırılması ve detoksifikasyonu.....	20
Şekil 2.5. Tuz stresi altında yetiştirilen bitkilerde ROS ve RNS metabolizmaları arasındaki ilişkinin şematik modeli	23
Şekil 4.1. Bitkilerin büyütüldüğü iklim odasından genel bir görüntü.....	32
Şekil 4.1. Uygulama aşamasında fidelere ait görüntüler (A. Artvin, B. Mardin).....	33
Şekil 5.1. İncelenen parametrelerin t-testi ile genotiplere göre değerlendirilmesi	39
Şekil 5.2. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde yaprak taze ağırlıklarının değişimi	40
Şekil 5.3. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde MDA miktarının değişimi	43
Şekil 5.4. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde klorofil a miktarının değişimi.....	45
Şekil 5.5. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde klorofil b miktarının değişimi.....	48
Şekil 5.6. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde klorofil a+b miktarının değişimi.....	50
Şekil 5.7. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde karotenoid miktarının değişimi.....	53
Şekil 5.8. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde CAT aktivitesinin değişimi.....	54
Şekil 5.9. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde SOD aktivitesinin değişimi.....	57
Şekil 5.10. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde içsel H ₂ O ₂ miktarının değişimi.....	59
Şekil 5.11. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde prolin miktarının değişimi	61
Şekil 5.12. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde Na ⁺ miktarının değişimi.....	63
Şekil 5.13. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde K ⁺ miktarının değişimi	64
Şekil 5.14. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde K/Na oranının değişimi	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
g	Gram
L, l	Litre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ms	Milisaniye
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
M	Molar
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
µmol	Mikromol
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar	Açıklamalar
APX	Askorbat peroksidaz
CAT	Katalaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
K	Kontrol grubu
K ⁺	Potasyum iyonu
K.A.	Kuru Ağırlık
MDA	Malondialdehit
Na ⁺	Sodyum iyonu
NaCl	Sodyum klorür

Kısaltmalar**Açıklamalar****NaOH**

Sodyum hidroksit

NO

Nitrik oksit

SOD

Süperoksit dismutaz

POD, POX

Peroksidaz

ROS

Reaktif Oksijen Türleri

RNS

Reaktif Nitrojen Türleri

T

100 mM NaCl uygulanan grup

T.A.

Taze ağırlık

TBA

Tiobütirik asit

TCA

Trikloroasetik asit

UV

Morötesi

1. GİRİŞ

Toprak tuzluluğu, tüm dünyada ürün verimliliğini sınırlandıran ve gıda güvenliğini tehdit eden en önemli çevresel faktörlerden biridir. 800 milyon hektardan fazla alanın tuzdan etkilendiği tahmin edilmektedir ve bu miktar ekili alanların yaklaşık %30'unun ve sulanan alanların da %50'sine karşılık gelmektedir (Ahmad ve Prasad, 2012). Tarım bitkilerinin çoğu tuza karşı toleranslı değildir. Bu durumun mahsul üretimini, önemli bir şekilde tehdit ettiği bilinmektedir (Bhatnagar-Mathur, Vadez ve Sharma, 2008). 2030 yılında Türkiye dahil olmak üzere Güney Avrupa'yı içine alan bölgenin oldukça sıcak ve kurak bir iklimin etkisi altına gireceği ve bu durumun bitkisel üretimi olumsuz yönde etkileyeceği öngörülmektedir (Talhouni, Sönmez, Ellialtıoğlu ve Kuşvuran, 2017).

Abiyotik stresler arasında tuz stresi, bitkiye etki eden en şiddetli çevresel faktörlerden biri olup, normal hücre büyümesini ve bölünmesini engelleyen ozmotik ve iyonik stresleri uyarmaktadır (Munns ve Tester, 2008; Flowers ve Colmer, 2008). Tuz stresi aynı zamanda hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarlarında önemli artışlara sebep olarak oksidatif stresi de uyarmaktadır (Tanou, Molassiotis ve Diamantidis, 2009b; Ahmad, Jaleel, Salem, Nabi ve Sharma, 2010; Ahmad ve Umar, 2011). Bütün bu etkiler, membran hasarı, besin dengesizliği, enzimatik inhibisyon ve fotosentezi de içine alan metabolik fonksiyon bozukluğuna neden olarak bitkinin ölümüne neden olabilmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005; Hasanuzzaman ve Fujita, 2012).

Bitkilerde tuza tolerans henüz tam olarak açıklanabilmiş değilse de bilinen tolerans mekanizmaları; iyon dengesinin sağlanması, denge oluşturan uygun ozmotik bileşik biyosentezi, toksik radikallerin süpürülmesini sağlayan antioksidan biyosentezi ve hücrelerarası yanıt koordinasyonuna aracılık eden ve strese adaptasyonu sağlayan sinyal molekülleri ile açıklanabilir (Hasegawa, Bressan, Zhu ve Bohnert, 2000). Tuz stresinin toprakta çözümü oldukça pahalı ve zaman gerektiren bir işittir. Bu nedenle tuzluluk etkisi altında bitkinin ıslah edilerek verimin artırılmasına yönelik çalışmaların yapılması daha faydalı olacaktır. Bu amaçla, bitkiye dışarıdan uygulanan stresi iyileştirici veya stres azaltıcı maddelerin ve hangi dozlarda, nasıl uygulanacağını belirlemek önemlidir.

Bu bağlamda bitkiye dışarıdan uygulanan ozmo koruyucular (prolin, glisinebetain, trehaloz vb.), bitki hormonları (gibberellik asitler, jasmonik asitler, brassinosteroidler, salisilik asit,

vb.), antioksidanlar (askorbik asit, glutatyon, tokoferol vb.) gibi ekzojen koruyucular, sinyal molekülleri (nitrik oksit, hidrojen peroksit vb.), poliaminler (spermidin, spermin, putresin), eser elementlerin (selenyum, silikon vb.) bitkilerde tuz kaynaklı hasarın azaltılmasında etkili olarak verimin artırılabilceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Hoque ve diğerleri, 2007; Ahmad, Jaleel, Salem, Nabi ve Sharma, 2010; Ahmad ve Prasad, 2012; Azzedine, Gherroucha ve Baka, 2011; Hasanuzzaman, Hossain ve Fujita, 2011a, 2011b; Hayat ve Ahmad, 2011; Hossain ve diğerleri, 2011; Poór ve diğerleri, 2011; Nounjan, Nghia ve Theerakulpisut, 2012; Rawia Eid, Taha ve Ibrahiem, 2011; Iqbal, Masood ve Khan, 2012; Tahir, Aziz, Farroq ve Sarwar, 2012; Yusuf, Fariduddin, Varshney ve Ahmad, 2012).

Tüm bu bilgilere dayanarak stres altında yetiştirilen bitkilerde hızla miktarı artan ROS (reaktif oksijen türleri) ve RNS (reaktif nitrojen türleri) son yıllarda araştırmacıların sinyal molekülü olma noktasında dikkatini çekmiştir. Oksidatif ve nitrosatif sinyallerin birbirleri arasındaki ilişki de ayrı bir çalışma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda bitkilerde varlığı saptanan önemli haberci moleküller olan NO ve H₂O₂, pek çok fizyolojik ve biyokimyasal olayda rol oynadığı bilinmesine rağmen, etki mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan literatür incelemelerinde biyotik ve abiyotik stres faktörleri ve bu bileşikler arasında da bir ilişkinin olduğu bilinmekle birlikte, tuz stresi ile NO ve H₂O₂ etkileşimi ile ilgili olarak literatürde sınırlı sayıda kaynak mevcuttur (Uchida, Jagendorf, Hibino ve Takabe, 2002; Tanou, Molassiotis ve Diamantidis, 2009a; Tanou ve diğerleri, 2009).

Bu tez çalışmasında tuza dayanıklı (Mardin) ve duyarlı (Artvin) patlıcan genotiplerine ait fidelerde dışarıdan H₂O₂ ve NO donörleri ve inhibitörleri uygulanarak 100 mM NaCl'e maruz kalmış bitkilerde, H₂O₂ ve NO'nun iyon dengesi, antioksidan cevaplar üzerindeki etkisi, oksidatif mekanizma üzerine olası katılımı ve tuz stresinin olumsuz etkilerini iyileştirilebilirliği araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Tuz Stresi ve Bitki

2.1.1. Tuz stresinin doğası ve mekanizmaları

Tuzluluk, dünya çapında tarıma en çok zarar veren abiyotik stres faktörlerinden biri olup küresel iklim değişikliği ile büyük ölçüde artacağı öngörülmektedir (da Silva, Fontes ve Modolo, 2017; Reddy, Sanish ve Iyengar, 1992). Dünyadaki arazilerin yaklaşık %7'si normalden çok yüksek tuz miktarına sahiptir ve ekili arazilerin yaklaşık %20'si, sulanan alanların da yaklaşık %33'ü tuzdan etkilenmiş durumdadır (Kibria, Hossain, Murata ve Hoque, 2017). Her geçen yıl yaklaşık üç hektar ekilebilir arazi, toprak tuzluluğundan etkilenmektedir ve bu da tuzluluktan etkilenen bölgede yıllık %10'luk bir artışa neden olmaktadır (Shrivastava ve Kumar, 2015; Bose ve diğerleri, 2017). Topraktaki en yaygın çözünebilir tuzlar, sodyum klorür (NaCl) ve sodyum sülfattır (Na_2SO_4). Ayrıca, toprakta önemli miktarda kalsiyum sülfat (CaSO_4), magnezyum sülfat (MgSO_4), potasyum nitrat (KNO_3) ve sodyum bikarbonat (NaHCO_3) tuzları bulunmakla beraber bu tuzların çoğu suda tamamen çözünmemektedir (Hasanüzzaman, Nahar ve Fujita, 2013). Bitki kökleri toprakta bulunan Na^+ ve Cl^- iyonları ve diğer katyonlardan etkilenir. Bu iyonların miktarları da oldukça önemli olup, glikofitler için 1-150 mM; halofitler için 150 mM'dan daha fazla olduğu bildirilmiştir (Munns ve Tester, 2008). Bununla birlikte, bu iyonların alımı bitki büyüme aşamasına, genetik karakterlere ve sıcaklık, nispi nem, ışık yoğunluğu gibi çevresel faktörlere bağlıdır. Fizyolojik olarak tuzluluk, bitkilerde spesifik iyon toksisitesi, ozmotik stres ve oksidatif hasarı içeren tuzluluğun çok yönlü olumsuz etkilerinden dolayı bitki büyümesi ve gelişimi için en sınırlayıcı faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Munns, James ve Läuchli, 2006; Bose ve diğerleri, 2017).

İyon toksisitesi, iyon dengesinin bozulmasına bağlı olarak ortaya çıkmakta ve bitkide beslenme bozukluklarına sebep olmaktadır. Bitki büyüme ortamında bulunan tuz, K^+ alınımıyla rekabet halinde olan Na^+ miktarını artırmaktadır. Hücrelerde Na^+ miktarı arttıkça, hücre dışına K^+ akışı gerçekleşmekte böylece K^+ sızıntısı tetiklenerek sitozolde K^+ eksikliği oluşmaktadır (Chokshi, Pancha, Ghosh ve Mishra, 2017). Hücre içinde miktarı artan Na^+ , hücre zarındaki Ca^{2+} 'nun da yerini alır. Sonuç olarak, tuz stresi sırasında Na^+ miktarı, hücrel iyon dengesini, özellikle de K^+/Na^+ oranını ortadan kaldırmaktadır (Rahman,

Nahar, Hasanuzzaman ve Fujita, 2016). Toprakta ya da herhangi bir bitki büyüme ortamında yüksek tuzluluk, doğrudan ozmotik potansiyeli azaltarak su alımını azaltılmasına dolayısıyla hücreden su çıkışına ve stomanın kapanmasına neden olur (Shabala ve Cuin, 2007; Chokshi, Pancha, Ghosh ve Mishra, 2017; Rajput ve diğerleri, 2017). Hem ozmotik stres hem de iyon toksisitesi bitki fotosistemini engelleyerek aşırı miktarda ROS (1O_2 , O_2^- , H_2O_2 ve OH^*) üretimine yol açmaktadır (Hasanüzzaman, Nahar ve Fujita, 2013).

Rahman, Miyake ve Takeoka (2016), pirinç bitkilerinde, tuzluluğun su kıtlığına ve kloroza neden olduğunu ve sonuçta bitki büyümesini azalttığını gözlemlemiştir. Ayrıca, tuz kaynaklı stresin neden olduğu hücre içine Na^+ akışı ve hücre dışına K^+ çıkışının iyon dengesini bozarak bitki için gerekli olan farklı besinlerin alımını azalttığını bildirmişlerdir. Pek çok bitkide tuz kaynaklı oksidatif stres ile büyüme azalmasına dair bilgiler mevcuttur (Kibria, Hossain, Murata ve Hoque, 2017; Chokshi, Pancha, Ghosh ve Mishra, 2017). Tuzluluk sadece çimlenmeyi ve bitki büyümesini engellemekle kalmayıp aynı zamanda verimi düşürerek verim ile ilişkili parametreleri ve ürün kalitesini olumsuz etkilemektedir (Rahman, Miyake ve Takeoka, 2016). Stavridou, Hastings, Webster ve Robson (2017), biyoenerji için kullanılan çimenlerde biyokütle veriminin tuzluluk ile belirgin şekilde engellendiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle, tuz stresi bitki büyüme ortamının besin düzenini bozarak bitkinin fizyolojisi ve metabolizmasını ve dolayısıyla büyüme ve verimini büyük ölçüde engellemektedir.

2.1.2. Tuz stresine adaptasyon mekanizmaları

Bitkiler yüksek tuz konsantrasyonuna sahip topraklarda hayatta kalmak için çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar geliştirir. Bunlar, iyon homeostazisi ve birikimi, iyon taşınması ve alınımı, ozmo-koruyucuların ve denge oluşturan uygun ozmotik bileşiklerin biyosentezi, antioksidan enzim aktivasyonu ve antioksidan bileşiklerin sentezi, poliamin sentezi, Nitrik oksit (NO) üretimi ve hormon modülasyonu olarak sınıflandırılmaktadır.

İyon Dengesi

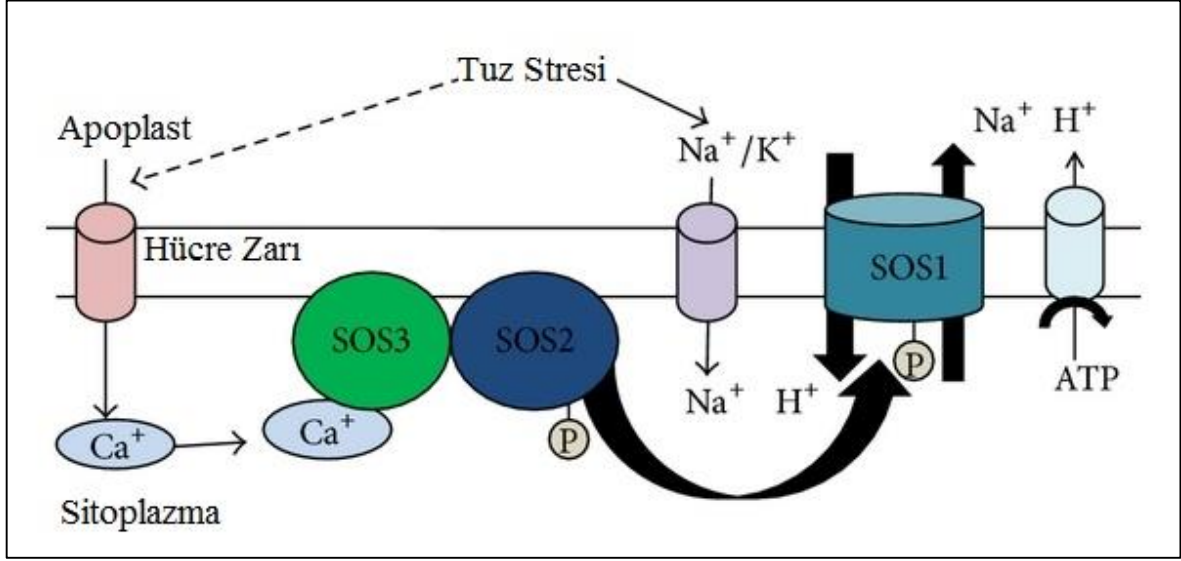
İyon alınımı ve birikimi arasındaki dinamik ile sağlanan iyon dengesi hem normal hem de stres koşullarında bitki büyümesi için önem taşımaktadır (Xiaomu, Niu, Bressan, Hasegawa ve Pardo, 1995; Serrano, Mulet ve Rios, 1999; Hasegawa, 2013).

Sitoplazmada bulunan yüksek tuz konsantrasyonu bitkiler tarafından tolare edilemediği için fazla tuz vakuole taşınarak veya daha yaşlı dokulara aktarılarak hücreye zarar vermesinin önüne geçilmektedir (Reddy, Sanish ve Iyengar, 1992).

Toprakta bulunan esas tuz formu olan NaCl için en önemli konu Na⁺ iyonun taşınımı olmaktadır. Na⁺ iyonu sitoplazmaya alındıktan sonra vakuole Na⁺/H⁺ antiportırı ile taşınmaktadır. Bu taşınmanın elektrokimyasal gradiyenti ise, vakuol membranında bulunan proton pompaları ile oluşturulmaktadır (Blumwald, 1987). İki tip H⁺ pompası bulunmaktadır, bunlar vakuolar tip H⁺ -ATPaz (V-ATPaz) ve vakuolar pirofosfatazdır (V-PPaz) (Dietz, Tavakoli ve Kluge, 2001; De Lourdes Oliviera Otoch ve diğerleri, 2001; Wang, Lüttge ve Ratajczak, 2001).

De Lourdes Oliviera Otoch ve diğerleri (2001) tuz stresine maruz kalan *Vigna unguiculata* fidelerinin hipokotillerinde, stres koşullarında, V-ATPaz pompasının aktivitesinde bir artış görüldüğünü bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, tuz stresi koşullarında halofit *Suaeda salsa*'nın V-ATPaz aktivitesinde de artış gözlemlendiği bildirilmiştir.

İyon dengesinin sağlanması ve tuz toleransının oluşturulmasında SOS sinyal yolağının önemi bilinmektedir (SOS: Salt Overly Sensitive) (Hasegawa, Bressan, Zhu ve Bohnert, 2000; Sanders, 2000). SOS sinyal yolağı (Şekil 2.1) üç ana proteinden oluşmaktadır, bunlar SOS1, SOS2 ve SOS3'dür. SOS1, hücre zarı Na⁺/H⁺ antiportırını kodlayarak hücreye Na⁺ akışını düzenlemek ve Na⁺ 'ın kökten uzun mesafeli taşımak ile görevlidir (Shi, Ishitani, Kim ve Zhu, 2000; Shi, Quintero, Pardo ve Zhu, 2002). SOS2 geni, bir serin/treonin kinaz tarafından kodlanmakta ve tuz stresıyla aktive edilen Ca⁺ sinyalleri tarafından oluşturulmaktadır (Liu, Ishitani, Halfter, Kim ve Zhu, 2000). SOS3 ise Ca²⁺ bağlayıcı bir proteindir.



Şekil 2.1. Tuz stres yanıtlarında SOS yolağı (Gupta ve Huang, 2014)

SOS2 proteininin C-terminal düzenleyici bölgesi, SOS3 proteini için bir etkileşim bölgesi olarak işlev görmektedir (Şekil 1). SOS2 ve SOS3 proteinleri arasındaki bu etkileşim kinaz aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Guo, Qiu ve Quintero, 2004). Kinaz aktivasyonu, SOS1 proteinini fosforile ederek taşıma aktivitesini artırır (Quintero, Ohta, Shi, Zhu ve Pardo, 2002). Bu sırada SOS2, SOS3 ile bağlanmasını kolaylaştırmak üzere döner. SOS3 proteini, SOS2 proteininin otoinhibisyonunu devre dışı bırakarak onunla etkileşime girer ve aktive eder. Böylece SOS3-SOS2 kompleksi, hücre zarında SOS1'i fosforile ettiği bölgeye yüklenir (Şekil 2.1). Fosforillenmiş SOS1 proteini, hücre dışına Na^+ akışını artırarak hücredeki Na^+ toksisitesini azaltır. Sitoplazmadaki iyon konsantrasyonunun düşük seviyede tutulması, bitkiler için hayati önem taşımaktadır, çünkü tuzlulukla artan Na^+ konsantrasyonu, bitkiyi ölüme kadar götürebilmektedir. Bu nedenle membranlardan iyon taşınımı, sitoplazmada iyon konsantrasyonunun korunmasında bütünleyici bir rol oynamaktadır. (Sairam ve Tyagi, 2004).

Tuzlu ortamlarda yaşayan bitkilerin hayatta kalabilmesi için hücresel K^+ dengesinin K^+/Na^+ lehine sürdürülmesi hayati önem taşımaktadır. Enzim aktiviteleri için ideal K^+ konsantrasyonu, 100 mM K^+ 'dur. Vakuol içindeki K^+ konsantrasyonu ise 10 mM ile 200 mM arasında değişmektedir. Vakuol, bitki hücresi içindeki en büyük K^+ havuzu olarak işlev görmektedir. K^+ , hücre içinde turgorun korunmasında önemli bir rol oynar. K^+ iyonları, bitki hücresine konsantrasyon gradiyentine karşı, K^+ taşıyıcısı ve membran kanalları tarafından taşınır. Yüksek afiniteli K^+ alım mekanizmaları, hücre dışı K^+ konsantrasyonu düşük

olduğunda devreye girer, düşük afiniteli alım ise hücre dışı K^+ konsantrasyonu yüksek olduğunda, K^+ kanalları ile gerçekleştirilir. Buradan hareketle, iyon alım mekanizmaları, birincil olarak topraktaki mevcut K^+ konsantrasyonu tarafından belirlenir. Tuzluluk stresi sırasında toprakta artan Na^+ konsantrasyonu, hücre içerisinde Na^+ iyonu ile K^+ iyonunun taşıyıcı için yarışmasına neden olur, çünkü her iki iyon da aynı taşıyıcı ile taşınmaktadır sonuç itibariyle K^+ alımını azalmış olur (Munns ve Tester, 2008; Sairam ve Tyagi, 2004)

Denge Oluşturan Uygun Ozmotik Bileşik Birikimi

Denge oluşturan uygun ozmotik bileşikler, kimyasal olarak çeşitli organik bileşiklerden oluşan bir grup yüksüz, polar, doğada çözünür ve yüksek konsantrasyonlarda bile hücrel metabolizmaya karışmaz. Bunlar prolin (Hoque ve diğerleri, 2007; Ahmad, Jaleel, Salem, Nabi ve Sharma, 2010; Hossain ve diğerleri, 2011; Nounjan, Nghia ve Theerakulpisut, 2012; Tahir, Aziz, Farooq ve Sarwar, 2012) glisin betain (Khan, Ungar ve Showalter, 2000; Wang ve Nii, 2000), şeker (Kerepesi ve Galiba 2000; Bohnert, Nelson ve Jensen, 1995) ve poliollerdir (Ford, 1984). Denge oluşturan uygun ozmotik bileşikler, farklı bitki türlerinde, değişen miktarlarda sentezlenir ve biriktirilir. Örneğin, Plumbaginaceae familyasının bazı üyelerinde kuaterner amonyum bileşiklerinden beta alanin betainin birikimi oldukça kısıtlı iken (Hanson ve diğerleri, 1994), prolin aminoasiti kolayca biriktirilir. Ozmotik bileşik birikimi bitki takımları arasında farklılık göstermektedir (Saxena, Kaur ve Verma, 2013: 197–232).

Tuz stresi ile birlikte serbest amino asitlerin yaklaşık %55'ini oluşturan sistein, arginin ve metiyonin miktarı azalırken, prolin aminoasitinin miktarı artar (El-Shintinawy ve El-Shourbagy, 2001).

Prolin, tuzluluk stresinin hafifletilmesini sağlamak üzere biriktirilen bir aminoasittir (Saxena, Kaur ve Verma, 2013: 197–232, Matysik, Alia, Bhalu ve Mohanty, 2002; Ben Ahmed, Ben Rouina, Sensoy, Boukhriss ve Ben Abdullah, 2010). Tuzluluk stresinde biriken hücre içi prolin sadece strese karşı tolerans sağlamakla kalmaz, aynı zamanda bitki için organik bir azot rezervi olarak da iş görür. Ben Ahmed ve diğerleri (2010), dıştan uygulanan prolinin, antioksidatif enzim ve fotosentetik aktivitenin artırılması yoluyla zeytinde (*Olea europaea*) tuz toleransını sağladığını bildirmişlerdir. Prolinin, antioksidan enzim aktivitesini artırdığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Hoque ve diğerleri, 2007)

Glisinbetain, mikroorganizmalarda, yüksek bitkilerde ve hayvanlarda bulunan ve geniş bir pH aralığında elektriksel olarak nötr olarak kalabilen, suda çözünen, amfoterik bir kuaterner amonyum bileşiğidir, yapısal özellikleri nedeniyle hem enzimler hem de protein kompleksleri gibi makromoleküllerin hidrofobik ve hidrofilik kısımlarıyla etkileşir. Glisinbetain, stres koşulları altında hücreyi ozmotik dengeyi sağlayarak korumaktadır (Gadallah, 1999). Glisinbetainin birikimi, bitki takımları arasında farklılık göstermektedir. Rahman, Miyake ve Takeoka (2002), tuz stresine maruz kalan *Oryza sativa*'da glisin betainin uygulamasının, fidelerinin ultrastrüktürü üzerindeki olumlu etkisini bildirmişlerdir.

Bir diğer denge oluşturan ozmotik bileşik grubu ozmokokoruyucu ve karbon kaynağı olması bakımından bitki hücreleri için önemli olan şekerlerdir (Kerepesi ve Galiba, 2000).

Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Bitkilerdeki abiyotik ve biyotik stres, kloroplast ve mitokondride elektron taşıma zincirlerinin (ETC) fazla aktifleşmesine, serbestleşmesine ve bozulmasına neden olmaktadır. Bu koşullar altında moleküler oksijen (O_2), ROS birikmesine yol açan bir elektron alıcısı görevi görür. Singlet oksijen (1O_2), hidroksil radikali (OH^\cdot), süperoksit radikali (O_2^*) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), tamamen oksitleyici bileşiklerdir ve bu nedenle hücre bütünlüğü için potansiyel zararlı madde olarak nitelendirilmektedirler (Groß, Durner ve Gaupels, 2013).

Enzimler ve enzimatik olmayan bileşikleri içine alan antioksidan metabolizması, tuzluluğun neden olduğu ROS'ların detoksifiye edilmesinde kritik rol oynamaktadır. Tuzluluk toleransı, SOD, CAT, GPX, APX, GR ve enzimatik olmayan antioksidan bileşik birikimi gibi antioksidan aktivitesi ile pozitif olarak ilişkilidir. (Asada, 1999; Gupta, Stoimenova ve Kaiser, 2005).

Poliaminler

Poliaminler (PA), bitkiler aleminde sıklıkla görülen, düşük moleküler ağırlıklı, polikasyonik alifatik moleküllerdir. Poliaminler, hücre çoğalmasının düzenlenmesi, somatik embriyogenez, farklılaşma ve morfojeniz, yumrulara dormansi kırılması ve tohum çimlenmesi, çiçek ve meyvenin gelişimi ve yaşlanma gibi normal büyüme ve gelişimde

çeşitli rol oynamaktadırlar (Gupta, Dey ve Gupta, 2013: 1053-1072). Ayrıca, tuzluluk dahil olmak üzere abiyotik stres toleransında önemli bir rol oynar ve içsel poliamin miktarındaki artışlar bitkilerde stres toleransı ile ilişkilendirilmektedir (Gupta, Dey ve Gupta, 2013: 1053-1072; Yang, Zhang, Liu, Wang ve Liu, 2007; Groppa ve Benavides, 2008; Kovács, Simon-Sarkadi, Szucs ve Kocsy, 2010).

Hormonlar

Absisik Asit (ABA), bitkilerde stresin olumsuz etkilerini iyileştiren önemli bir bitkisel hormondur. Tuzluluk stresi ozmotik strese ve su azlığına neden olmakta, sürgün ve köklerde ABA üretimini artırmaktadır (Popova, Stoinova ve Maslenkova, 1995).

ABA, tuz stresinden kaynaklanan ozmotik ve iyonik streslere yanıt veren genlerin ifadesini düzenleyen hücresel bir sinyaldir. Bu genlerden bazıları, Glutasyon-S-transferaz, SOD, peroksiredoksin, tubulin, aktin, aneksin, sıcaklık şoku proteinleri, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz dehidrogenaz (GAPDH), ATP sentaz, Rubisco aktivaz olarak bildirilmiştir (Jeschke, Peuke, Pate ve Hartung, 1997).

Salisilik asit (SA) ve brassinosteroidler (BR) gibi hormonal özelliklere sahip diğer bazı bileşikler de bitki abiyotik stres yanıtlarında görevlidirler (Clause ve Sasse, 1998). Tuzluluk stresi altında yetiştirilen pirinç fidelerinde içsel SA miktarı, salisilik asit biyosentetik enzimin aktivitesindeki artışla birlikte artmıştır (Sawada, Shim ve Usui, 2006). SA ön uygulaması, Na⁺ 'nın köklerde birikmesini engellememiş ancak hücrede birikmiş Na⁺ konsantrasyonunun azaltılmasına yardımcı olmuştur (Jayakannan, Bose ve Babourina, 2013).

2.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

ROS'lar normal hücre metabolizması sırasında oluşan oksijenin kısmen indirgenmiş veya aktive edilmiş türevleri olarak bilinmekte olup hücrenin farklı kısımlarında oluşabilmektedir. Çevresel stres faktörleri, ROS üretiminin artmasına yol açarak, oksidatif strese neden olmaktadır. Hücrenin tolare edemeyeceği kadar yüksek konsantrasyonlarda oluşturulan ROS, DNA, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere farklı hücresel bileşenlerle reaksiyona girerek oksidatif yaralanmalara neden olmakta ve hücre için toksik hale gelmektedir. ROS'lardan kaynaklanan bu hücresel hasarı önlemek için, ROS üretimi ve

süpürme arasında önemli bir dengenin olması gerekmektedir. Peroksizomlar, kloroplastlar ve mitokondri yüksek oranda oksitleyici metabolik aktiviteye sahip veya fazla miktarda elektron içeren organellerdir, bu nedenle bitki hücrelerinde ROS üretiminin ana kaynaklarıdır. ROS üretiminin yoğunluğu, süresi ve hücre içi lokalizasyonu, ROS sinyallerinin hücre içi iletiminde çok önemlidir (Leshem ve Levine, 2007).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), bitki hücrelerinde çoğunlukla fotosentez sırasında ve daha az miktarda da solunum sırasında üretilmektedir. H_2O_2 , ROS'ların en kararlısıdır ve bu nedenle çeşitli fizyolojik süreçlerde "sinyal molekülü" olarak çok önemli bir rol oynamaktadır. Çevresel stresler sırasında hücre içi ve hücrelerarası H_2O_2 miktarları artmaktadır. Hidrojen peroksit tiyol içeren proteinlerle etkileşerek farklı sinyal yollarını ve ayrıca gen ekspresyonunu ve hücre döngüsü süreçlerini düzenleyen transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedir.

2.2.1. H_2O_2 kaynakları

Farklı oksijen türevleri, ROS olarak tanımlanmaktadır. ROS temel olarak süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve ondan oluşan bileşikleri içermektedir. Radikal olan ve olmayan ROS'lar Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Radikal olan ve olmayan ROS'lar

Serbest Radikaller	Radikal Olmayanlar
$O_2^{\cdot-}$ (Süperoksit radikali)	H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)
HO_2^{\cdot} (Hidroperoksil)	O_2 (Tekli Oksijen)
$\cdot OH$ (Hidroksil)	O_3 (Ozon)
ROO^{\cdot} (Peroksil)	$HOCl$ (Hipokloröz Asit)
RO (Alkoksil)	$ONOO^{\cdot-}$ (Peroksinitrit)

Yeryüzündeki oksijen, her biri farklı π^* anti-bağlama orbitalinde yer alan iki tane eşlenmemiş elektronu bulunan bir moleküldür. O_2 'nin iki değerlikli indirgenmesi basit bir süreç olmayıp ve tek değerlikli ara maddelerin üretimini gerektirmektedir. Tek bir elektronun eklenmesi bir enerji girişine ihtiyaç duyarak O_2 'yi süper oksit anyon radikaline indirgemektedir (Eş. 1).



Ekstra elektron dış orbitalde eşlenmemiş bir halde bulunduğu için, süperoksit serbest radikaldir. Nispeten kararsızdır, ya O_2 'ye dönüştürülür, ya da proton ile reaksiyona girerek spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi (Eş. 2) tarafından katalize edilen bir reaksiyonda H_2O_2 'ye dönüşür:



Süperoksitin aksine H_2O_2 , radikal olmayan bir ROSdur ve net yük taşımayan bir moleküldür (Halliwell ve Guuteridge, 2007). H_2O_2 'nin yarı ömrü daha uzun olduğundan dolayı süperoksit anyon radikaline göre daha uzun mesafeli bir sinyal molekülü olduğu bildirilmiştir (Vraová, Inzé ve Van Breusegem, 2002). Aquaporinler olarak bilinen membran su kanalları su ile birlikte H_2O_2 transmembran hareketini kolaylaştırmaktadır (Henzler ve Steudel, 2000).

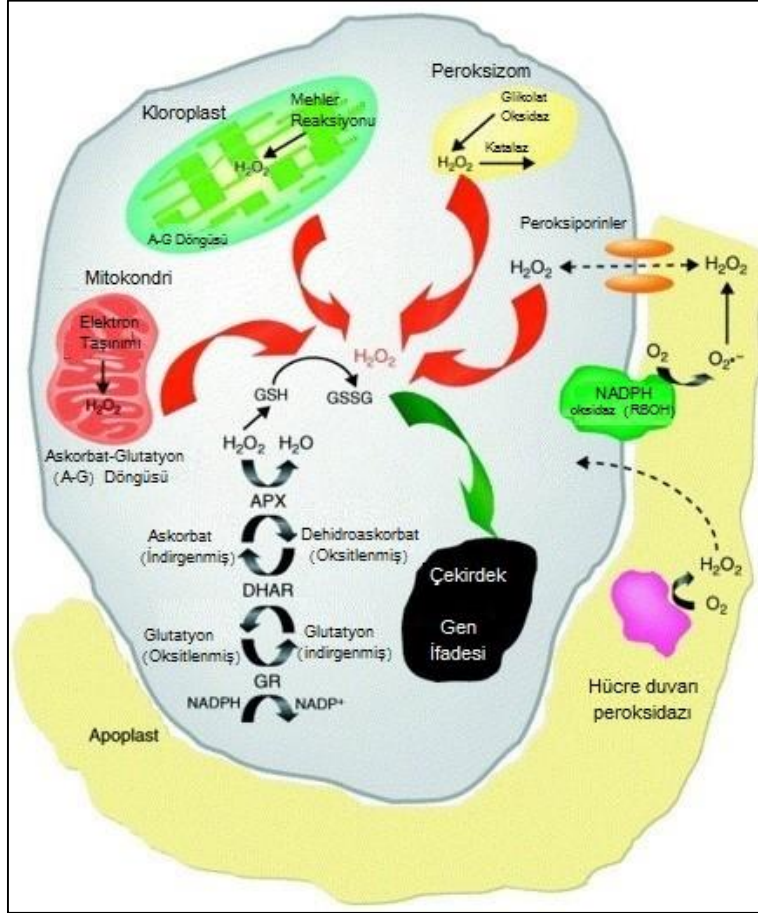
Hidrojen peroksit, sadece süperoksitin (Eşitlik 2) eşitsizliğiyle değil, aynı zamanda, $O_2^{\cdot -}$ 'nin, askorbat (Asc), tiyoller, ferredoksinler ve diğerleri (Asada, 1999) gibi bir indirgeyici (X) ile azalmasından dolayı da üretilir (Eş. 3).



Bu nedenle, hücrede bulunan H_2O_2 miktarı, $O_2^{\cdot -}$ üretimi ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır. Bununla birlikte, glikolat oksidazlar, glukoz oksidazlar, amino asit oksidazlar ve sülfonoksidazlar gibi diğer oksidazlar, ilgili substratların oksidasyonunu takiben H_2O_2 oluştururlar (Asada, 1999). Son yıllarda hücre duvarına bağlı peroksidazlar, oksalat, amin ve plazma membran NADPH oksidazları gibi $O_2^{\cdot -}/H_2O_2$ 'in diğer enzimatik kaynakları tanımlanmıştır (Bolwell ve diğerleri, 2002). Ayrıca, H_2O_2 üretiminden fotosentez ve

solunumla ilgili birçok reaksiyon sorumludur. Bu, H_2O_2 ve diğer ROS'ların normal aerobik metabolizmanın yan ürünleri olduğu anlamına gelmektedir (Mittler, 2002).

2.2.2. Hücrelerde H_2O_2 oluşumu



Şekil 2.2. Bitki Hücrelerinde H_2O_2 'in Oluşumu: Tuz stresi, PSI'yi de etkilemektedir. Stomaların kapalı olmasına bağlı olarak CO_2 alınımı kısıtlandığı için, O_2 PSI tarafından da indirgenir. Tuz stresi ile beraber, Calvin döngüsündeki enzimler inaktive olur ve bu durum döngüye katılan NADPH'ın indirgenmesini engeller. PSI'deki ferrodoksin, ortamda başka indirgeyecek $NADP^+$ bulamadığı için elektronunu FNR (Ferrodoksin NADP redüktaz) yerine O_2 'e aktarır ve sonuç olarak O_2^- , H_2O_2 'e dönüştürülür (Mehler reaksiyonu). DHAR: Dehidroaskorbat Redüktaz, GR: Glutasyon Redüktaz, GSSG: Okside olmuş Glutasyon GSH: İndirgenmiş Glutasyon, (Öcal Özdamar, Baysal Furtana, Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz, 2016)

H_2O_2 , oksidatif stres sonucu oluşan ROS'ların bir formudur. Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl üretimi süperoksitin (O_2^-) enzimatik olmayan ya da SOD tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 'ye dönüşmesi yoluyla gerçekleşir. Bitkilerde H_2O_2 , Mehler

reaksiyonu sırasında kloroplastlarda, elektron taşınımı sırasında mitokondride, fotorespirasyon sırasında ise peroksizomlarda oluşur. H_2O_2 üretiminin hücre zarına yerleşik halde bulunan NADPH Oksidaz enzimi ile de gerçekleşir (Ślesak, Libik, Karpinska, Karpinski ve Miszalski, 2007). H_2O_2 hücre zarından kolaylıkla geçebilen bir molekül olup muhtemelen peroksiyorin membran kanallarını kullandığı tahmin edilmektedir (Şekil 2.2).

2.2.3. H_2O_2 ' in görevleri ve fizyolojik işlevleri

Yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese yol açarak programlanmış hücre ölümünü sağlayan H_2O_2 (Tanou, Molassiotis ve Diamantidis, 2009b), düşük konsantrasyonlarda, çeşitli abiyotik ve biyotik streslere karşı toleransı tetikleyen bir sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır (Laloi, Apel ve Danon, 2004; Mittler, Vanderauwera, Gollery ve Van Breusegem, 2004). Hücrelerde içsel H_2O_2 konsantrasyonunun hücre için toksik olmayan bir düzeyde tutulması, bitki gelişimini destekleyerek çevresel stres faktörlerine karşı direnci güçlendirmektedir. Ayrıca H_2O_2 , çeşitli genlerin ifadesini düzenlemektedir (Neill, Desikan ve Hancock, 2002), bu genler H_2O_2 tarafından indüklenen transkriptler, proteinler, metabolizma, enerji, protein taşınması, hücreyel organizasyon ve biyogenez, savunma hücresi kurtarma ve transkripsiyon gibi fonksiyonlarla kodlanmıştır (Desikan, Mackerness, Hancock ve Neill, 2001).

Araştırmacılar, H_2O_2 'in fotorespirasyon, fotosentez, stoma hareketleri, hücre döngüsü, büyüme ve gelişmede anahtar düzenleyici molekül olarak rol oynadığını bildirmişlerdir (Mittler, Vanderauwera, Gollery ve Van Breusegem, 2004).

Bir sinyal molekülü olan H_2O_2 , diğer önemli sinyal moleküllerini (Ca^{2+} , SA, ABA, JA, etilen, NO) de aktive eder (Dempsey ve Klessig, 1995; Liu, Ishitani, Halfter, Kim ve Zhu, 2000; Desikan ve diğerleri, 2004; Wendehenne, Gould ve Lamotte, 2004). Bu sinyal molekülleri streslere dayanıklılık yanıtlarının düzenlenmesinde beraber çalışarak bitkideki büyüme ve gelişmede sürecinde hayati rol oynamaktadırlar.

H_2O_2 , bitkilerde dayanıklılık mekanizmalarında, hücre duvarının lignifikasyonunda (hücre duvarı yapısal proteinlerinin çapraz bağlanması), fitoaleksinin üretiminde (Dempsey ve Klessig, 1995) görevlidir.

2.2.4. H₂O₂'in süpürülmesi

Bitkiler oksidatif stres altında yaşamlarını devam ettirebilmek ve stresle başa çıkabilmek için ROS'ları kontrolünü ve detoksifikasyonunu sağlayan çeşitli antioksidanlara sahiptirler. Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda oksidasyon yapabilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan (elektron aktarımıyla) veya engelleyen yani oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir.

H₂O₂ birikimi, Teton tipi reaksiyon yoluyla hidroksil radikal oluşma olasılığını artırır. Bu, oksidatif stres olarak bilinen olguya yol açar (Foyer ve Noctor, 2011). Bitki hücrelerinde, enzimler ve redoks metabolitleri H₂O₂ süpürme işlemini gerçekleştirmek için sinerji içinde hareket eder (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Antioksidan enzimler

Enzim	EC numarası	Reaksiyon
Süperoksit dismutaz	1.15.1.1	$O_2^- + O_2^- + 2 H^+ \rightleftharpoons 2 H_2O + O_2$
Katalaz	1.11.1.6	$2 H_2O_2 \rightleftharpoons 2 H_2O + O_2$
Glutasyon peroksidaz	1.11.1.12	$2GSH + PUFA-OOH \rightleftharpoons GSSG + PUFA + 2 H_2O$
Glutasyon redüktaz	1.6.4.2	$NADPH + GSSG \rightleftharpoons NADP + 2GSH$
Askorbat peroksidaz	1.11.1.11	$AA + H_2O_2 \rightleftharpoons DHA + 2 H_2O$
Guaikol peroksidaz	1.11.1.7	$Donör + H_2O_2 \rightleftharpoons Oksitlenmiş donör + 2 H_2O$

2.2.5. DPI (Difenilyodinyum klorür)

H₂O₂ birikimi bir NADPH oksidaz inhibitörü (DPI) ve DPI ile muamele edilmiş bitkiler azaltılmış tuz stres toleransı ile baskılanabilir (Zhang ve diğerleri, 2007). H₂O₂, CAT'ye son derece duyarlıdır ve memeli NADPH oksidaz dahil olmak üzere, tatbik edici enzimler, DPI tarafından kuvvetli bir şekilde önlenmektedir (Leshem ve Haramaty, 1996).

2.3. RNS ve NO

NO'den türevlenen bileşikleri tanımlamak için RNS (Reaktif nitrojen türleri) terimi kullanılmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2007). RNSlerin, çeşitli toksik fizyolojik reaksiyonlar ile aşırı miktarda ve kontrolsüz üretimi sonucu bitkinin yaşadığı strese de nitrosatif stres adı verilmektedir (Klatt ve Lamas, 2000). Tıpkı ROS'lar gibi RNS'ler de hücrede yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu zaman, lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA'ya zarar vererek hücre fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır. Radikal olan ve olmayan RNSler Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Reaktif nitrojen türleri (RNS)

Serbest Radikaller	Radikal Olmayanlar
Nitrik Oksit NO [·]	Nitröz Asit HNO ₂
Nitrik dioksit NO ₂ [·]	Nitrosonium katyonu NO ⁺
Nitrat Radikali NO ₃ [·]	Nitroksil Anyonu NO ⁻
	Peroksinitrat ONOO ⁻
	Dinitrojen tetroksit N ₂ O ₄
	Dinitrojen trioksit N ₂ O ₃

Nitrik oksit, dağılma gücü yüksek (H₂O'da 4.8×10⁻⁵ cm² s⁻¹) en küçük iki atomlu moleküllerden biridir ve hidrofobik özellikler sergilemektedir. Böylece NO, hücrenin hidrofilik bölgelerinde (sitoplazma) kolayca geçemese bile, zarların lipid fazı boyunca serbestçe dağılabilir (Arasimowicz ve Floryszak-Wieczorek, 2007). Biyolojik dokularda NO'nun yarı ömrünün 6 sn' nin altında olduğu tahmin edilmektedir. Bu kısa yarı ömrü, (1) doğrudan metal kompleksleri ve diğer radikallerle ve dolaylı olarak DNA, proteinler ve lipidler ile RNS olarak reaksiyona giren NO'nun oldukça reaktif özelliklerini yansıtmaktadır (Bethke, Badger ve Jones, 2004).

NO, Karbonmonoksit (CO) ile beraber hava kirletici gazlar kategorisinde yer almakta idi. Bitkiler için ise, sinyal molekülü olarak bilinen tek gaz Etilendi. NO'in bitkiler tarafından yayıldığı ilk kez 1975 yılında Klepper tarafından hayvanlardan çok daha önce ortaya çıkarılmıştır (Klepper, 1978, 1979). 1992 yılında Nitrik Oksit *Science Magazine* dergisi tarafından "Yılın Molekülü" olarak seçilmiştir (Köshland, 1992).

Robert F Furchgott, Louis J. Ignorro ve Ferid Murad isimli bilim adamları “Kardiyovasküler Sistemde Bir Sinyal Molekülü Olarak Nitrik Oksit” konusuna ilişkin keşiflerinden dolayı 1998 yılında Fizyoloji ve Tıp alanında Nobel ödülü almaya hak kazanmışlardır (Sorelle, 1998).

2.3.1. NO’in fizyolojik işlevleri

Nitrik Oksit, memeli sistemlerinde damar basıncının azalması, sinir iletimi, bağışıklık ve sitotoksiste sırasında ikincil haberci olarak görev alan bir moleküldür. NO’in bitkiler aleminde ise biyotik ve abiyotik stres koşullarında stres cevabına aracılık eden bir sinyal molekülü olarak görev yaptığı bilinmektedir. NO, kırmızı ışık yerine çimlenmeyi indükleyen bir faktör olup (Belligni ve Lamatina, 2001), iyon dengesi ve çiçeklenmeyi de etkilemektedir (Neill, Desikan ve Hancock, 2003a). Siklik Guanozinmonofosfat (cGMP), siklik ADP-riboz (cADPR, riboz ve Ca^{++} gibi çeşitli haberci molekülleri uyarmaktadır (Neill, Desikan ve Hancock, 2003b).

Birçok biyolojik süreçte görev alan NO hem bitki savunma mekanizmasında bir sinyal molekülü olarak hem de büyüme ve gelişmede hormonal özelliklere sahip bir bileşik olarak rol oynamaktadır (Leshem ve Haramaty, 1996; Delledonne, Xia, Dixon ve Lamb, 1998).

Bitki büyümesi üzerine NO’nun etkilerinde konsantrasyonun son derece önemli olduğu vurgulanmıştır (Leshem ve Haramaty, 1996). NO’nun yüksek konsantrasyonlarının (40-80 pphm) domates, marul ve bezelye bitkisinde büyümeyi inhibe ettiği, düşük konsantrasyonlarının (0-20 pphm) ise büyümeyi teşvik ettiği ileri sürülmüştür (Leshem ve Haramaty, 1996).

Dıştan uygulanan NO veya NO donörlerinin, patojen (Delledonne, 2005), ışık (Belligni ve Lamattina, 2001), yerçekimi (Beligni ve Lamattina, 1999), oksidatif strese (Zhao ve diğerleri, 2004; Shi, Quintero, Pardo ve Zhu, 2002; Zhao, Zhao, Wu ve Zhang, 2006) karşı bitki cevaplarını etkilediği bilinmektedir.

2.3.2. Hücrelerde NO oluşumu

Çok sayıda NO üretim yolu bilindiği halde, bunların bitkilerde sadece birkaç tanesi tam olarak aydınlatılabilmektedir (Şekil 2).

NO'nun ya Arjinin ile Nitrat/Nitritin substrat olarak kullanıldığı farklı enzimatik yollarla (Besson-Bard ve diğerleri, 2009) ya da nitrifikasyon/denitrifikasyon olaylarını kapsayan enzimatik olmayan yollarla sentezlendiği kabul edilmektedir (Bethke, Badger ve Jones, 2004; Neill, Desikan, Clarke, Hurst ve Hancock, 2002; Rockel, Strube, Rockel, Wildt ve Kaiser, 2002). Başlıca enzimatik NO kaynakları; sitozolde NR (Nitrat Redüktaz), perokizomlarda NOS (Nitrik Oksit Sentaz), hücre zarına bağlı olarak bulunan Ni-NOR (Nitrit-NO redüktaz) ve peroksizomlarda bulunan XOR (Ksantin Oksiredüktaz) dır (Corpas, Barroso ve Carreas, 2004). Enzimatik olmayan NO oluşumu, NO₂'nin, kloroplast ve apoplastik alanlarda, asidik pH'da askorbik asit ile (Henry, Ducastel ve Guissani, 1996) veya karotenoidler tarafından ışığa bağımlı indirgenmesi ile oluşmaktadır (Cooney, Harwood, Custer ve Franke, 1994). NO sentez yolları ile ilgili ayrıntılı literatür bilgisi, Ünsal ve Arısan (2009) ve Khan, Mobin, Mohammad ve Corpas (2015: 100-102) tarafından verilmiştir.

Gaz halinde reaktif bir serbest radikal olan NO, fizyolojik pH'da protonlanabilir ve güçlü bir lipid peroksidasyon başlatıcısı olan azotdioksiti (NO₂), hidroksil radikalini (OH), fenilalanin, tirozin gibi aromatik halkaları, nitrolama ajanı olan nitronyum iyonunu (NO₂⁺) oluşturabilir (Halliwell, 1984: 180-206). Bu yüzden NO'nun sinyal iletim olaylarını başlatmasının hemen ardından, hızla ortadan kaldırılması veya metabolize edilmesi gerekmektedir (Şekil 2.3).

NO konsantrasyonu sentez ve yıkım reaksiyonları ile düzenlenmektedir. Pek çok olası NO kaynağı vardır (Şekil 5.3). NO üretimine yol açan indirgeyici yollar öncelikli olarak nitrattan nitrat redüktaz (NR) enzimi aracılığıyla üretilen nitrittir. NO, enzimatik olmayan yolda ise denitrifikasyon, nitrojen fiksasyonu ve solunum reaksiyonlarının bir yan ürünü olarak üretilir. Çözeltiden NO'nun hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasından süperoksit anyonlar, glutasyon, geçiş metalleri ve simbiyotik olmayan hemoglobinler sorumludur. Hayvanlarda NO oluşumundan sorumlu enzim NO sentaz (NOS) 'dır. Bitkilerde, NOS benzeri enzimlerin aktivitesi belirlenmiştir (Şekil 2.3) (Molassiotis ve Fotopoulo, 2011): NO üretmek için iki farklı yol vardır:

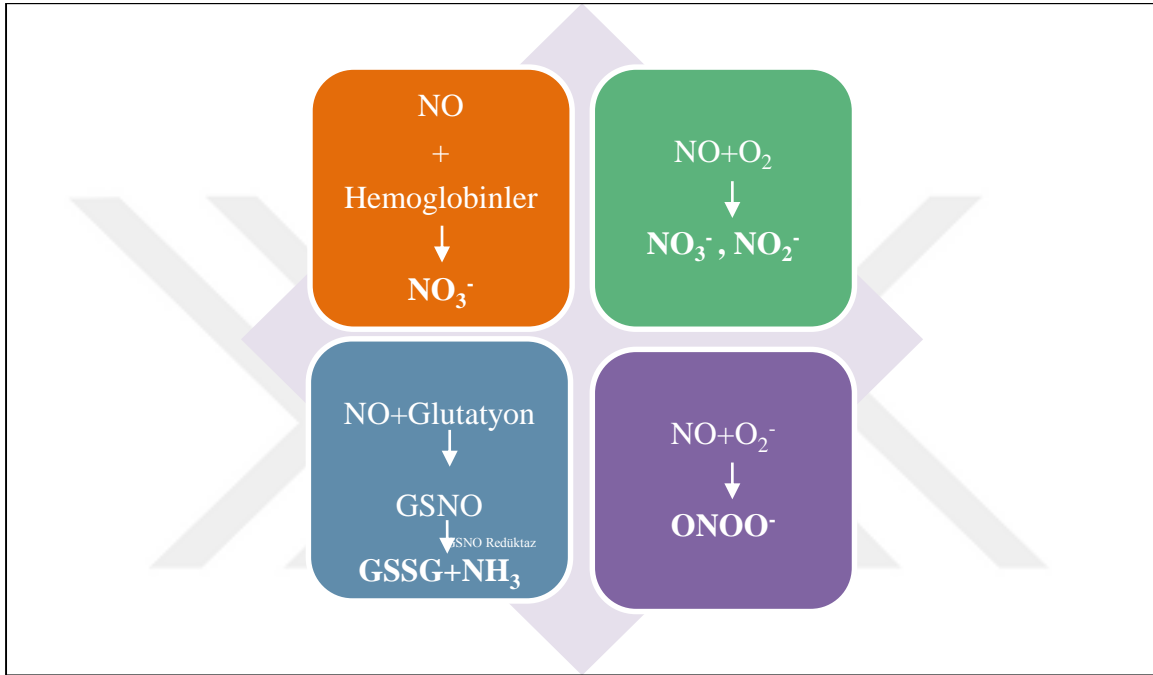
Bitkilerde, Nitritin NO' ya indirgenmesinin başlangıçta sadece nitrat redüktazlar (NR) tarafından katalize edildiği düşünülmüştür (Şekil 2.3). NR, stoma açılmasının düzenlenmesinde, antioksidan enzimlerin aktivasyonunda, çevresel streslere maruz kalan bitkilerde Crassulacean Asit Metabolizmasının (CAM) indüklenmesinde yer alır. Ayrıca Nitrit'in NO' ya indirgenmesi, peroksizomal bir enzim olan ksantin oksidoredüktaz (XOR) ile de katalize edilebilir. Bezelye (*Pisum sativum*) yapraklarında, XOD aktivitesi peroksizomlarla ilişkilidir. Bu, ROS ve RNS üretimi arasında bir etkileşim olasılığı olduğunu düşündürmektedir. XOR, oksijen geriliminin yüksek ve düşük olmasına bağlı olarak sırasıyla katalitik reaksiyon sırasında O_2^- ve NO serbest radikallerini üretmektedir. Bu serbest radikallerin üretilmesi, XOR'un anahtar rolünü kanıtlamaktadır. Başka bir Ni-NOR enzimi, tütün köklerinde nitritten NO üretebilir (Li ve diğerleri, 2008).

Bitkilerde NO, enzimatik olmayan mekanizmalarla da üretilir. Nitrifikasyon/denitrifikasyon katyonu çevrimi N_2O oksidasyonunun yan ürünü olarak, NO'yu atmosfere salmaktadır (Şekil 2.3). Enzimatik olmayan nitrit indirgenmesinin NO oluşumuna yol açabileceği bilinmektedir. Bu reaksiyon, nitritin NO ve nitratları bozduğunda asidik pH'da gerçekleşmektedir. Nitrit ayrıca pH 3-6'da askorbik asit ile kimyasal olarak indirgenerek NO ve dehidroaskorbik asit ürettiği bilinmektedir. Bu reaksiyon, askorbik asidin mevcut olduğu bilinen kloroplast ve apoplastik boşlukta mikrolokalize pH koşulları altında gerçekleşmektedir. Arpa alevron katmanlı hücrelerde, NO, asidik pH değerinde askorbat ile nitrite indirgenerek sentezlenmektedir. NO oluşumu için bir başka enzimatik olmayan bir mekanizma (Neill, Desikan ve Hancock, 2003a; Bethke, Badger ve Jones, 2004) ışık kaynaklı karotenoid ile NO_2 indirgenmesidir.

2.3.3. NO'in detoksifikasyonu

NO, reaktif bir serbest radikal molekülüdür. Bu yüzden sinyal iletim olaylarını başlatmasının ardından, hızlı bir biçimde ortadan kaldırılması veya metabolize olması gerekmektedir. NO, kararsızdır ve her an oksijen ile reaksiyona girerek nitrit ve nitrat oluşturmak için hazırdır (Gladwin ve diğerleri, 2006). NO hem hayvanlarda hem de bitkilerde ROS'lar ile aynı yer ve aynı zamanda üretilmektedir. NO, oldukça hızlı ve geri dönüşümlü bir şekilde ya proteinlerin tiyol grupları ile ya da NO sinyal iletiminde protein S-nitrozilasyonuna neden olan tripeptid glutatyon (GSH) tepkimeye girebilir. Bitki hücrelerinde Glutatyon konsantrasyonu; 2 ile 3 mM arasında değişmektedir ve bu yüzden S-nitrozile edilmiş

glutasyon (GSNO) oluşumu, sebest NO konsantrasyonları üzerine oldukça etkilidir. GSNO, GSNO redüktaz enzimi ile metabolize edilir ve bu enzim, NO'nun biyo yararlılığının kontrol edilmesinde ve proteinlerin S-NO gruplarının oluşumunda ve dolayısıyla NO düzenleyici yollar üzerine etkilidir (Feechan ve diğerleri, 2005). NO, ayrıca, guanil siklazda veya hemoglobinlerde bulunan hem gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girebilir (Perazzolli ve diğerleri, 2004). Bitkilerde NO'nun ortadan kaldırılması Şekilde 2.4'de özetlenmiştir.



Şekil 2.4. Bitkilerde Nitrik Oksit'in ortadan kaldırılması ve detoksifikasyonu

Hb₂, oksijen için daha düşük bir afiniteye sahiptir ve düşük oksijen düzeylerinde nitritten NO üretmek için daha iyi bir bileşiktir (Molassiotis ve Fotopoulo, 2011).

2.4. H₂O₂ ve NO Etkileşimi

2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) ilişkisi

ROS ve RNS, bitkilerde hücrel sinyal sistemlerinin temelini oluşturan anahtar moleküllerdir. Bitkiler temel fizyolojik ve hücrel süreçler sırasında hem ROS hem de RNS'leri, sinyal iletim molekülleri olarak kullanılmaktadırlar (Blokhina ve Fagerstedt, 2010). Hücre biyolojisinin birçok aşamasında önemli görevler üstlenmelerine rağmen oksidatif ve özellikle de nitrosatif sinyal iletimi ile bu sinyallerin nasıl düzenlendikleri hakkındaki

bilgiler oldukça sınırlıdır. İlk araştırmalar, biyotik streslere karşı ROS ve RNS'nin iş birliği yaptığı ve bitki koruma cevaplarını düzenlediği yönündedir. Oksidatif ve nitrosatif sinyaller, hücre biyolojisinin birçok aşamasındaki önemli olmalarına rağmen, nasıl düzenlendikleri hakkındaki bilgiler oldukça sınırlı olmakla birlikte abiyotik stres koşullarında oksidatif ve nitrosatif sinyaller arasında güçlü bir köprü bulunduğunu göstermektedir.

Ayrıca bulgular abiyotik stres koşullarında oksidatif ve nitrosatif sinyal iletimleri arasında güçlü karşılıklı bir etkileşim bulunduğunu göstermektedir (Molassiotis ve Fotopoulou, 2011). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla birlikte H_2O_2 ve NO'nun bitkilerde, birbirini etkileyen sinyal molekülleri olarak işlev gördüğü ortaya çıkarılmıştır (Neill, Desikan, Clarke, Hurst ve Hancock, 2002; Neill, Desikan ve Hancock, 2003a, 2003b; Wendehenne, Gould ve Lamotte, 2004).

Hem normal şartlarda hem de abiyotik stres şartlarındaki bitkilerde dışsal olarak uygulanan NO'nun H_2O_2 miktarını azalttığına dair pek çok çalışma mevcuttur. Tuzluluk (Li ve diğerleri, 2008), düşük sıcaklık (Liu, Ishitani, Halfter, Kim ve Zhu, 2000), ağır metal (Hsu ve Kao, 2005) gibi abiyotik stresler ile birlikte artan içsel H_2O_2 miktarının uygulanan NO tarafından azaltıldığı belirtilmiştir. Buna karşılık, kavak kalluslarıyla yapılan bir çalışmada ise besi ortamında büyütülen kalluslarda tuz stresi H_2O_2 miktarında artış sağlamışken besi ortamına uygulanan NO'nun H_2O_2 miktarında artışa neden olduğu belirlenmiştir (Zhang ve diğerleri, 2007).

ABA, Kalsiyumun hem plazma zarı kanallarından hücre içine girişini hem de merkezi vakuol gibi içsel bölmelerden sitozole gönderilmesini uyararak sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonunda artışa neden olur (Schroeder, 2003). Kalsiyumun hücre içine girişi H_2O_2 veya O_2^- gibi reaktif oksijen türlerinin kullanıldığı bir yol ile uyarılır (Pei ve diğerleri, 2000). Bu ikincil haberciler plazma zarındaki kanalı aktifleştirir.

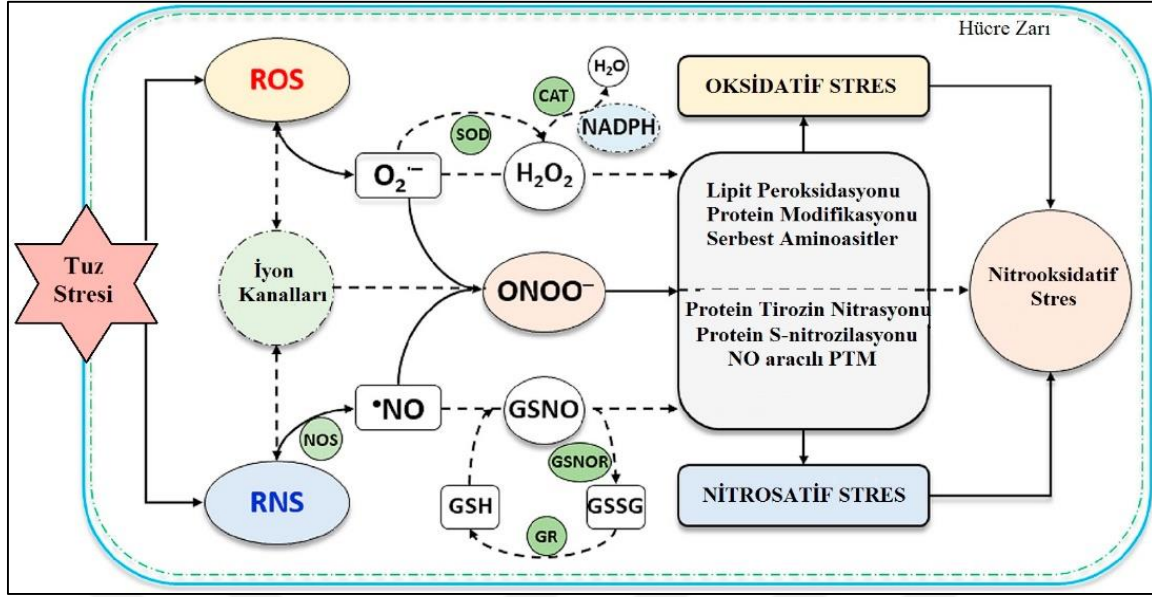
2.4.2. H_2O_2 ve NO ilişkisinin tuz stresindeki rolü

Toprak tuzluluğu, küresel ölçekte ürün verimini ve besin güvenliğini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Tuzluluk, bitkiyi ozmotik strese maruz bırakıp, iyon dengesini bozarak çeşitli metabolik olayları etkilemekte ve sonuçta bitki büyüme ve gelişmesini engellemektedir. Bitkilerin bu ozmotik ve iyonik stresler karşısında verdiği yanıtlar ise

oldukça karmaşık olup çok sayıda gen ağı ve metabolik olayı içermektedir (Hasanuzzaman ve Fujita, 2012). H_2O_2 ve NO üretiminin değiştirilmesi, bitkinin tuz stresine adaptasyonunu sağlayan mekanizmalar arasında sayılabilir (Avsian-Kretchmer, Gueta-Dahan, Lev-Yadun, Gollop ve Ben-Hayyim, 2004; Zhang ve diğerleri, 2006; Zhao, Tian ve Zhang, 2007). Tuz stresi hücrelerde genellikle H_2O_2 'yi de içine alan ROS üretimini artırdığı bilinirken, NO üretimi üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Zhao, Tian ve Zhang (2007), NaCl uygulamasının *Arabidopsis*'te NO-ilişkili *AtNOA1* geninin ifadesini baskılayarak hücre içi NO miktarında azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Buna karşın pirinçte *AtNOA1*'in homoloğu olan *OsNOA1* geninin ifadesi, tuz stresi ile birlikte artmıştır (Qiao, Xiao, Yu ve Fan, 2009). Bu farklılık, tuz stresine cevapta farklı türlerin kendilerine özgü NO-sentezleyici ya da düzenleyici sistemleri olduğunu göstermektedir.

Tuza tolerans mekanizmalarında önemli bir parametre olan Na^+/K^+ dengesi için H_2O_2 ve NO gereklidir. NO, Na^+/K^+ oranını azaltarak tuz toleransını artırıcı yönde etki yapmaktadır. Bunu da H^+ -ATPaz-bağımlı genler ile NO-uyarımlı hücre zarı Na^+/H^+ antiportör ifadeleri, hücre zarı ve vakuolar H^+ -ATPaz ve H^+ -PPaz aktivitelerindeki artışa bağlı olarak gerçekleştirmektedir (Zhao ve diğerleri, 2004; Zhang ve diğerleri, 2006). Mazid, Khan ve Mohammad (2011), tuz stresi koşullarında NO'nun H_2O_2 üretimini düzenlediğini ifade ederek, hücre zarı H-ATPaz'ların aktivitesini düzenlemek için, H_2O_2 'nin metabolik yolda NO'dan daha sonra yer alabileceğini belirtmişlerdir.

Nitrik oksit donörü SNP'in dışsal olarak uygulanması; pirinç (Uchida, Jagendorf, Hibino ve Takabe, 2002), acı bakla (Kopyra ve Gwózdź, 2003) ve hıyar (Fan, Guo, Jiao, Zhang ve Li, 2007: 308-314) fidelerinde tuzluluktan kaynaklanan oksidatif hasarı önemli ölçüde azaltmış, tuz stresi etkisindeki mısır fidelerinde de fide gelişimini ve kuru ağırlığı artırmıştır (Zhang ve diğerleri, 2007). Tuz stresi, hücrelerde H_2O_2 miktarını artırarak oksidatif stres oluşumunu uyarmaktadır. Bununla birlikte, dışarıdan uygulanan H_2O_2 , içsel H_2O_2 miktarını artırıp, sonrasında bir sinyal molekülü işlevi görebilir (Qiao, Li ve Fan, 2014). Nitekim buğday tohumlarına H_2O_2 uygulanması, fide döneminde tuza tolerans özelliğini artırmıştır (Wahid, Perween, Geelani ve Basra, 2007).



Şekil 2.5. Tuz stresi altında yetiştirilen bitkilerde ROS ve RNS metabolizmaları arasındaki ilişkinin şematik modeli. CAT, katalaz; GR, glutasyon reduktaz; GSH, glutasyon; GSNO, S-nitrosoglutation; GSNOR, S-nitrosoglutathione reduktaz; GSSG, oksitlenmiş glutasyon; NADPH, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat; NOS, L-Arginin •NO sentaz; $O_2^{\cdot-}$, süperoksit radikali; $ONOO^{\cdot-}$, peroksinitrit; SOD, süperoksit dismutaz, PTM; posttranslasyonel modifikasyon (Liu ve diğerleri, 2018)

Tuz toleransında H_2O_2 ve NO 'nun olumlu etkilerinin olası mekanizmaları birkaç çalışmada incelenmiştir. Tanou, Molassiotis ve Diamantidis (2009a), turuncgil bitkilerinin tuza alışması sürecinde H_2O_2 ve NO sinyal iletim yollarının örtüştüğünü belirtmektedir. Tuz stresi öncesinde H_2O_2 ile SNP nin birlikte uygulandığı gruplarda, uygulama yapılmamış kontrol grubuna göre yapraklarda tuzluluk nedeniyle artan protein karbonilasyonu azalmış ve S-nitrozile edilmiş protein miktarları değişmiştir (Tanou ve diğerleri, 2009)

Tuz stresi koşullarında H_2O_2 ve NO sinyal iletim ilişkisi, Arabidopsis'in *in vivo* NOS aktivitesi eksik ve NO miktarı azaltılmış *Atnoa1* mutantında değerlendirilmiştir (Zhao, Tian ve Zhang, 2007). *Atnoa1* bitkilerinin hem kontrol hem de stres koşulları altında yabancı tip bitkilerden daha fazla miktarda H_2O_2 'ye sahip olduğu, böylece bu bitkilerin, oksidatif streslere karşı yabancı tiplerden daha hassas yapıda oldukları anlaşılmıştır (Zhao, Tian ve Zhang, 2007). Çeltik bitkisinde *OsNOA1*'in aşırı ifadesi arka planda Na^+/K^+ oranını azaltarak, *Atnoa1*'deki tuz hassasiyetini düzeltmiştir (Qiao, Xiao, Yu ve Fan, 2009).



3. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Uchida, Jagendorf, Hibino ve Takabe (2002) tarafından pirinç (*Oryza sativa* L. cv. Nipponbare) fidelerine su kültüründe besin ortamına eklenerek yapılan 48 saat boyunca 10 μM H_2O_2 ve NO ön-uygulaması yaparak sıcaklık ve 100 mM tuz stresine maruz bıraktıkları çalışmalarında, antioksidan enzim aktivitesi, elektron taşınım aktivitesi, H_2O_2 miktarı ve DNA dizi analizi yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda H_2O_2 ve NO ön uygulaması yapılarak sıcaklık ve tuz stresi altında yetiştirilen bitkilerin herhangi bir uygulama yapılmamış kontrol grubuna göre kuantum verimi daha yüksek bir Fotosistem II etkinliği ve daha yeşil bir yaprak dokusuna sahip oldukları belirlenmiştir. H_2O_2 ve NO ön uygulaması, sadece ROS süpürücü antioksidan SOD, CAT, APX, GR enzimlerinin aktivitesini artırmakla kalmamış aynı zamanda stres toleransını sağlayan genlerin (sükroz-fosfat sentaz, d-prolin-5 karboksilat sentaz, sıcaklık şoku proteini 26) ifadesini de artırmıştır. Araştırmacılar pirinçte, H_2O_2 ve NO etkileşiminin çapraz direnç oluşturarak yüksek sıcaklık ve tuz stresine toleransın sağlanmasında sinyal molekülü olarak görev yaptığını ortaya koymuştur.

Kopyra ve Gwózdź'un (2003) acıbakla (*Lupinus luteus* L. cv. ventus) bitkisinde yaptıkları çalışmada, dışarıdan farklı dozlarda tohumu uygulanan NO donörü olan SNP'nin tuz ve ağır metal stresi koşullarında tohum çimlenmesi ve kök büyümesi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar, 0,1- 800 μM arası dozlarda NO'in tohum çimlenmesini uyardığı, bu uyarının da en fazla 18-24. saatler arası belirgin iken, 48. saatten sonra durduğunu böylece NO uygulamasının doza ve uygulama süresine göre değişiklik gösterebildiği sonucuna varmışlardır. Ağır metal stresinin kök gelişimi üzerine olan engelleyici etkilerinin SOD enzim aktivitesindeki artış ile iyileştirilebildiği ortaya konmuştur. Araştırmacılar, NO'in SOD antioksidan enzim aktivitesini teşvik ederek veya O_2^- ile reaksiyona girerek peroksinitrit (ONOO^-) oluşturma yoluyla prooksidan özelliği ile hücrede bulunan O_2^- miktarını azalttığını bildirmişlerdir.

Zhang ve diğerleri, (2006)' nin 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan mısır fidelerinde NO'in koruyucu rolünü araştırdığı çalışmada bitkilere değişen dozlarda (0.1-200 mM) uygulanan SNP'nin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar, 100 mM SNP'nin, mısır fidelerinde kuru ağırlığı, klorofil miktarını, $(\text{Spd}+\text{Spm})/\text{Put}$ oranını ve K^+/Na^+ oranını artırıp, tuza toleransı artırdığı belirlenmiştir.

de Azevedo Neto, Prisco, Ene'as-Filho, Medeiros, ve Gomes-Filho (2005) mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin tuza duyarlı BR-5011 genotipinde H_2O_2 'in tuz stresine karşı koruyucu etkisinin varlığını araştırmış ve bu kapsamda 48 saat boyunca hidroponik çözeltiye 1 mM H_2O_2 eklenerek büyütülen fideleri, 100 mM NaCl stresine maruz bırakmış ve kök ve yapraklarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerini (CAT, SOD, GPX, GR, AP) incelemiştir. Çalışmanın sonucunda H_2O_2 ön-uygulaması yapılmış bitkilerde lipit peroksidasyonunun daha az, antioksidan aktivitenin de daha fazla olması, önemli bir abiyotik stres faktörü olan tuzluluğa karşı H_2O_2 tarafından indüklenen daha hızlı ve daha güçlü bir yanıtın oluşturulduğu vurgulanmıştır.

Zhang ve diğerleri, (2006)'nin yaptıkları bir diğer çalışmada, NO'in 100 mM NaCl stresine maruz bırakılmış mısır fidelerinde, Na^+ , K^+ iyon dengesinin nasıl düzenlendiğini araştırmışlardır. Araştırmacılar, 48 saat boyunca NO donörü olarak SNP ile ön uygulama yaptıkları bitkilere, pozitif kontrol olması bakımından NO inhibitörü olarak metilen mavisi (MB-1) de uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda, NO ön uygulaması yapılan bitkilerde, kuru madde ve fotosentetik pigment miktarında artış, lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA miktarında da azalma tespit edilmiştir. NO, vakuolar tip H^+ -ATPaz ve H^+ -PPaz aktivitelerinde artışa neden olarak Na^+/H^+ değişim aktivitesini artırmış bu da sitoplazmada toksik miktarda bulunan Na^+ iyon miktarını azaltarak, mısırdaki tuz toleransını artırmıştır. NO süpürücüsü, metilen mavisi, NO'in tüm olumlu etkisini bloke etmiştir. Bu bulgu da mısır bitkisinin tuz stresine karşı geliştirdiği toleransının tamamen NO'den kaynaklandığını göstermiştir.

Zhang, Yang ve He'nin (2004) tuz stresine maruz bırakılan *Populus euphratica* kalluslarında H_2O_2 ve NO etkileşiminin tuza toleransa olan etkisini inceledikleri çalışmalarında, H_2O_2 ve NO donörleri ve inhibitörleri kullanılmıştır. Kallus ortamına H_2O_2 donörü G/GO (Glikoz/glikoz oksidaz) ve NO donörü SNP uygulamasının ardından uygulanan 150 mM NaCl, içsel Na^+ miktarını azalmasına ve K^+ 'un artmasına yol açarak daha yüksek bir K^+/Na^+ oranının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Araştırmacılar hem H_2O_2 inhibitörü DPI'nın, hem de NO inhibitörü cPTIO'nun, H_2O_2 ve NO'den kaynaklanan olumlu etkiyi tersine çevirdiğini bildirmişlerdir. Tuz stresi ile birlikte içsel H_2O_2 ve NO miktarları artmıştır. Dıştan uygulanan NO, PM NADPH oksidaz aktivitesini daha da artırarak H_2O_2 oluşumunu uyarmıştır. H_2O_2 üretimi, transmembran elektrokimyasal gradiyent oluşumuna yol açar ve hücrede K^+/Na^+ oranının artmasına neden olur. Bu nedenle, araştırmacılar PM H^+ -ATPaz aktivitesinin

artmasının muhtemelen PM NADPH oksidazın düzenlenmesi yoluyla NO tarafından teşvik edildiğini bildirmişlerdir.

Zhao, Tian ve Zhang'ın (2007) 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan *Arabidopsis*'in yabani ve mutant tiplerinde (*Arabidopsis*'in *in vivo* NOS aktivitesi eksik ve NO miktarı azaltılmış *Atnoal* mutanıtı) NO'nin, tuz toleransındaki rolü araştırılmıştır. Çalışma kapsamında iyon miktarları, tohum çimlenme yüzdesi, kök uzaması, sağkalım oranı gibi büyüme parametreleri ile, içsel H₂O₂ miktarı, NOS (Nitrik Oksit Sentaz) aktivitesi gibi fizyolojik parametreler incelenmiştir. Sonuç olarak, tuz stresinin NOS aktivitesini inhibe ederek içsel NO miktarını azalttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar, NOS aktivitesi eksik mutant *Atnoal* genotipinde Na⁺/K⁺ oranının daha yüksek, tohum çimlenmesinin ve kök uzamasının daha inhibisyonu, sağkalım oranlarının daha düşük olduğu ve içsel H₂O₂ birikiminin daha yüksek olmasının NO ile *Arabidopsis*'in tuz stresine toleransının yakından ilişkili olmasından kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Bu bulgular, NO'nin bitkiler için birçok fizyolojik mekanizmada anahtar molekül olarak işlev gördüğünü ortaya koymaktadır.

Fan, Guo, Jiao, Zhang ve Li'nin (2007) salatalıkta besin ortamına 50 mmol/L NaCl ile birlikte değişik dozlarda (10–400 µmol/L arası) uygulanan NO' in büyüme, ROS metabolizması ve fotosentetik karakterler üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Araştırmacılar, 400 µmol/L NO'nin bitkide toksik etki gösterdiği, ancak 100 µmol/L SNP' nin fidelerde tuzdan kaynaklanan büyüme hasarını azaltarak fide gelişimini artırdığı bildirilmiştir. SOD, POD, CAT, APX aktivitelerinin ve fotosentetik pigment ve prolin miktarının düşük dozda NO uygulaması ile arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışma da NO' in tuz toleransındaki koruyucu rolünü göstermekle kalmayıp, NO'nin bitkilerde doza bağlı bir etki yaptığını kanıtlamıştır.

Dubovskaya, Kolesneva, Knyazev ve Volotovskii'nin (2007) dıştan uygulanan 100 µM NO donörü SNP'nin 20mM H₂O₂ uygulaması ile oluşturulan oksidatif stres altında aseptik koşullarda yetiştirilen 56 günlük tütün (*Nicotiana plumbaginifolia*) fidelerinde, MDA, total DNA, protein, ATP miktarı ile kaspaz enzim aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar dıştan düşük konsantrasyonda uygulanan NO'nin, lipid oksidasyonunu inhibe ederek, total DNA'nın parçalanmasını önlediği ve hücrede çözünebilir proteinlerin birikmesini önlediği, yüksek konsantrasyonda uygulanan NO'nin ise kaspaz benzeri aktiviteyi indükleyerek DNA ve çözünebilir proteinlerin bozunmasını ve ATP sentezinin azalmasını sağladığını belirtmişlerdir. Elde edilen bulgular, NO'nun bitkilerde hem

doğrudan antioksidan olarak görev yapan bir bileşik hem de antioksidan enzim aktivitesini uyaran bir sinyal molekülü olduğu hipotezini kanıtlamaktadır.

Tanou, Molassiotis ve Diamantidis'in (2009a) *Citrus aurantium* L. (turunç) bitkisine kökten 100 μ M NO donörü SNP (48 saat) ve 10 μ M H₂O₂ (8 saat) ön uygulaması yaparak 16 gün boyunca 150 mM NaCl stresine maruz bıraktığı çalışmasında, H₂O₂ ve NO'in, antioksidan CAT, SOD, APX, GR enzim aktiviteleri üzerine etkisi incelenmiştir. Buna göre, H₂O₂ ve NO ön uygulaması yapılan gruplarda tuz stresi tarafından indüklenen oksidatif stresin antioksidan enzim aktivitelerindeki artış ile iyileştirilebildiği sonucuna varılmıştır. Çalışmada ayrıca NO'in, damar dokularında ve epidermal hücrelerde üretildiği Real time imaging (gerçek zaman görüntülenmesi) tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Tuzluluğa bağlı olarak oluşan protein oksidasyonunun (karbonilasyonu) da yapılan ön uygulamalar ile tamamen geri döndürüldüğü kantitatif analizler ve protein blotting analizleri ile tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar, tuz stresi koşullarında yetiştirilen turunç ağaçlarında H₂O₂ ve NO'in primer benzeri antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Aynı koşullarda yetiştirilen ve aynı ön uygulamalara maruz bırakılan turunç bitkilerinde 150 mM tuz stresinin olumsuz etkilerinin H₂O₂ ve NO ön uygulamaları ile iyileştirebilirliği, Tanou ve diğerleri, (2009) tarafından yapılan bir diğer çalışma ile de ortaya konmuştur. Köklerine SNP ön-uygulaması yapılan bitkilerde S-nitrozile proteinlerin büyük bir kısmının NaCl-cevap proteinleri olarak ortaya çıktığı belirlenmiştir. İfadesi H₂O₂ ve NO tarafından indüklenen bu proteinlerin; fotosentez, savunma mekanizması, enerji/glikoliz yolu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bütün bu veriler, NO-ön-uygulamasının özellikle protein ifadesini düzenlediğini ve bu NO-spesifik proteinlerin tuza alışma cevabının oluşturulmasında önemli rol oynadığını vurgulamışlardır. Citrus' ta tuza alışma sürecinde H₂O₂ ve NO sinyal yollarının örtüştüğü, tuz stresi öncesinde uygulanan H₂O₂ ve SNP uygulamalarının tuzluluk ile uyarılan protein karbonilasyonunu azaltarak yapraklarda S-nitrolize edilmiş proteinlerin birikim düzeylerini kontrol bitkilerine göre değiştirdikleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak; H₂O₂ ve NO' in kısa süreli ön-uygulamasının ardından uygulanan daha şiddetli strese karşı toleransın teşvik edilmesi, H₂O₂ ve NO' in ROS ve RNS aracılı bir sinyal molekülü olma olgusu ile ilişkili olabileceğine sağlam bir kanıttır.

Moskova, Todorova, Alexieva, Ivanov ve Sergiev'in (2009) yaptığı bir çalışmada bir çeşit herbisit olan "paraquat" stresi altındaki bezelye (*Pisum sativum*) bitkisinde stresin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla H₂O₂ ön-uygulaması yapılmış ve enzimatik ve enzimatik

olmayan antioksidan aktivitelerine ait sonuçlar değerlendirilmiştir. Buna göre; sadece paraquat uygulaması yapılan kontrol grubunda MDA miktarında artış gözlenirken H₂O₂ ön-uygulaması yapılmış grupta herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Katalaz ve glutatyon-S-transferaz aktiviteleri her iki grupta da artış göstermiştir. Araştırmacılar H₂O₂ ön-uygulaması yapılmış bezelye bitkilerinde paraquatın olumsuz etkilerine karşı önemli bir şekilde iyileşme görmüşler ve H₂O₂'nin stresi hafifletici yeni bir bileşen olduğunu ortaya koymuşlardır.

Zhang, Jia ve Yu'nun (2011) H₂O₂ ön uygulamasının kuraklık stresi üzerine etkilerinin hıyar bitkisine ait (*Cucumber*) iki farklı ekotip (Kuzey Çin ve Güney Çin ekotipi) ile yaptığı çalışmada ikinci gerçek yapraklarını çıkaran fidelerde, H₂O₂'in, antioksidan enzim aktivitesi, MDA miktarı ve hücre ultrastrüktürü üzerine olan etkileri incelenmiştir. Araştırmacılar, H₂O₂ ön-uygulamasının antioksidan enzim aktivitesini artırdığı ve MDA miktarını azalttığını tespit etmişlerdir. Elektron mikroskobu incelemelerine göre kuraklık stresi ile birlikte gelişen, kloroplast ve mitokondri zarlarındaki bozulmanın, H₂O₂ ön-uygulaması yapılan gruplarda stres gruplarına göre düzelebildiği bildirilmiştir.

Güzel ve Terzi'nin (2013) 0,5 mM bakır stresi altındaki iki farklı mısır genotipinde yaptığı bir diğer çalışmada 0,5 mM H₂O₂ ön-uygulamasının stresin olumsuz etkilerinin kuru madde, iyon ve denge oluşturan uygun ozmotik maddelerin miktarları (total protein, prolin, çözülebilir şeker miktarı) üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmacılar, H₂O₂ ön-uygulamasının her iki mısır genotipinde iyon, prolin, çözünebilir protein ve şekerler gibi ozmotik çözücülerin miktarlarını artırarak bakır stresine karşı koruyucu bir etki yaptığını ortaya koymuşlardır.

Li, Qiu, Zhang ve Wang'ın (2011) yaptığı bir çalışmada kuraklığa duyarlı ve dirençli iki farklı buğday genotipinde H₂O₂ ön-uygulamasının kuraklık stresi altında büyüme ve gelişme ile antioksidant enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Kuraklığa duyarlı genotipte çimlenmenin teşvik edildiği, kök ve gövde gelişiminin ise her iki genotipte de arttığı tespit edilmiştir.

Christou, Manganaris ve Fotopoulous (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, çilek bitkisinde tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla bitkilerin köklerine uygulanan H₂O₂ ve NO donörü olan SNP ön-uygulamasının iyileştirici etkileri üzerinde durulmuştur.

Ön-uygulama yapılmamış bitkilerde tuz stresinden ölümcül derecede bir etkilenme görülürken ön-uygulama yapılmış bitkilerde büyümenin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Wu, Hongye, Lixiu, Kunming ve Liqun'un (2015) H₂O₂ ve NO donör ve inhibitörleri ile yapılan ön uygulamaların ardından (6 saat), yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan (45 °C' de 30 dk) *Arabidopsis thaliana* tohumlarında antioksidan enzim aktivitesi ölçülmüştür. Araştırmacılar, yüksek sıcaklık stresi altında, dıştan uygulanan H₂O₂'in içsel H₂O₂ miktarını yükseltmediği, hatta NO donörleri SNP ve SNAP uygulamalarının azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Bu bilgi de yine dışarıdan uygulanan NO süpürücüsü cPTIO uygulaması ile doğrulanmıştır, çünkü bu uygulama içsel H₂O₂ miktarında artışa yol açmıştır. Western blotlama ve gerçek zamanlı ters transkripsiyon PCR analizleri de NO'in yüksek sıcaklık stresinin DNA bağlama aktivitesi ve sıcaklık şoku proteinlerinin birikimi üzerinde H₂O₂'in olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığını göstermiştir. SNP ve SNAP'ın, antioksidan enzimler katalaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerini artırdığı, c-PTIO'nun ise inhibe ettiği bildirilmiştir.

Ülkemizde ise 2015 yılında yapılan bir doktora tezinde (Raziye Akar, 2015), marul fidelerinin yapraklarına 50 µM ve 100 µM SNP uygulandıktan 48 saat sonra fidelere 50 mM ve 150 mM NaCl uygulanmış ve SNP'nin tuz stresi altındaki etkileri araştırılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında tuz uygulamasının marul yapraklarında GA, IAA, SA ve bazı amino asitlerin konsantrasyonlarını önemli oranda azalttığı, MDA, H₂O₂, ABA, toplam fenolik madde konsantrasyonlarını, APX, CAT, POD, SOD aktivitelerini, çözünebilir şekerlerin (glukoz, fruktoz, maltoz ve sükröz) ve bazı organik asitlerin miktarlarını artırdığı belirlenmiştir. Öte yandan, marul fidelerine tuz uygulamasından 48 saat önce yapraklara uygulanan SNP'nin MDA, H₂O₂, ABA konsantrasyonlarını azaltmak, GA, IAA, SA ve bazı amino asitlerin konsantrasyonlarını artırmak, antioksidan enzimlerin (APX, CAT, POD ve SOD) aktivitelerini, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasiteyi daha fazla artırmak yoluyla tuz stresine toleransı önemli oranda teşvik ettiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, SNP, tuz stresi ile birlikte artan ROS miktarını azaltarak, fenolik madde, antioksidan enzim aktiviteleri ve tuza toleransta rol oynayan anahtar genlerin ifadelerini artırarak marul fidelerini tuz stresinin oluşturduğu olumsuz etkilerden etkili bir biçimde koruduğunu bildirmişlerdir.

4. MATERYAL VE METOD

4.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Artvin ve Mardin genotipine ait patlıcan (*Solanum melongena* L.) tohumları (Yaşar, 2003) petri kutularına ekilerek sadece sulanmıştır. Daha sonra 2:1 oranında torf:perlit içeren saksılara ekilmiştir. Kullanılan torfun bileşimi Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan torfun bileşimi

Bileşimi	Kimyasal Özellikler:
Siyah torf (%) 30	Cu (mg kg ⁻¹) 16.7
Beyaz torf (%)70	Toplam N (mg l ⁻¹) 210
pH 6.0	P ₂ O ₅ (mg l ⁻¹) 240
Tuz (dS m ⁻¹) 0.4	K ₂ O (mg l ⁻¹) 270
Tarla Kapasitesi (%) 80.0	S (mg l ⁻¹) 150
Solma Noktası (%) 15.0	

Dördüncü gerçek yapraklarını çıkarana kadar tam kuvvetteki Hoagland besin çözeltisinden (Hoagland ve Arnon, 1938) hazırlanan ½ kuvvette hazırlanan Hoagland kültür çözeltisi ile sulamaya devam edilmiştir. Tam kuvvetteki Hoagland besin çözeltisinin bileşimi Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Hoagland kültür çözeltisinin bileşimi

Makroelementler	g/ lt*
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,4105
KNO ₃	0,253
KH ₂ PO ₄	0,068
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,06
Mikroelementler	g/ lt
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,009
H ₃ BO ₃	0,0145
ZnCl ₂	0,00006
CuCl ₂ .2 H ₂ O	0,000025
Na(EDTA) ₂	0,025

*:1/2 oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi hazırlamak için belirtilen makro ve mikro element miktarları 2 lt distile suda eritilmiştir. Çözeltinin pH’sı 0.05 mM KOH ile 5,7-5,8’e ayarlanmıştır.

Çimlenme ve büyüme devresini kapsayan tüm çalışmalar “Digi-Tech Growth Chamber PG34-3” iklim odasında kontrollü koşullarda yapılmıştır. Sıcaklık 25 °C, nem ise %60-70

olarak ayarlanmıştır. Bitkilerin büyütüldüğü iklim odasına ait genel görüntü Resim 1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Bitkilerin büyütüldüğü iklim odasından genel bir görüntü.

Fideler dördüncü gerçek yapraklarını çıkarana kadar sadece $\frac{1}{2}$ kuvvette Hoagland kültür çözeltilisi ile sulanmıştır. Dördüncü gerçek yapraklarını çıkaran fidelere, yapraktan spreyleme yoluyla iki gün (48 saat) boyunca SNP, H_2O_2 , NO, DPI, cPTIO uygulamaları tek tek ya da farklı kombinasyonlarla yapılmıştır. Kimyasal uygulamaları 48 saat boyunca her 6 saatte bir yapılmıştır. Kimyasal uygulamalarının ardından bitkilerin sulama suyuna 100mM NaCl eklemek suretiyle yapılan tuz uygulamalarına geçilmiştir. Toplam 10 gün süren tuz uygulamasından sonra bitkiler hasat edilmiş ve yapılması planlanan analizlerin amacına uygun bir şekilde saklanmıştır.



Şekil 4.2. Uygulama aşamasında fidelere ait görüntüler (A. Artvin, B. Mardin).

4.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

Deneyimizde uygulanan kimyasallar ve molekül formülleri Çizelge 4.2’de verilmiştir, kimyasal dozları da Zhang ve diğerleri (2007) nin benzer konuda yaptıkları çalışma esas alınarak yapılmıştır.

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler ve molekül formüller

Kimyasal	İşlevi	Molekül Formülü
H ₂ O ₂	H ₂ O ₂	
DPI	H ₂ O ₂ inhibitörü	
SNP	NO Donörü	Na ₂ [Fe(CN) ₅ NO] • 2H ₂ O
cPTIO	NO İnhibitörü	

Deneyimizde kullanılan uygulama grupları, kullanım miktarları ve kullanım amaçları aşağıda verilmiştir.

1. Kontrol: bitkinin normal büyümesini göstermek için oluşturulan ve yalnızca Hoagland Kültür Çözeltisi ile sulanan bitkiler.
2. Tuz: Yalnızca 100 mM NaCl uygulaması): tuz stresinin etkilerini gözlemlemek için oluşturulmuş ve sadece 100 mM NaCl uygulaması ile sulanan grup
3. 5 mL 0,5 mM H₂O₂: Dışardan eklenen H₂O₂'in hücrede meydana getirdiği değişiklikleri gözlemlemek için oluşturulmuştur.
4. 5 mL 0,3 mM SNP: Dışardan eklenen SNP'in (NO Donörü) hücrede meydana getirdiği değişiklikleri gözlemlemek için oluşturulmuştur.
5. 5 mL 0,2 mM DPI: Dışardan H₂O₂ inhibitörü eklenip hücredeki H₂O₂ ortadan kaldırıldığında hücrede neler olduğunu görebilmek için oluşturulmuştur.
6. 5 mL 0,2 mM cPTIO: Dışardan NO inhibitörü eklenip hücredeki NO ortadan kaldırıldığında hücredeki etkisini görebilmek için oluşturulmuştur.
7. 5 mL 0,5 mM H₂O₂ + 5 mL 0,2 mM cPTIO: Dışardan NO inhibitörü ve H₂O₂ eklenip hücredeki NO ortadan kaldırıldığında sadece H₂O₂'in etkisini görebilmek için oluşturulmuştur.
8. 5 mL 0,3 mM SNP + 5 mL 0,2 mM DPI: Dışardan H₂O₂ inhibitörü ve NO eklenip hücredeki H₂O₂ ortadan kaldırıldığında sadece NO'nin etkisini görebilmek için oluşturulmuştur.
9. 100 mM NaCl: Tuzun etkisini görmek için oluşturulmuştur.
10. 100 mM NaCl + 5 mL 0,5 mM H₂O₂: H₂O₂'nin tuz stresindeki etkisi için oluşturulmuştur.
11. 100 mM NaCl + 5 mL 0,2 mM DPI: Hücrede hiç H₂O₂ yokken bitkinin streste nasıl bir zarar gördüğünü görebilmek için oluşturulmuştur.
12. 100 mM NaCl + 5 mL 0,3 mM SNP: NO'nin tuz stresindeki etkisini görebilmek için oluşturulmuştur.
13. 100 mM NaCl + 5 mL 0,2 mM cPTIO: Hücrede hiç NO yokken streste bitki nasıl bir zarar gördüğünü anlayabilmek için oluşturulmuştur.
14. 100 mM NaCl + 5 mL 0,2 mM DPI+ 5 mL 0,3 mM SNP: Hücrede hiç H₂O₂ yokken NO nasıl bir etki gösterdiğini görebilmek için oluşturulmuştur.
15. 100 mM NaCl + 5 mL 0,5 mM H₂O₂+ 5 mL 0,2 mM cPTIO: Hücrede hiç NO yokken H₂O₂ nasıl bir etki gösterdiğini görebilmek için oluşturulmuştur.

16. 100 mM NaCl + 5 mL 0,2m M DPI+ 5 mL 0,2 mM cPTIO: Hücrede hem H₂O₂ hem de NO yokken neler olduğunu anlayabilmek için oluşturulmuştur.

4.3. İncelenen Parametreler

Çalışmada, Artvin (duyarlı) ve Mardin (dayanıklı) genotiplerine (Yaşar, 2003) ait patlıcan (*Solanum melongena* L.) fidelerinde yaprak taze ağırlığı, klorofil miktarı (Lichtenthaler, 1987), Malondialdehit (MDA) miktarı (Lutts, Kinet ve Bouharmont, 1996), içsel H₂O₂ miktarı (Velikova, Yordanov ve Edreva, 2000), içsel prolin miktarı (Bates, Waldren ve Teare, 1973), antioksidatif enzim aktiviteleri (SOD ve CAT) ve iyon analizleri (Prakash ve Prathapasenan, 1988) yapılmıştır.

4.3.1. Yaprakların taze ağırlığı

Uygulamalar sonrasında hasat edilen yaprakların taze ağırlıkları (TA) hassas terazide tartılarak gram cinsinden belirlenmiştir.

4.3.2. Yaprak dokularında klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarlarının belirlenmesi

Yaprak dokularında klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarı Lichtenthaler (1987)'in yöntemine göre belirlenmiştir. Bunun için yaprak dokularından alınan diskler tartıldıktan sonra ependorf tüplerine konularak, üzerine 1 ml %100 aseton ilave edilmiştir. Dokular tamamen beyazlaşıp, pigmentlerini kaybettiğinde elde edilen süpernatanttan spektrofotometrede 661,6; 644,8 ve 470 nm'de absorbans okumaları yapılmıştır. Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarları aşağıdaki formüller yardımıyla mg.ml⁻¹.g⁻¹.TA olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil a} = (11,24 \times \lambda_{661,6}) - (2,04 \times \lambda_{644,8})$$

$$\text{Klorofil b} = (20,13 \times \lambda_{644,8}) - (4,19 \times \lambda_{661,6})$$

$$\text{Klorofil a+b} = (7,05 \times \lambda_{661,6}) + (18,09 \times \lambda_{644,8})$$

$$\text{Karotenoid} = [(1000 \times \lambda_{470}) - (1,9 \times \text{kl.a}) - (63,14 \times \text{kl.b})] / 214$$

4.3.3. Yaprak dokularında prolin analizi

Prolin analizi, Bates, Waldren ve Teare, (1973)'nin yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 100 mg taze yaprak dokusu 2 ml %40'lık metanol içerisinde ekstrakte edilmiştir. 1 ml'sinde 25 mg ninhidrin içeren glasiyel asetik asit ve 6 M'lık ortofosforik asit (3:2, v/v) çözeltisinden 1 ml alınıp ekstraktın 1 ml'si ile karıştırılmış ve su banyosunda 100 °C'de 1saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda tüpler buz banyosuna alınarak reaksiyon tamamlanmıştır. Karışıma 5 ml toluen ilave edilerek, bir tüp karıştırıcısı ile 20 saniye karıştırılmıştır. Kromofor içeren toluen, sıvı fazdan ayrılarak Spektrofotometrede 528 nm'de absorbans okumaları yapılmıştır. Kör olarak toluen kullanılmıştır. Örneklerdeki prolin miktarı μmol prolin/g TA olarak hesaplanmıştır.

4.3.4. Yaprak dokularında malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularındaki Malondialdehit (MDA) miktarı, Lutts, Kinet ve Bouharmont (1996) tarafından yapılan çalışma esas alınarak ölçülmüştür. Bu yöntemeye göre; 0.2 g taze yaprak örneği alınıp, üzerine 5 ml %0,1'lik trikloro asetik asit (TCA) ilave edilmiş ve havanda ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenat 12500 rpm'de 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. 5 ml'lik ekstraktan 3 ml süpernatant alınarak tüpe konmuştur. Üzerine %20'lik TCA içinde %0,5'lik thiobarbutirik asitten (TBA) 3 ml ilave edilmiştir. 90 °C'de 30 dakika su banyosunda bekletilen karışımın Analytic Jena 40 model spektrofotometrede 532 ve 600 nm'de absorbans okumaları yapılmıştır. Kör olarak %20'lik TCA içinde %0,5'lik TBA kullanılmıştır. Örneklerdeki MDA miktarı;

$$\text{MDA} = (A_{532} - A_{600}) \times \text{ekstrakt volümü} / (155 \text{ mM/cm}) \times \text{taze ağırlık}$$
 formülü kullanılarak nmol/g TA olarak hesaplanmıştır.

4.3.5. Antioksidatif enzim analizleri

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, NBT'nin (nitro blue tetrazolium kloridin) ışık altında O_2^- tarafından indirgenmesi metoduna göre ölçülmüştür. Tüm çözeltiler konduktan sonra reaksiyon ortamı son hacim 5 ml olacak şekilde; cam erlenler içerisine önce 0.1 mM Na-EDTA içeren 50 mM'lık fosfat tamponu, üzerine sırasıyla enzim ekstraktı (25-100 μl), 0,5 ml 50 mM Na_2CO_3 (pH=10,2), 0,5 ml 12 mM L-methionine, 0,5 ml 75 μM P-nitro blue

tetrazolium klorid (NBT) ve 10 μM riboflavin eklenmiştir. NBT'nin O_2^- tarafından indirgenmesi, örneklerin 24 $^\circ\text{C}$ 'de ve 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık intensitesi altında 10-15 dakika tutulması ile oluşturulmuştur. Bir SOD aktivitesi ünitesi (U), 560 nm'de ölçülen NBT indirgenme oranının %50'sinin engellenebilmesi için gereken enzim miktarı olarak ifade edilmiştir.

Katalaz aktivitesi (CAT), H_2O_2 'in 240 nm'de ($E=39,4 \text{ mM cm}^{-1}$) parçalanma oranı esas alınarak ölçülmüştür. Bu enzim analizinde son hacim 1 ml olacak reaksiyon ortamına 0,1 mM Na-EDTA içeren 50 mM'lık fosfat tamponu, 0,1 ml 100 mM H_2O_2 ve enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Hazırlanışı açıklanan ekstrakta 10'ar saniye ara ile 1 dakika süredeki H_2O_2 dekompozisyonu spektrofotometrede okunmuş ve CAT aktivitesi $\mu\text{mol/min/g T.A.}$ olarak hesaplanmıştır.

4.3.6. Yaprak dokularında H_2O_2 analizi

H_2O_2 miktarı Velikova, Yordanov ve Edreva (2000) metoduna göre yapılmıştır. 500 mg yaprak dokusu, 5 ml % 0,1 (w/v) TCA ile buz banyosunda homojenize edilmiş ve homojenat 12 000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanta 0.5 ml 10 mM Potasyum Fosfat tamponu (pH 7.0) ve 1 ml 1M KI eklenmiştir. Süpernatantın absorbansı 390 nm'de spektrofotometrede okunmuştur. Sonuçlar, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ TA}$ olarak verilmiştir.

4.3.7. İyon analizi

Bitki örneklerindeki iyon analizleri için ekstraktlar Prakash ve Prathapasanen (1988) metoduna göre hazırlanmıştır. Buna göre; kurutulup öğütülen bitki örneklerinden 100'er mg tartılarak deney tüplerine konulmuştur. Örneklerin üzerine 5 ml 0,1 N HNO_3 eklenecek, su banyosunda 1 saat kaynatıldıktan sonra süzölmüştür. Aynı işlem 2 kez daha uygulanıp her defasında berrak süpernatant toplanmıştır.

Süpernatanttaki Na^+ ve K^+ konsantrasyonları Eppendorf Flamefotometre ile belirlenmiştir. İyon miktarları mg iyon/g KA olarak hesaplanmıştır.

4.3.8. İstatistiksel analiz

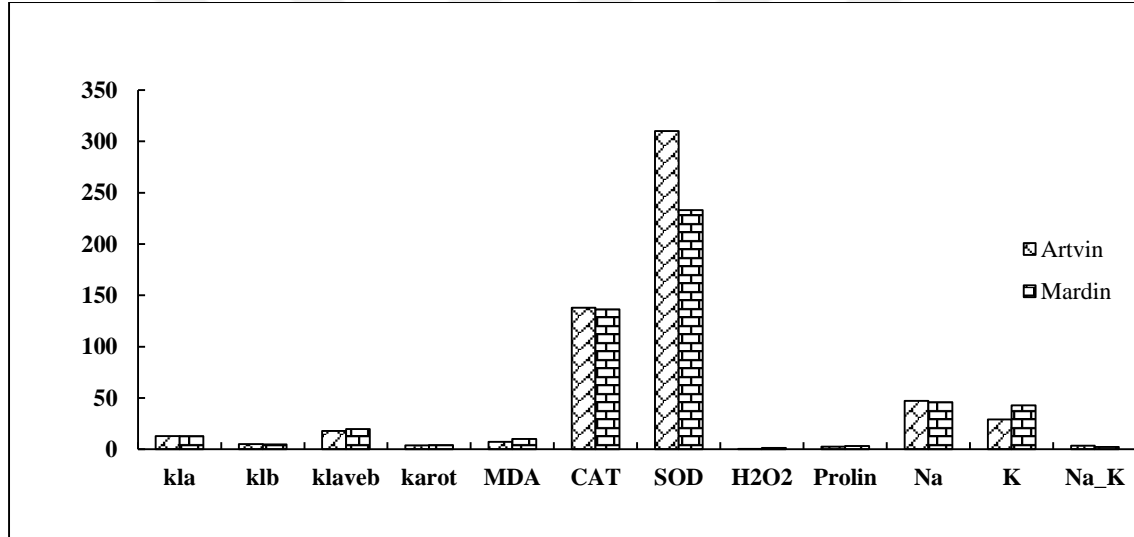
Deneme tesadüf parsel desenine göre kurulmuş ve 3 tekerrürde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sayısal verilere IBM SPSS 21.0 paket programı ile değerlendirilmiştir. Öncelikle her iki genotipe ait veriler ayrı ayrı değerlendirilmiş ve her genotipin kendi içindeki değişimlerin anlamlı olup olmadığı varyans analizi (One- way-ANOVA) ile incelenmiş, uygulamalar arasındaki farkların önem kontrolü Duncan testi ile yapılmıştır (Anlamlılık düzeyi: 0,05). Daha sonra tüm tekerrürlere ait ortalama değerler de t-testi ile değerlendirilmiş, böylece çeşitler arasındaki farkın önem kontrolü yapılmıştır.



5. BULGULAR

Hoagland besin çözeltilisi ile dört-beş yapraklı döneme kadar büyütülen patlıcan (*Solanum melongena* L.) bitkisine ait (Artvin, Mardin) fidelerin yapraklarına H₂O₂ ve NO donörleri (H₂O₂, SNP) ile inhibitörleri (DPI, cPTIO) 48 saat süresince spreylenecek uygulanmış, sonrasında 10 gün boyunca 100 mM NaCl'e maruz bırakılarak büyütülmeye devam edilmiştir. Uygulamaların iyon dengesi, lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim aktivitesi ve etkileşimleri ile H₂O₂ ve NO ön uygulamalarının oksidatif mekanizma üzerine olası katılımı ve tuz stresinin olumsuz etkilerini iyileştirici etkisi araştırılmıştır.

Artvin ve Mardin genotipine ait ortalama değerlere, incelenen bütün parametreler için t-testi uygulanmıştır.



Şekil 5.1. İncelenen parametrelerin t-testi ile genotiplere göre değerlendirilmesi

T-testinin sonucunda elde edilen grafik Şekil 3.1'de, genotipler arasındaki fark önemli olan t değerleri ise Çizelge 3.1'de verilmiştir. Buna göre; genotipler arasındaki fark, MDA, H₂O₂, Prolin, K⁺ miktarları ve SOD aktivitesi ile K/Na oranı için anlamlı; klorofil a, klorofil b, klorofil a+b, karotenoid, Na⁺ ve yaprak yaş ağırlık miktarları ile CAT aktivitesi için anlamlı bulunamamıştır (p<0,05).

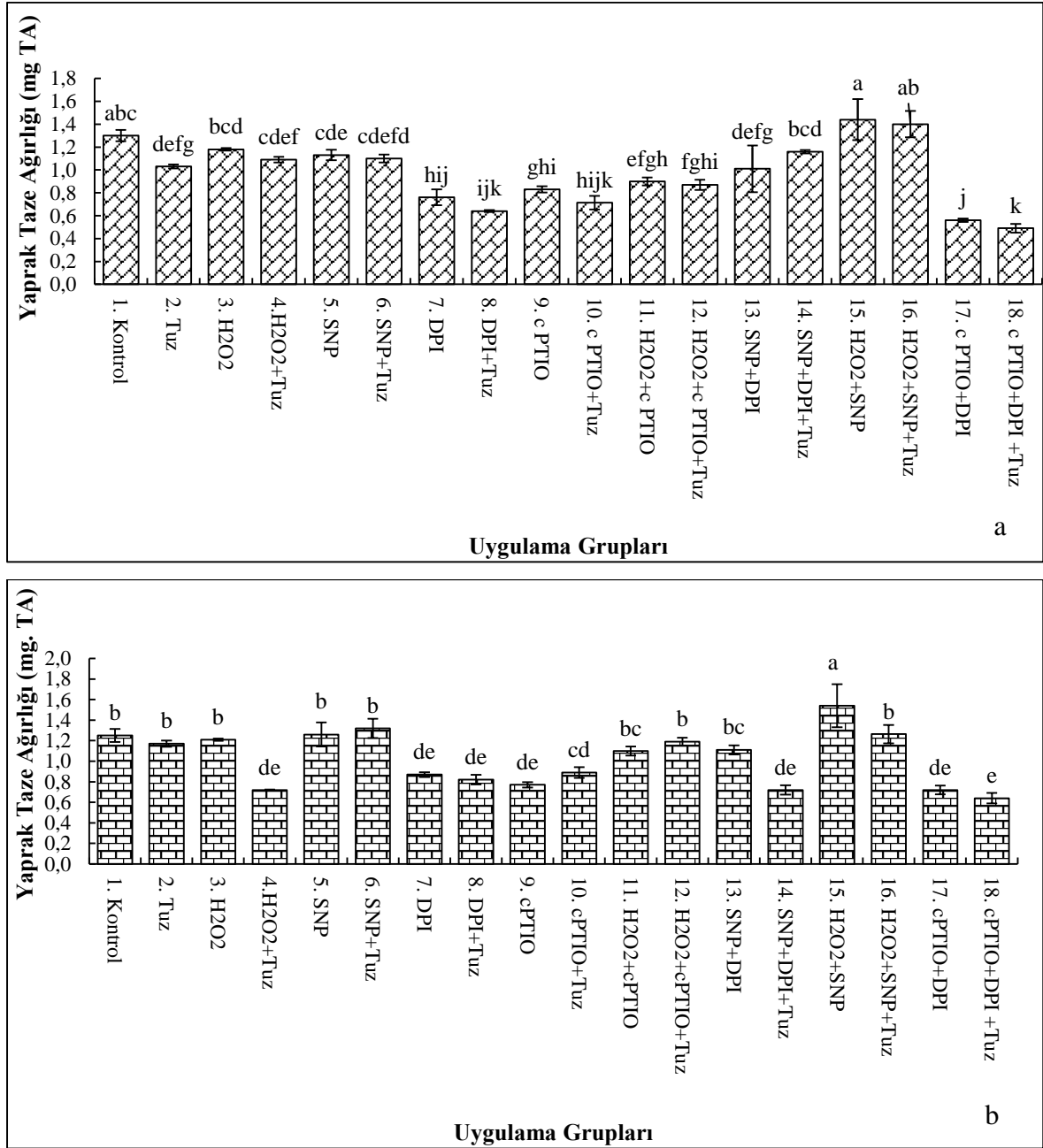
Çizelge 5.1. İncelenen parametrelerin t-testi ile genotiplerine göre değerlendirilmesi

	MDA	SOD	H ₂ O ₂	Prolin	Na	K	K /Na
t değeri	9,029	67,975	-17,676	-16,285	2,132	-22,901	-1,668

Bulgular, bu bölümde altbaşlıklar halinde verilmiştir.

5.1. Yaprak Taze Ağırlığındaki Değişimler

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin yaprak taze ağırlığı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.2' de verilmiştir. Yaprak taze ağırlığı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark, $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).



Şekil 5.2. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde yaprak taze ağırlıklarının değişimi

Tuz stresi (T), her iki patlıcan genotipinde de yaprak taze ağırlığını kontrol bitkilerine (K) göre azaltmıştır.

Yalnızca H₂O₂ uygulanmış bitkilerde yaprak taze ağırlığı, K grubuna göre azalırken T grubuna göre artmıştır. Bu artış Artvin genotipinde anlamlı bulunmuştur. Yaprak taze ağırlığı, H₂O₂+tuz uygulama grubunda, sadece H₂O₂ uygulamasına göre önemli miktarda azalmıştır.

Yalnızca SNP (NO donörü) uygulaması yapılan bitkilerde, her iki genotipte de yaprak taze ağırlığı K grubuna göre azalmış ancak T grubuna göre artmıştır. SNP+tuz uygulaması Artvin genotipinde yalnızca SNP uygulamasına göre azalmaya neden olurken, Mardin genotipinde artışa neden olmuştur, T grubu ile karşılaştırıldığında ise her iki genotipte de yaprak taze ağırlığında artış görülmektedir.

Yalnızca DPI (H₂O₂ sentez inhibitörü) uygulaması ve DPI+tuz uygulaması, her iki genotipte de yaprak taze ağırlığını hem K hem de T grubuna göre azaltmıştır.

Yalnızca cPTIO (NO süpürücüsü) uygulamasında her iki genotipte de yaprak taze ağırlığı K ve T gruplarına göre önemli şekilde azalmıştır. cPTIO+tuz uygulamasında ise yalnızca cPTIO uygulanan gruba göre Artvin genotipinde azalmaya neden olurken Mardin genotipinde artış gözlenmiştir.

H₂O₂+cPTIO (NO süpürücüsü) uygulamasında yaprak taze ağırlığı hem K hem de T uygulamasına göre her iki genotipte de azalmış, H₂O₂+cPTIO+tuz uygulamasında ise H₂O₂+cPTIO uygulamasına göre Artvin genotipinde azalma, Mardin genotipinde artış görülmüştür.

NO donörü SNP ile H₂O₂ sentez inhibitörü DPI'nın kombine edildiği uygulama grubunda, yaprak taze ağırlıkları K ve T grubuna göre her iki genotipte de azalmış, SNP+DPI+tuz uygulamasında ise SNP+DPI uygulamasına göre Artvin genotipinde artış, Mardin genotipinde ise azalma görülmüştür.

H₂O₂+SNP uygulamasında yaprak taze ağırlığı hem K hem de T uygulamasına göre her iki genotipte de artmıştır. H₂O₂+SNP+tuz uygulamasında ise H₂O₂+SNP grubu ile

karşılaştırıldığında yaprak taze ağırlığı azalmış olmakla birlikte K ve T gruplarına göre artmıştır.

cPTIO+DPI uygulamasında her iki genotipte de yaprak taze ağırlığı K ve T gruplarına göre azalmış ve cPTIO+DPI+tuz uygulamasında bu azalma artarak devam etmiştir.

Sonuç olarak bu veriler, sadece H₂O₂ veya NO uygulaması yapılan gruplarda yaprak taze ağırlığının K, T uygulamalarına göre arttığı, H₂O₂ ve NO inhibitörlerinin birlikte uygulandığı gruplarda azaldığı, donör ve inhibitörlerin birlikte uygulandığı gruplarda ise inhibitörlerin tek başına uygulandığı gruplardan daha yüksek bir değere ulaştığı belirlenmiştir. H₂O₂ ve NO'nun birlikte uygulandığı gruplarda ise yaprak taze ağırlığı K, T ve bu maddelerin sadece birinin uygulandığı gruplara göre artmıştır (Şekil 5.2).

5.2. MDA (Malondialdehit) Miktarındaki Değişimler

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinde MDA miktarında oluşturduğu değişimler Şekil 5.3'de verilmiştir. MDA miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark ($t=9,029$), $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 5.1).

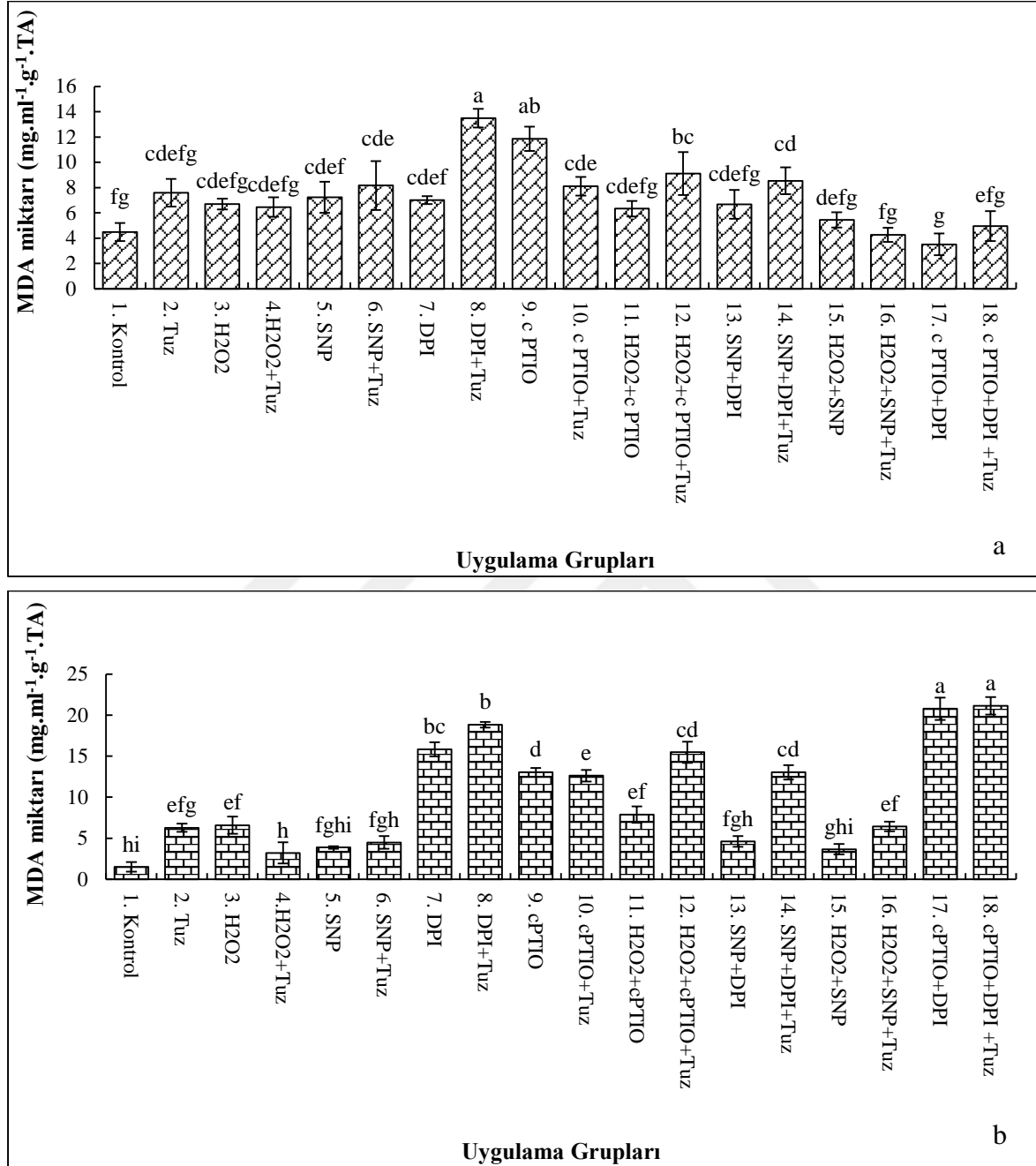
Tuz stresi her iki patlıcan genotipinde de MDA miktarını, K grubuna göre artırmıştır. Bu artış Artvin genotipinde Kontrol grubunun 6,2 katı iken, Mardin genotipinde 1,7 katıdır.

H₂O₂ uygulaması MDA miktarını her iki genotipte de Kontrol grubuna göre artırmış, T uygulamasına göre azaltmıştır. Artvin genotipinde bu azalma T grubuna göre 1,2 kat olurken, Mardin genotipinde 1,7 kat olmuştur. H₂O₂+tuz uygulaması, sadece tuz uygulaması yapılan gruba göre MDA miktarını Artvin genotipinde 1,7 kat, Mardin genotipinde 1,05 kat artırmıştır. Diğer yandan her iki genotipte de H₂O₂ ve H₂O₂+tuz uygulaması arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır.

NO donörü SNP uygulaması, Artvin genotipinde MDA miktarını T grubuna göre 1,7 kat Mardin genotipinde ise 1,26 kat azaltmıştır. SNP+tuz uygulamasında MDA miktarı Artvin genotipinde T grubuna göre 1,6 kat, Mardin genotipinde 1,18 kat azalmıştır.

H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulaması, T grubuna göre MDA miktarını Artvin genotipinde 1,12 kat, Mardin genotipinde ise 2,2 kat artırmıştır. DPI+tuz uygulamasında MDA

miktarında yaklaşık Artvin genotipinde 1,4 kat, Mardin genotipinde 3,74 katlık bir artış olmuştur.



Şekil 5.3. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde MDA miktarının değişimi

NO süpürücüsü cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde T grubuna göre MDA miktarı Artvin genotipinde 1,2 kat, Mardin genotipinde 3,74 kat artmıştır. cPTIO+tuz uygulaması ise, MDA miktarında önemli bir değişime yol açmamış ve tuz uygulaması yapılmayan grupla aynı kalmıştır.

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO uygulama grubunda MDA miktarı T grubuna göre, Artvin genotipinde 1,5 kat, Mardin genotipinde ise, 2 kat artmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde, her iki genotipte de MDA miktarı hem T hem de H₂O₂+cPTIO uygulamasına göre artmıştır.

NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı SNP+DPI uygulamasında MDA miktarı T grubuna göre Artvin genotipinde 1,2 kat, Mardin genotipinde ise 2 kat artmıştır. SNP+DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde MDA miktarı SNP+DPI uygulamasından ve T grubundan daha yüksek bulunmuştur.

H₂O₂+SNP uygulamasında, her iki genotipte de MDA miktarındaki azalma anlamlı bulunmuştur. H₂O₂+SNP+tuz uygulaması her iki genotipte de MDA miktarının H₂O₂+SNP uygulaması yapılan bitkilere göre daha yüksek olmasına sebep olmuştur.

H₂O₂ inhibitörü DPI ve NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulamasında T grubuna göre MDA miktarının her iki genotipte de arttığı, bu artışın Artvin genotipinde 1,5, Mardin genotipinde 3,5 kat olduğu belirlenmiştir.

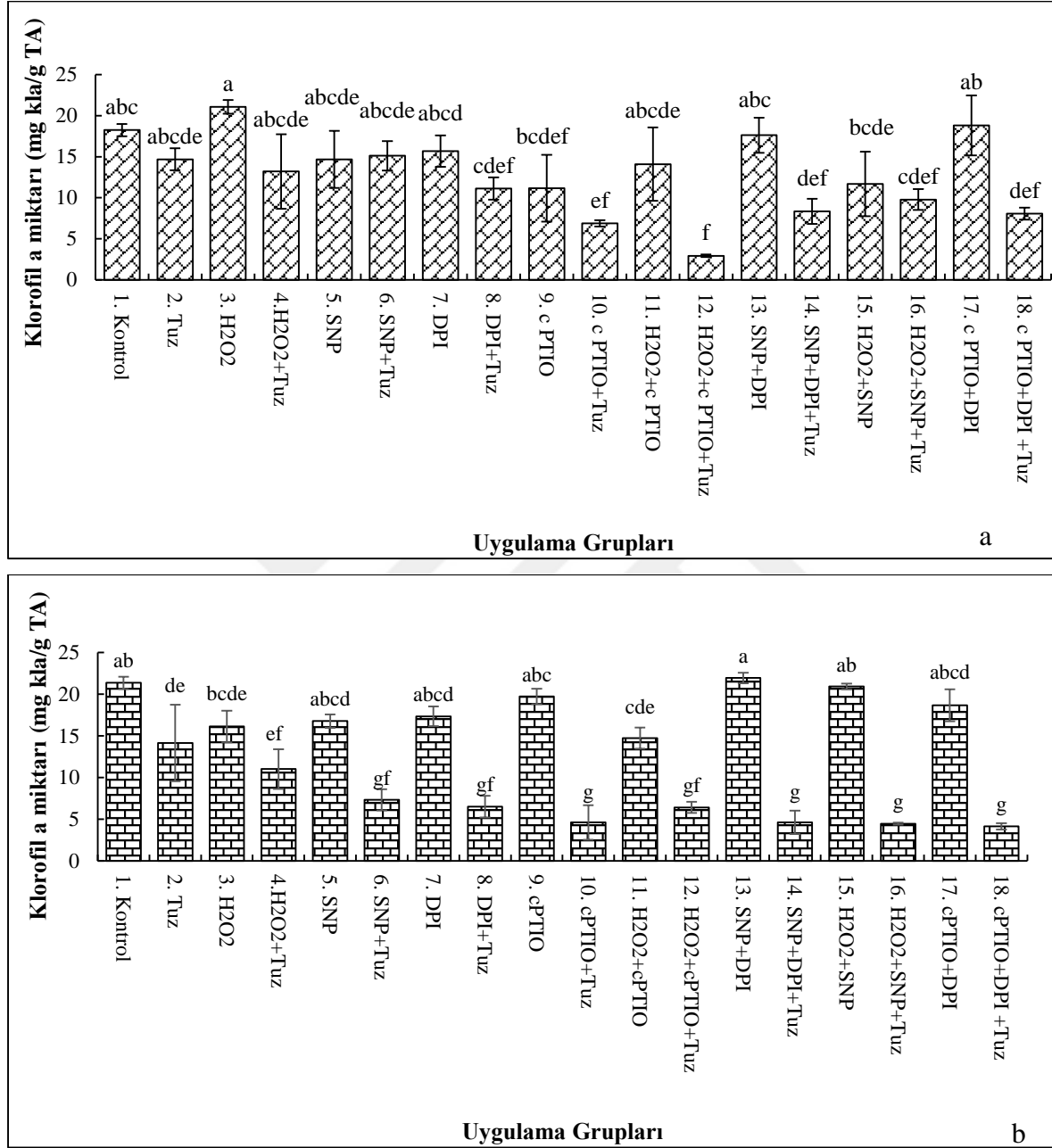
Sonuç olarak her iki patlıcan genotipinde de T uygulaması, K grubuna göre MDA miktarını artırmıştır. T uygulamasına göre H₂O₂ ve NO donörü SNP tek tek ya da birlikte uygulandığında MDA miktarını azaltırken, DPI ve cPTIO inhibitörleri de tek tek ya da birlikte uygulandığında MDA miktarını artırmıştır. Bu azalma ve artış şeklindeki değişimler tuza duyarlı Artvin genotipinde, Mardin genotipine göre daha fazla olmuştur. Özellikle H₂O₂ ve NO'in birlikte uygulandığı grupta MDA miktarının her iki genotipte de kontrol grubuna yakın değerlerde kaldığı görülürken, her iki inhibitörün birlikte kullanıldığı cPTIO+DPI uygulamasında ise MDA miktarının tüm uygulama grupları içerisinde en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir. Diğer yandan H₂O₂+SNP+tuz uygulaması, yalnızca T uygulandığında ortaya çıkan MDA artışını azaltmıştır (Şekil 5.3).

5.3. Klorofil ve Karotenoid Miktarındaki Değişimler

5.3.1. Klorofil a

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin yaprak klorofil a miktarları üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.4'de verilmiştir. Klorofil a miktarı bakımından uygulamalara

karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark, $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).



Şekil 5.4. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde klorofil a miktarının değişimi

Mardin genotipinde bulunan klorofil a miktarı Artvin genotipinde bulunan klorofil a miktarından %14 daha fazladır. 100 mM NaCl uygulaması, Kontrol K grubu bitkilerine göre klorofil a miktarını her iki genotipte de azaltmıştır.

H₂O₂ uygulamasında klorofil a miktarı, Artvin genotipinde kontrol grubuna göre artarken, Mardin genotipinde K grubuna göre azalmış, T uygulamasına göre artmıştır. Her iki genotipte de H₂O₂+tuz uygulaması yapılan bitkilerde, klorofil a miktarı, K, T ve H₂O₂ uygulamalarına göre azalmıştır.

NO donörü SNP uygulaması klorofil a miktarını, her iki genotipte de K grubuna göre azaltırken, T grubuna göre artırmıştır. SNP+tuz uygulamasında klorofil a miktarı, Artvin genotipinde K grubuna göre azalırken T ve SNP grubuna göre artmıştır, Mardin genotipinde klorofil a miktarı, K, T ve SNP uygulamalarına göre azalmıştır.

H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulaması, her iki genotipte de klorofil a miktarını T grubuna göre artırırken, H₂O₂ uygulamasına göre azaltmıştır. DPI+tuz uygulaması, klorofil a miktarını her iki genotipte de K, T ve DPI uygulanan bitkilere göre azaltmıştır.

NO süpürücüsü cPTIO uygulaması, her iki genotipte de klorofil a miktarının K grubuna göre azaltmıştır. NO donörü SNP uygulaması yapılan bitkiler ile karşılaştırıldığında, cPTIO uygulaması klorofil a miktarı bakımından Artvin genotipinde azalırken, Mardin genotipinde artmıştır.

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun uygulandığı, H₂O₂+cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a miktarı, her iki genotipte de K grubuna göre azalırken T grubuna göre, herhangi bir değişiklik olmamıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulaması her iki genotipte de klorofil a miktarını H₂O₂+cPTIO uygulaması yapılan bitkilere göre sırasıyla %79,21 ve %58,4 oranında azaltmıştır.

NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ sentez inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı SNP+DPI uygulama grubu, her iki genotipte de klorofil a miktarı kontrol grubuna yakın bir değer alırken, T grubuna göre artmıştır. SNP+DPI+tuz uygulamasında klorofil a miktarı, SNP+DPI uygulamasına göre Artvin genotipinde %53, Mardin genotipinde %78,3 oranında azalmıştır.

H₂O₂+SNP uygulama grubunda, her iki genotipte de klorofil a miktarının kontrol grubuna azaldığı, T grubuna göre Artvin genotipinde azaldığı, Mardin genotipinde ise arttığı

bulunmuştur. H₂O₂+SNP+tuz uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a miktarı H₂O₂+SNP uygulamasına göre, Artvin genotipinde %17, Mardin genotipinde %74 oranında azalmıştır.

H₂O₂ inhibitörü DPI ve NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı cPTIO+DPI uygulamasında her iki genotipte de T grubuna göre azalma görülmüştür. cPTIO+DPI+tuz uygulamasında ise cPTIO+DPI uygulaması yapılan bitkilere göre Artvin genotipinde %57, Mardin genotipinde %78 oranında azalmıştır.

5.3.2. Klorofil b

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin yaprak klorofil b miktarları üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.5'de verilmiştir. Klorofil a miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark, p<0,05 düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).

Mardin genotipinin klorofil b miktarının, Artvin genotipinin klorofil b miktarından %19 daha fazla olduğu belirlenmiştir. 100 mM NaCl uygulaması yapılan (T) Artvin ve Mardin genotiplerinde, klorofil b miktarı, K grubuna göre sırasıyla %25 ve %38 oranında azalmıştır.

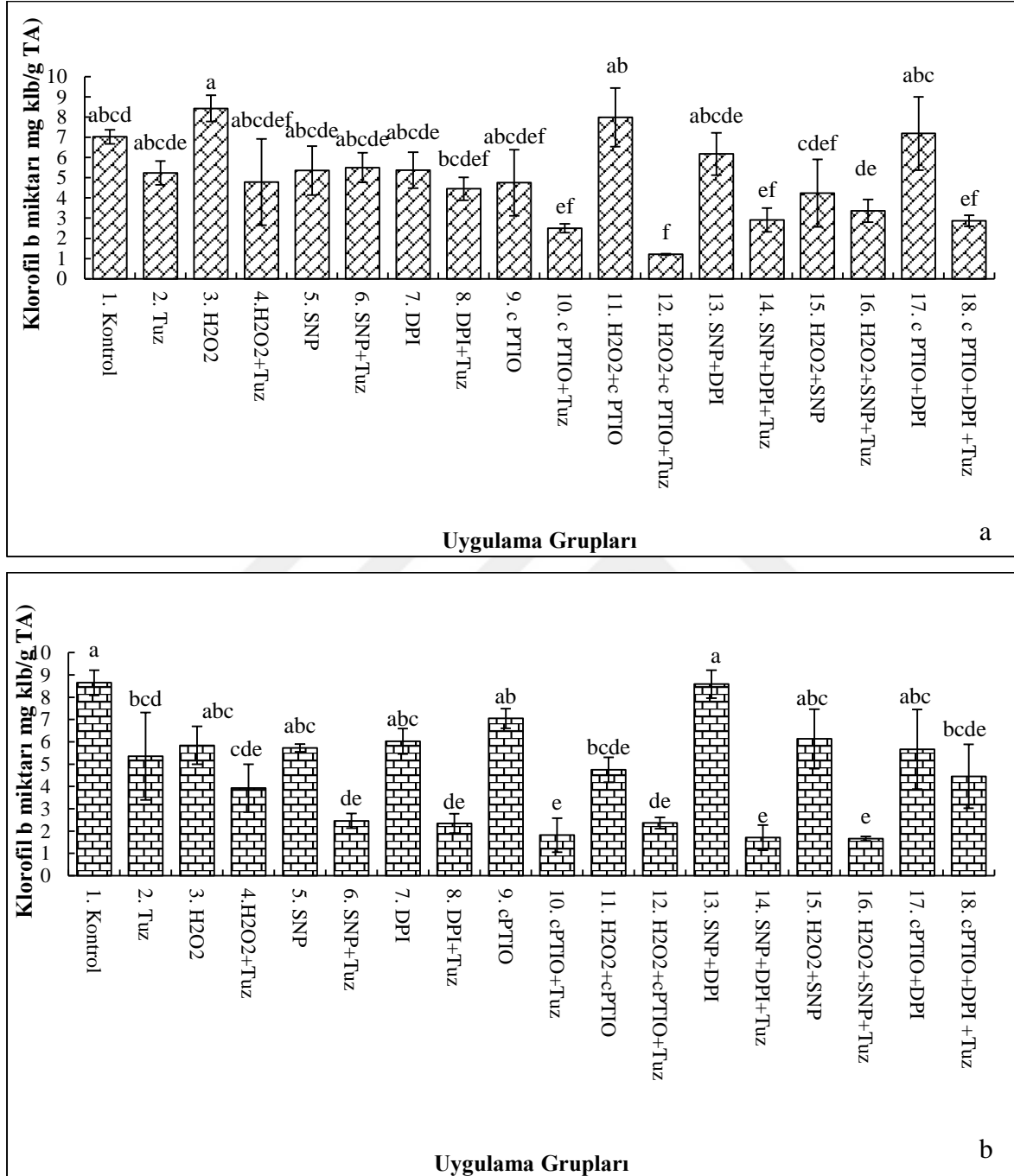
H₂O₂ uygulamasında klorofil b miktarı Artvin genotipinde, K grubuna göre artarken Mardin genotipinde azalmıştır. H₂O₂+tuz uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b miktarı H₂O₂ uygulaması yapılan bitkilere göre Artvin genotipinde %43, Mardin genotipinde ise, %32 oranında azalmıştır.

NO donörü SNP uygulamasında klorofil b miktarı her iki genotipte de K grubuna göre azalmıştır. SNP+tuz uygulamasında, SNP uygulamasına göre klorofil b miktarı, Artvin genotipinde artmış, Mardin genotipinde ise azalmıştır.

H₂O₂ inhibitörü, DPI uygulamasında klorofil b miktarı her iki genotipte de K grubuna göre azalmıştır. DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde, DPI uygulaması ile karşılaştırıldığında, klorofil b miktarı Artvin genotipinde %17, Mardin genotipinde %61,1 oranında azalmıştır.

NO süpürücüsü cPTIO uygulamasında klorofil b miktarı, her iki genotipte de azalmıştır. cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b miktarı cPTIO uygulaması ile

karşılaştırıldığında, Artvin genotipinde %47, Mardin genotipinde ise %74 oranında azalmıştır.



Şekil 5.5. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde klorofil b miktarının değişimi

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO uygulamasında klorofil b miktarı Artvin genotipinde hem K hem de T grubuna göre artarken, Mardin genotipinde ise %47 oranında azalmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulaması yapılan

bitkilerde her iki genotipte de K, T ve H₂O₂+cPTIO uygulamasına göre klorofil b miktarı azalmıştır.

NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı SNP+DPI uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b miktarı her iki genotipte de K grubuna göre azalmıştır. SNP+DPI+tuz uygulamasında, klorofil b miktarı, SNP+DPI uygulaması yapılan bitkilere göre, Artvin genotipinde %52, Mardin genotipinde %78 oranında azalmıştır.

H₂O₂+SNP uygulamasında her iki genotipte de T grubu ile karşılaştırıldığında klorofil b miktarı artmıştır. H₂O₂+SNP+tuz uygulaması yapılan bitkilerde her iki genotipte de H₂O₂+SNP uygulamasına göre klorofil b miktarı azalmıştır.

NO süpürücüsü cPTIO ve H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulaması yapılan bitkilerde, klorofil b miktarı, K grubuna göre azalmış ancak T grubuna göre artmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde ise cPTIO+DPI uygulaması ile karşılaştırıldığında, klorofil b miktarının her iki genotipte de azaldığı tespit edilmiştir.

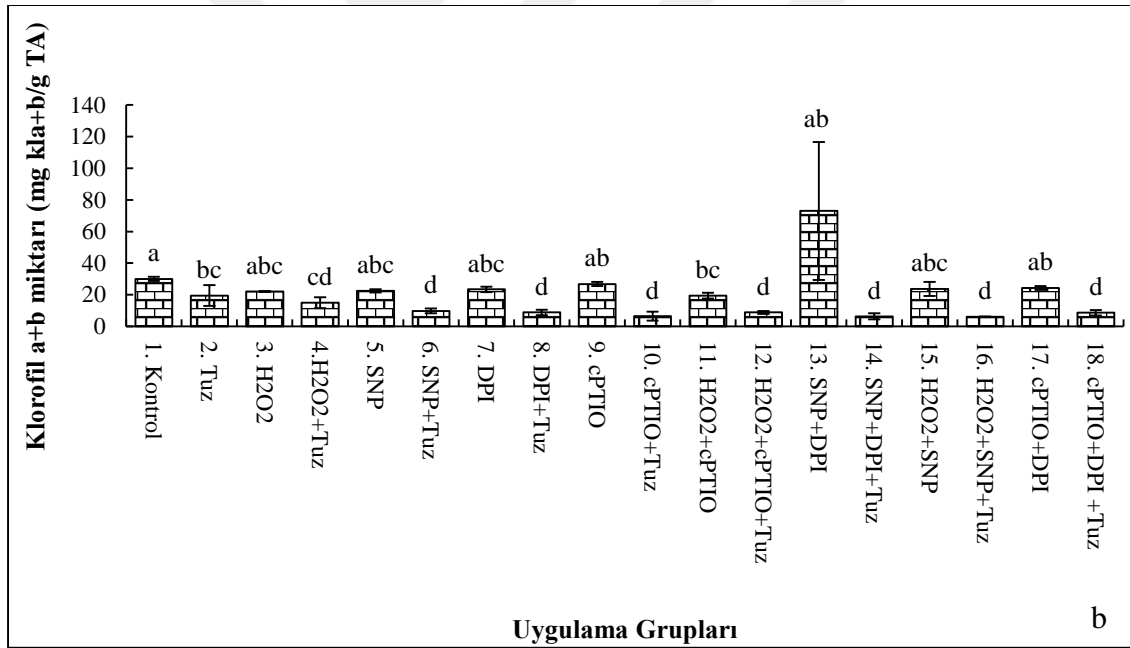
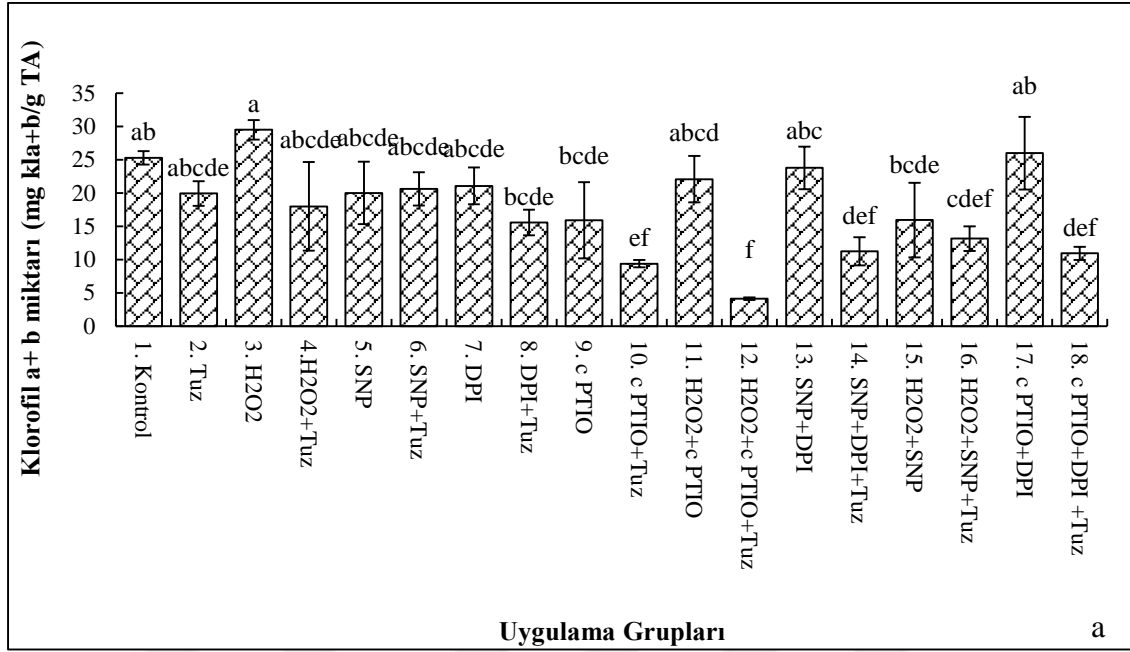
5.3.3. Klorofil a+b

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin yaprak klorofil a+b miktarları üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.6'da verilmiştir. Klorofil a+b miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark, p<0,05 düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).

Klorofil a+b miktarı, 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre her iki genotipte de azalmıştır.

H₂O₂ uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı Artvin genotipinde K grubuna göre artarken, Mardin genotipinde azalmıştır. H₂O₂+tuz uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı H₂O₂ uygulaması yapılan bitkiler ile karşılaştırıldığında her iki genotipte de azalmıştır.

NO donörü SNP uygulamasında klorofil a+b miktarı, her iki genotipte de K grubuna göre azalırken T grubuna göre artmıştır. SNP+tuz uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı SNP uygulaması yapılan bitkilere göre her iki genotipte de azalmıştır.



Şekil 5.6. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde klorofil a+b miktarının değişimi

H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulamasında klorofil a+b miktarı K ve T uygulamalarına göre azalmıştır. DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı, DPI uygulamasına göre azalmıştır.

NO süpürücüsü cPTIO uygulamasında klorofil a+b miktarı K grubu ile karşılaştırıldığında, Artvin genotipinde %35, Mardin genotipinde %10 oranında azalmıştır. Sadece SNP uygulaması yapılan bitkiler ile karşılaştırıldığında ise klorofil a+b miktarının NO

süpürücüsü cPTIO uygulaması ile azaldığı görülmektedir. cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı, K,T ve cPTIO uygulaması yapılan bitkilere göre, her iki genotipte de azalmıştır.

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO uygulamasında her iki genotipte de klorofil a+b miktarı K grubuna göre azalmış, T grubuna göre artmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulamasında klorofil a+b miktarı, H₂O₂+cPTIO uygulamasına göre, Artvin genotipinde %81, Mardin genotipinde %54 oranında azalmıştır.

NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı SNP+DPI uygulamasında klorofil a+b miktarı her iki genotipte de T grubuna göre artmış, kontrol grubuna da yakın bir değere ulaşmıştır. SNP+DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerin klorofil a+b miktarı, SNP+DPI uygulamasına göre azalmıştır.

H₂O₂+SNP uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı, Artvin genotipinde neredeyse Kontrol grubu ile aynı değere ulaşmış olup, bu etki H₂O₂+SNP+tuz uygulamasında da devam etmiştir. Mardin genotipinde ise klorofil a+b miktarı, K grubundan daha az bulunmuş olsa da sadece H₂O₂ veya sadece SNP uygulanan gruplara göre artmıştır. H₂O₂+SNP+tuz uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı H₂O₂+SNP uygulamasına göre Artvin genotipinde %17, Mardin genotipinde %74 oranında azalmıştır.

cPTIO+DPI uygulaması yapılan bitkilerde klorofil a+b miktarı, T grubuna göre Artvin genotipinde artmış, Mardin genotipinde azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulamasında klorofil a+b miktarı, cPTIO+DPI uygulamasına göre azalmıştır.

5.3.4. Karotenoid

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin yaprak karotenoid miktarları üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.7'de verilmiştir. Karotenoid miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark, p<0,05 düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).

Karotenoid miktarı, 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre her iki genotipte de azalmıştır.

H₂O₂ uygulamasında karotenoid miktarı her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. H₂O₂+tuz uygulamasında karotenoid miktarı K, T ve H₂O₂ uygulaması yapılan bitkilere göre azalmıştır.

NO donörü SNP uygulamasında karotenoid miktarı, her iki genotipte de T grubuna göre azalmış, NO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde karotenoid miktarı hem T hem de SNP uygulaması yapılan bitkilere göre azalmıştır.

H₂O₂ inhibitörü, DPI uygulamasında karotenoid miktarı, her iki genotipte de K grubuna göre azalmıştır. DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde karotenoid miktarı, her iki genotipte de T ve DPI uygulaması yapılan bitkilere göre azalmıştır.

NO inhibitörü cPTIO uygulamasında karotenoid miktarı her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde karotenoid miktarı her iki genotipte de cPTIO uygulaması yapılan bitkilere göre azalma göstermiştir.

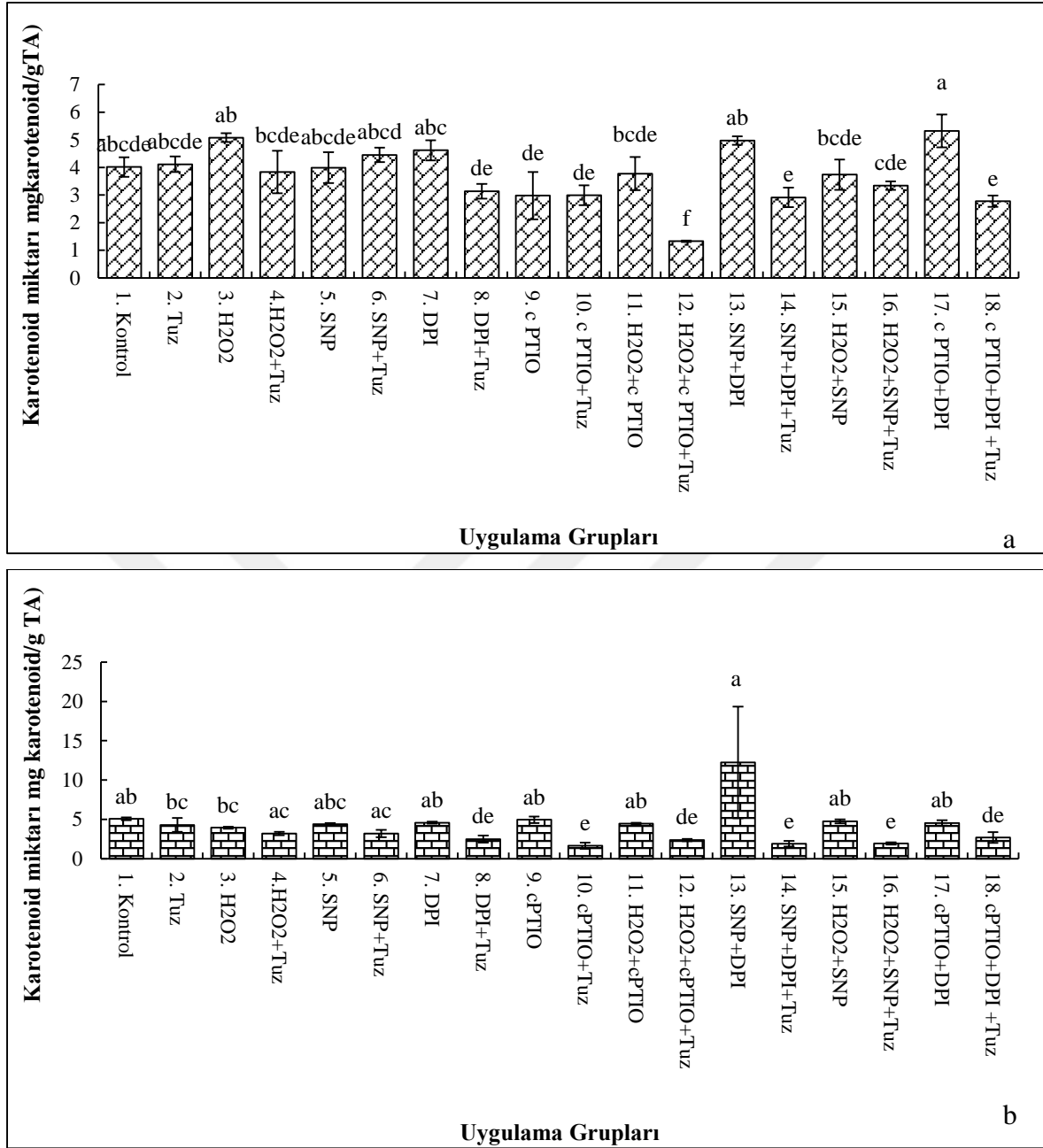
H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO uygulamasında karotenoid miktarı, Artvin genotipinde T grubuna göre azalmış, Mardin genotipinde ise artmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulamasında, her iki genotipte de azalmıştır. Artvin genotipinde karotenoid miktarı tüm uygulama grupları arasında en düşük değeri almıştır.

NO donörü SNP ile uygulamasında karotenoid miktarı, T grubuna göre her iki genotipte de artmıştır.

SNP+DPI uygulamasında karotenoid miktarı her iki genotipte de T grubuna göre azalırken, SNP+DPI+tuz uygulamasında SNP+DPI uygulamasına göre azalmıştır.

H₂O₂+SNP uygulamasında karotenoid miktarı her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. H₂O₂+SNP+tuz uygulamasında karotenoid miktarı hem T hem de H₂O₂+SNP grubuna göre azalmıştır.

cPTIO+DPI uygulamasında karotenoid miktarı her iki genotipte de K grubuna göre azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde karotenoid miktarı hem T hem de cPTIO+DPI uygulamasına göre azalmıştır.



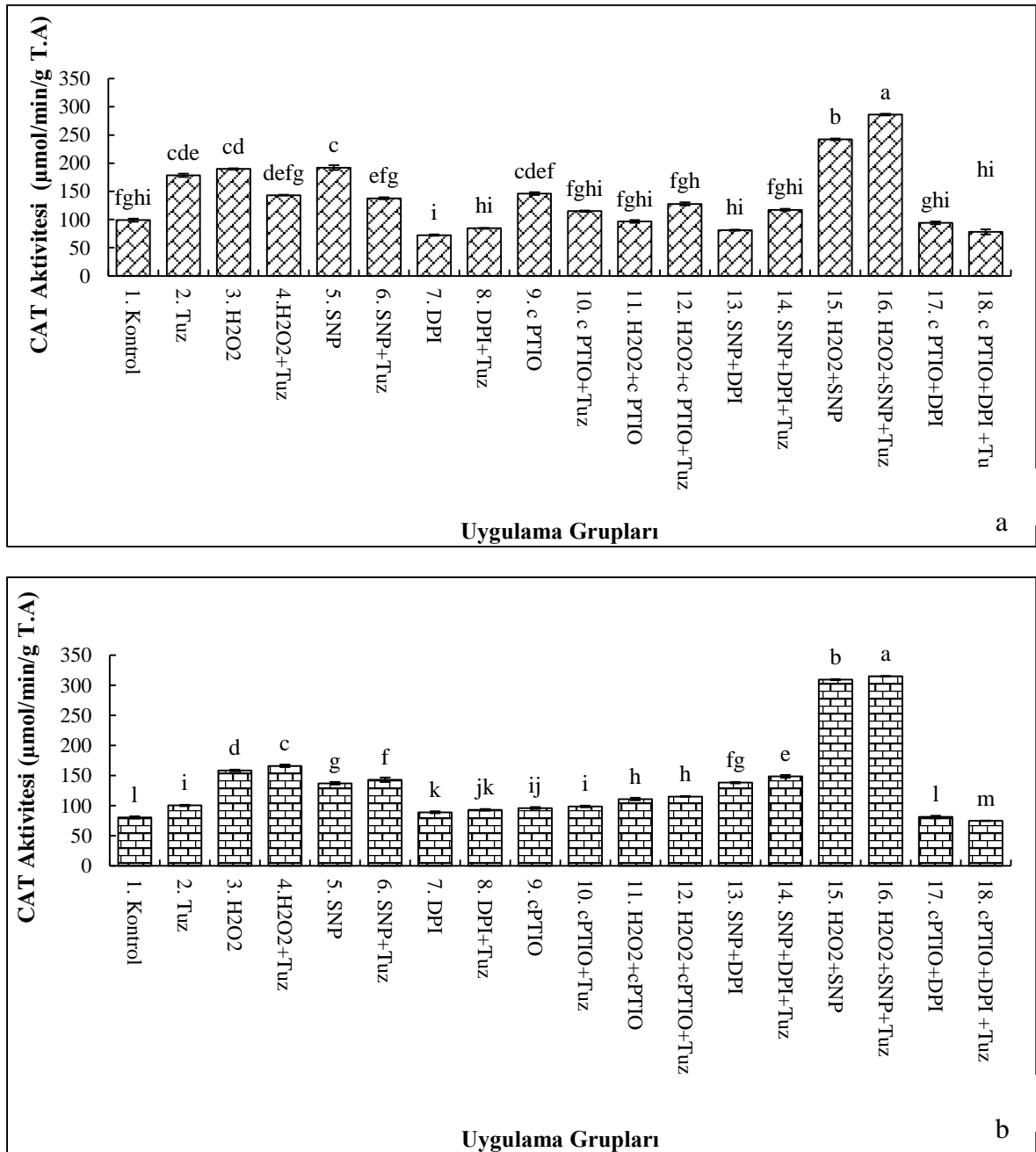
Şekil 5.7. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde karotenoid miktarının değişimi

Sonuç olarak; tuz uygulaması ile azalan klorofil ve karotenoid miktarları, H₂O₂ uygulaması yapılan bitkilerin, klorofil a, klorofil b, klorofil a+b ve karotenoid miktarlarının hem Artvin hem de Mardin genotipinde T grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. Yani bitkiye dışarıdan uygulanan H₂O₂, bitkide olumlu bir etki oluşturmuş ve bu durum, doğrudan klorofil ve karotenoid miktarına yansımıştır. DPI uygulaması yapılan gruplarda, klorofil pigmentlerinde meydana gelen azalma, H₂O₂ uygulamasının sağlaması olarak karşımıza çıkmaktadır (Şekil 5.4-7).

5.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerindeki Değişimler

5.4.1. CAT aktivitesi

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin CAT aktivitesi üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.8’de verilmiştir. CAT aktivitesi bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide genotipler arasındaki fark, $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).



Şekil 5.8. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde CAT aktivitesinin değişimi

CAT aktivitesi, 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre her iki genotipte de artmıştır. Artvin genotipinde bu artış 1,8 kat olurken, Mardin genotipinde 1,2 kat olmuştur.

H₂O₂ uygulamasında CAT aktivitesi her iki genotipte de K ve T grubuna göre artmıştır. H₂O₂+tuz uygulama grubunda CAT aktivitesi H₂O₂ ile karşılaştırıldığında, Artvin genotipinde azalırken Mardin genotipinde artmıştır, ancak bu artış anlamlı değildir.

NO donörü SNP uygulamasında CAT aktivitesi K ve T gruplarına göre artmıştır. SNP+tuz uygulamasına göre azalmıştır.

H₂O₂ inhibitörü, DPI uygulamasında, CAT aktivitesi her iki genotipte de T grubuna göre önemli bir azalma gösterirken DPI+tuz uygulama grubunda CAT aktivitesinin arttığı görülmektedir.

NO inhibitörü cPTIO uygulamasında her iki genotipte de CAT aktivitesinde azalma görülmektedir. cPTIO+tuz uygulamasında cPTIO uygulamasına göre Artvin genotipinde, önemli bir azalma gerçekleşirken, Mardin genotipinde ise artış olmuştur.

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde CAT aktivitesi, Artvin genotipinde, T grubuna göre %50 oranında düşmüştür, Mardin genotipinde ise önemli olmayan bir artış gerçekleşmiştir. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulaması yapılan Artvin genotipinde CAT aktivitesi H₂O₂+cPTIO uygulaması yapılan bitkilere göre azalmış, Mardin genotipinde ise önemsiz bir artış gerçekleşmiştir.

NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ sentez inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı, SNP+DPI uygulamasında, CAT aktivitesi Artvin genotipinde T grubuna göre azalmış, Mardin genotipinde ise 2 katlık bir artış gerçekleşmiştir. SNP+DPI+tuz uygulama grubunda her iki genotipte de CAT aktivitesi SNP+DPI uygulamasına göre artmıştır.

H₂O₂+SNP uygulamasında CAT aktivitesi her iki genotipte de tüm gruplar içinde en yüksek değere ulaşmıştır. H₂O₂+SNP+tuz uygulama grubunda CAT aktivitesi, her iki genotipte de H₂O₂+SNP'ye göre azalmıştır.

cPTIO+DPI uygulamasında CAT aktivitesi, her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulama grubu incelendiğinde, cPTIO+DPI uygulaması yapılan grup ile karşılaştırıldığında her iki genotipte de CAT aktivitesindeki azalma devam etmiştir.

5.4.2. SOD aktivitesi

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin SOD aktivitesi üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.9'da verilmiştir. SOD aktivitesi bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark ($t=67,95$), $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 5.1).

H₂O₂ uygulamasında SOD aktivitesi her iki genotipte de K ve T grubuna göre artmıştır. H₂O₂+tuz uygulama grubunda SOD aktivitesi H₂O₂ ile karşılaştırıldığında, her iki genotipte de artmıştır.

NO donörü SNP uygulaması yapılan bitkilerde SOD aktivitesi Artvin genotipinde, K ve T gruplarına göre artarken, Mardin genotipinde K grubuna göre artmış, T grubuna göre azalmıştır. SNP+tuz uygulama grubunda ise SOD aktivitesi her iki genotipte de SNP uygulamasına göre azalmıştır, ancak bu azalma önemli değildir.

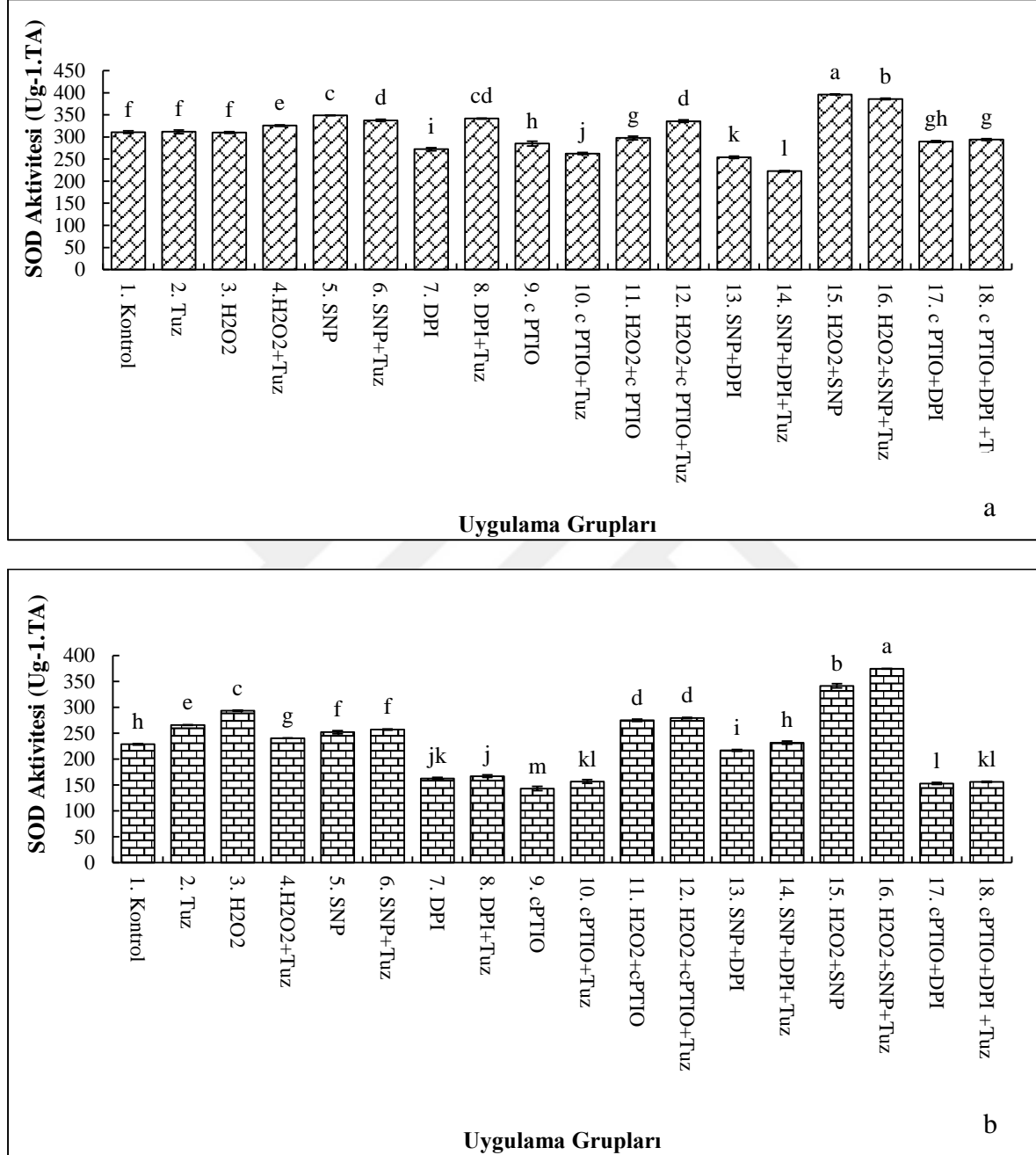
H₂O₂ inhibitörü, DPI uygulamasında, SOD aktivitesi her iki genotipte de T grubuna göre önemli bir azalma gösterirken, DPI+tuz uygulama grubunda SOD aktivitesinin Artvin genotipinde anlamlı olarak arttığı görülmektedir.

NO inhibitörü cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde her iki genotipte de SOD aktivitesinde azalma görülmektedir. cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde her iki genotipte de, cPTIO uygulamasına göre önemli bir azalma gerçekleşmiştir.

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO grubunda SOD aktivitesi, Artvin genotipinde, T grubuna göre azalırken, Mardin genotipinde artmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulaması yapılan her iki genotipte de SOD aktivitesi H₂O₂+cPTIO grubuna göre artmıştır.

NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ sentez inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı, SNP+DPI grubunda, SOD aktivitesi Artvin genotipinde T grubuna göre artmış, Mardin genotipinde ise

azalmıştır. SNP+DPI+tuz uygulamasında SOD aktivitesi Artvin genotipinde azalmış, Mardin genotipinde artmıştır.



Şekil 5.9. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde SOD aktivitesinin değişimi

H₂O₂+SNP uygulamasında SOD aktivitesi her iki genotipte de artmış, bu artış Artvin genotipinde T grubuna göre 1,4 kat olurken, Mardin genotipinde 1,3 kat olmuştur. H₂O₂+SNP+tuz uygulaması yapılan grupta SOD aktivitesi Artvin genotipinde T grubu ile aynı kalırken, Mardin genotipinde önemli şekilde artmıştır.

cPTIO+DPI uygulamasında SOD aktivitesi, her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulamasında SOD aktivitesi, cPTIO+DPI grubuna göre her iki genotipte de azalmıştır.

Sonuç olarak, H₂O₂ ve NO donörü SNP uygulaması yapılan bitkilerde antioksidan savunma sistemi devreye girerek antioksidan enzim (CAT, SOD) aktivitesini uyarmıştır. H₂O₂ ve SNP bitkiye tek başlarına uygulandığı zaman, beraber uygulandıkları etkiyi gösterememiştir. En yüksek CAT aktivitesine birlikte uygulandıkları gruplarda ulaşmıştır.

5.5. İçsel H₂O₂ Miktarındaki Değişimler

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin içsel H₂O₂ miktarı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.10'da verilmiştir. İçsel H₂O₂ miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark (t=-17,676), p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 5.1).

İçsel H₂O₂ miktarı, 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre her iki genotipte de artmıştır.

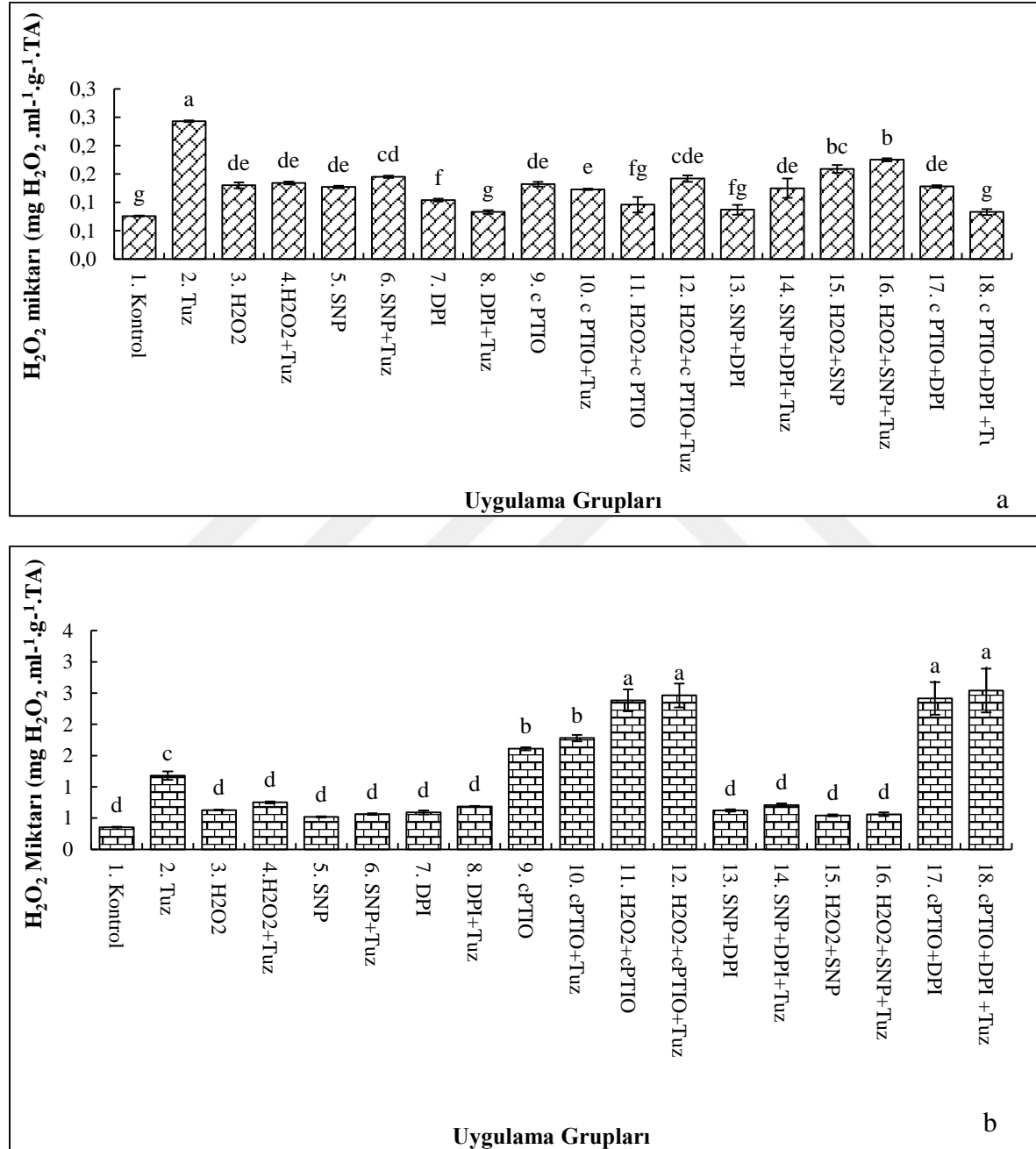
H₂O₂ uygulamasında Artvin genotipinde H₂O₂ miktarı her iki genotipte de yaklaşık yarı yarıya bir azalma göstermiştir.

SNP uygulamasında H₂O₂ miktarı, her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. SNP+Tuz uygulamasında H₂O₂ miktarları her iki genotipte de artış göstermiştir. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir.

DPI uygulamasında H₂O₂ miktarı her iki gruba göre azalma göstermiştir. T grubuna göre Artvin genotipinde azalmış, Mardin genotipinde ise artmıştır. DPI+uz uygulamasında, sadece DPI uygulanan gruba göre değerlendirildiğinde, H₂O₂ miktarındaki artış her iki genotipte de önemli bulunmamıştır.

cPTIO uygulamasında H₂O₂ miktarı T grubuna göre Artvin genotipinde azalmış, Mardin genotipinde ise artmıştır. cPTIO+tuz uygulama grubunda H₂O₂ miktarları, her iki genotipte de az çok değişmeyerek aynı kalmıştır ve bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

H₂O₂+cPTIO uygulaması, Artvin genotipinde H₂O₂ miktarını %50 oranında azaltmış, Mardin genotipinde ise, 2 kat artırmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulamasında H₂O₂ miktarındaki artış, H₂O₂+cPTIO grubuna göre Artvin genotipinde önemli bulunmazken, Mardin genotipinde 1,2 kat olmuştur.



Şekil 5.10. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde içsel H₂O₂ miktarının değişimi

SNP+DPI uygulama grubunda H₂O₂ miktarı T grubuna göre Artvin genotipinde %50 oranında, Mardin genotipinde ise %46 oranında azalmıştır. SNP+DPI+tuz uygulamasında H₂O₂ miktarları her iki genotipte de artış göstermiştir.

H₂O₂+SNP uygulamasında H₂O₂ miktarı, her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. H₂O₂+SNP+Tuz uygulamasında H₂O₂ miktarı Artvin genotipinde azalırken, Mardin genotipinde artmıştır.

cPTIO+DPI uygulamasında H₂O₂ miktarı Artvin genotipinde T grubuna göre önemli bir şekilde artmış, Mardin genotipinde ise azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulamasında H₂O₂ miktarı Artvin genotipinde azalırken, Mardin genotipinde artarak tüm uygulama grupları içerisindeki en yüksek değerine ulaşmıştır.

5.6. Prolin Miktarındaki Değişimler

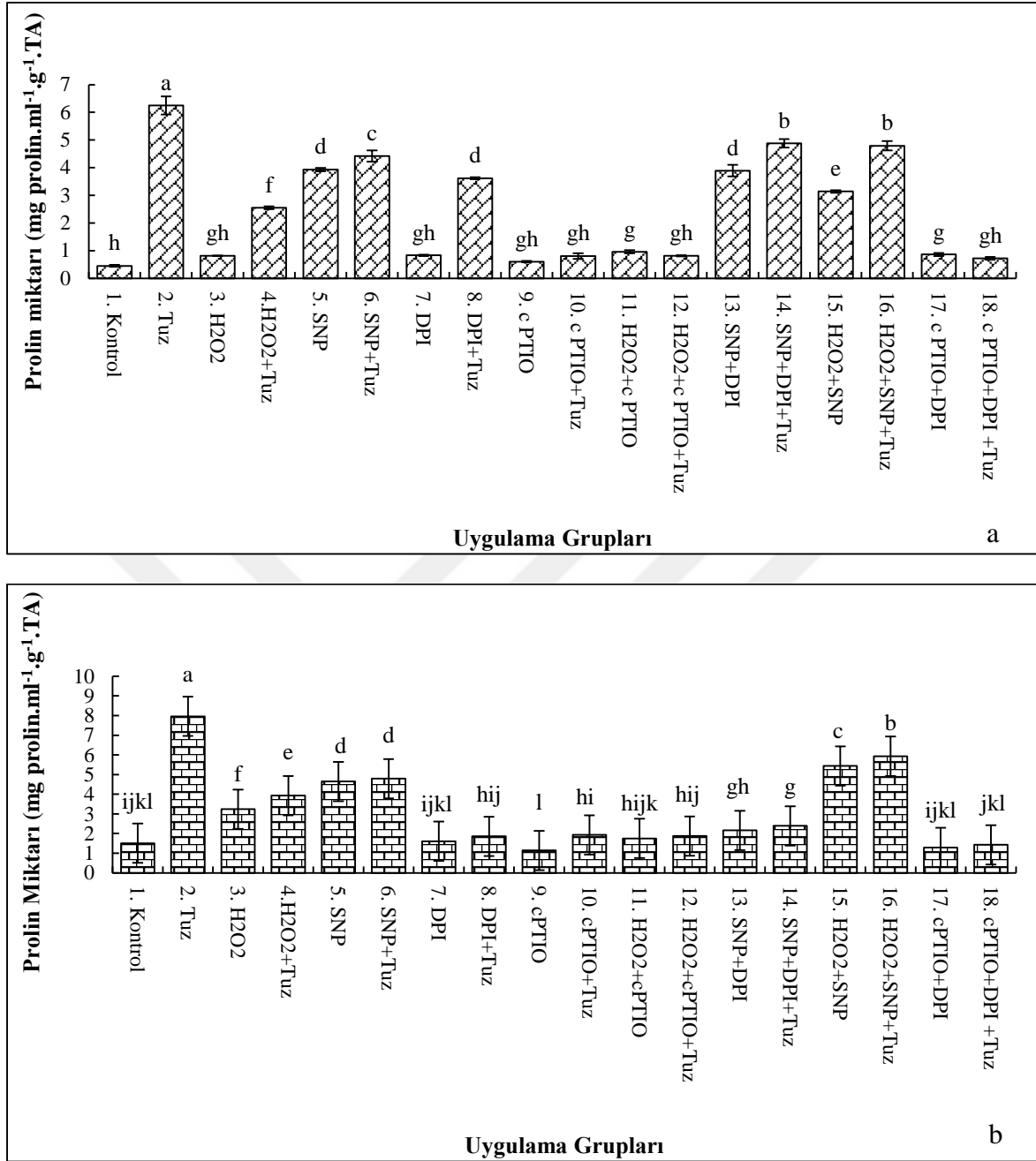
Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin prolin miktarı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.11’de verilmiştir. Prolin miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark ($t=-16,285$), $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 5.1).

Prolin miktarı, 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre her iki genotipte de artmıştır.

H₂O₂ uygulama grubunun Artvin genotipinde prolin miktarı, K grubuna göre 2 kat artarken, T grubuna göre, 7,6 kat azalmıştır. Mardin genotipinde ise K grubuna göre 2 kat artan prolin miktarı, T grubuna göre 2,4 kat azalmıştır.

NO donörü SNP uygulamasında prolin miktarı, Artvin genotipinde T uygulamasına göre azalmıştır. Mardin genotipinde ise K grubuna göre, 3 kat artan prolin miktarı T grubuna göre 1,7 kat azalmıştır. NO+tuz uygulama grubunda prolin miktarı, her iki genotipte de artış göstermiştir.

NO süpürücüsü cPTIO uygulaması, tek başına uygulandığında veya kombine uygulamalarda bulunduğu prolin miktarını azaltmıştır.



Şekil 5.11. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde prolin miktarının değişimi

H₂O₂ inhibitörü, DPI uygulama grubunda prolin miktarı her iki genotipte de azalmıştır. DPI+tuz uygulama grubu incelendiğinde, prolin miktarlarının her iki genotipte de DPI uygulamasına göre artış gösterdiği görülmüştür. Bu artış Artvin genotipinde önemli iken, Mardin genotipinde önemli değildir.

NO inhibitörü cPTIO uygulama grubunda prolin miktarı T grubuna göre her iki genotipte de azalmıştır. cPTIO+tuz uygulaması yapılan grupta prolin miktarı, tuz uygulanmayan gruba göre artmıştır, ancak bu artış, istatistiksel olarak önemli değildir. cPTIO uygulaması, içsel

H₂O₂+cPTIO uygulama grubunda prolin miktarı her iki genotipte de, T grubuna göre oldukça azalmış, bu azalma H₂O₂+cPTIO+tuz uygulamasında yerini artışa bırakmıştır.

SNP+DPI uygulama grubunda prolin miktarı, T grubuna göre her iki genotipte de artış göstermiş, hatta bu artış SNP+DPI+tuz uygulama grubunda da devam etmiştir.

H₂O₂+SNP uygulama grubu prolin miktarında her iki genotipte de artışa yol açmıştır. cPTIO+DPI uygulama grubunda prolin miktarının her iki genotipte de hem T gruplarına hem de H₂O₂+SNP uygulamalarına göre azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Prolin miktarı her iki genotipte de tuz stresi ile artmıştır. H₂O₂ ve NO donörü SNP uygulaması, prolin miktarını her iki genotipte de K grubuna göre artırırken, T grubuna göre azaltmıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI ile NO süpürücüsü cPTIO, T grubuna göre prolin miktarını her iki genotipte de azaltmıştır. Çalışmamızda en yüksek prolin miktarı 100 mM NaCl uygulanan grupta olmuştur. Tuz uygulamasından sonraki en yüksek prolin miktarı, SNP uygulamasında görülmüştür. İki donörün birlikte uygulandığı H₂O₂+SNP grubunda, prolin miktarı her iki genotipte de artarken, iki inhibitörün birlikte uygulandığı cPTIO+DPI grubunda azalmıştır. Böylece, H₂O₂+SNP uygulaması, bitkilerde stresle başa çıkmadan önemli bir basamak olan prolin birikimini uyarabilir.

5.7. İyon Miktarlarındaki Değişimler

5.7.1. Sodyum (Na⁺)

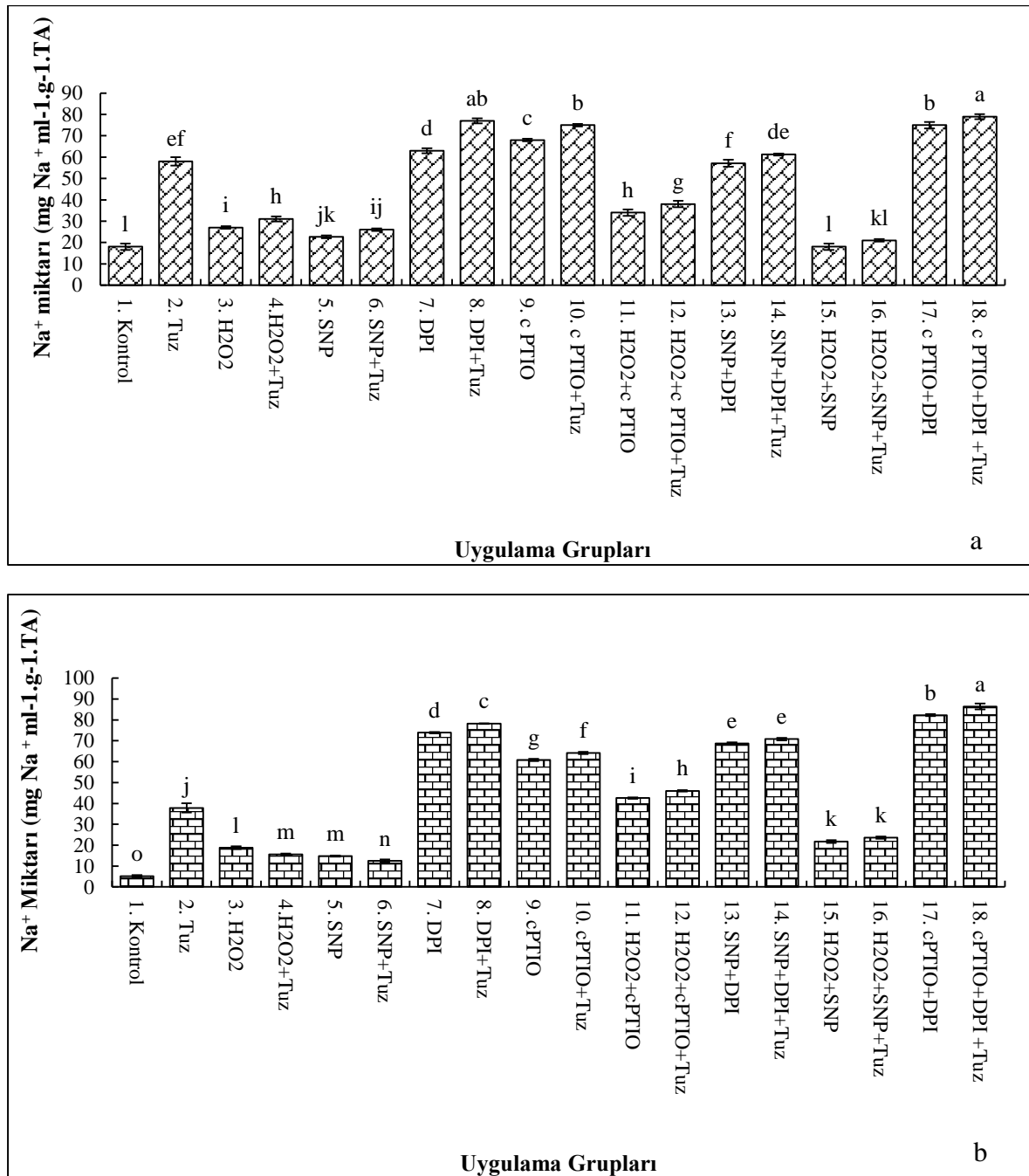
Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin Na⁺ miktarı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.12'de verilmiştir. Na⁺ miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark, p<0,05 düzeyinde önemli bulunmamıştır (Şekil 5.1).

100 mM NaCl uygulaması yapılan grupta Na⁺ miktarı her iki genotipte de kontrol grubuna göre artmıştır.

H₂O₂ uygulamasında Na⁺ miktarı T grubuna göre Artvin genotipinde %52 oranında azalırken, Mardin genotipinde %61 oranında artmıştır. H₂O₂+tuz uygulama grubunda önemli bir değişim görülememiştir.

SNP uygulaması T grubuna göre Artvin genotipinde Na^+ miktarını azaltmıştır. Bu azalma, SNP+tuz uygulamasında yerini anlamlı olmayan bir artışa bırakmıştır.

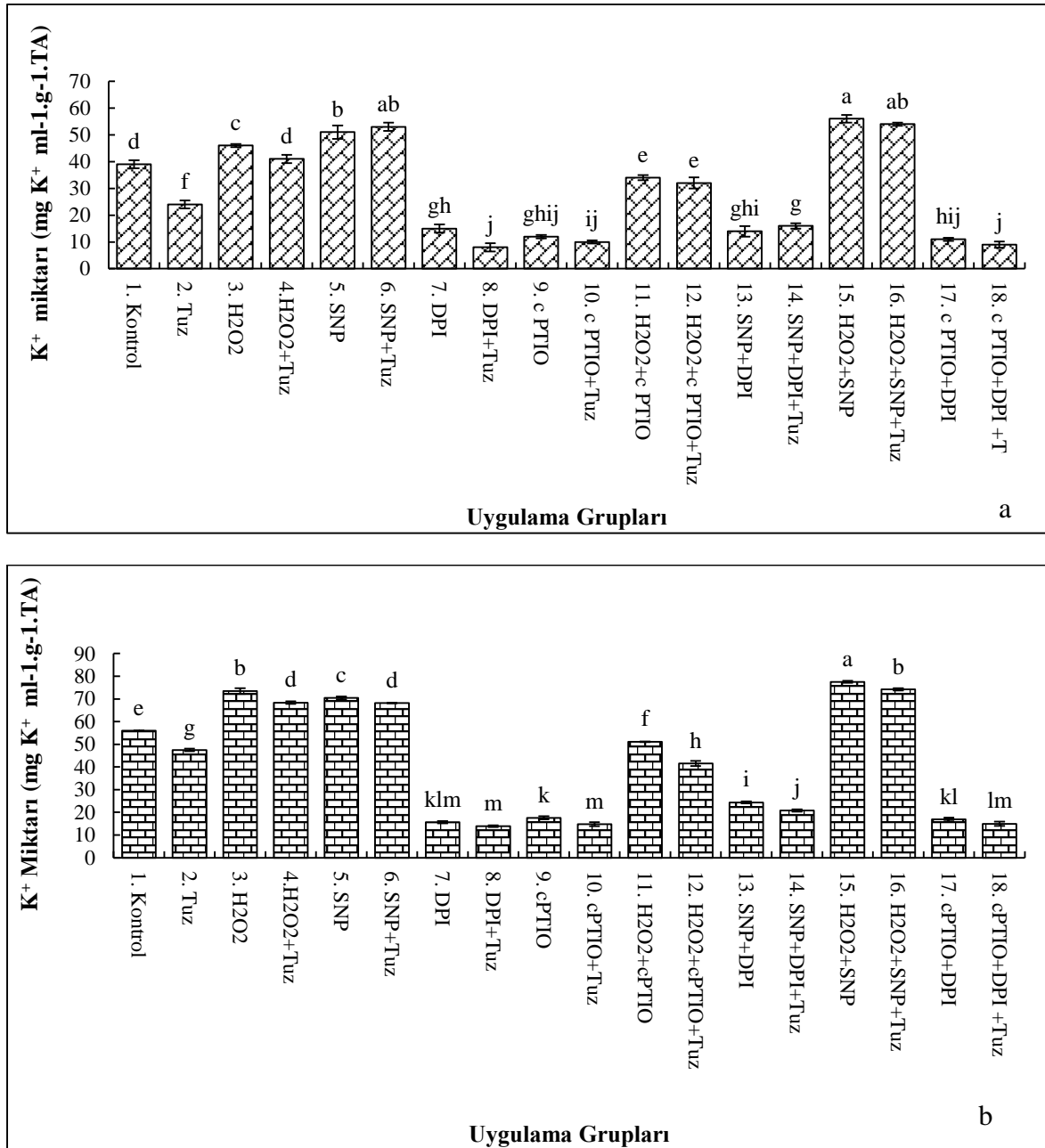
H_2O_2 sentez inhibitörü DPI uygulaması T grubuna göre Artvin genotipinde Na^+ miktarını artırmıştır. H_2O_2 +SNP uygulamasında, Na^+ miktarı T grubuna göre azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulaması ise bitkinin en yüksek Na^+ miktarına sahip olduğu uygulama grubudur.



Şekil 5.12. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde Na^+ miktarının değişimi

5.7.2. Potasyum (K⁺)

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin K⁺ miktarı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.13’de verilmiştir. K⁺ miktarı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark ($t=-22,901$), $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 5.1, Çizelge 5.1).



Şekil 5.13. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde K⁺ miktarının değişimi

100 mM NaCl uygulaması yapılan grupta K^+ miktarı her iki genotipte de kontrol grubuna göre azalmıştır.

H_2O_2 uygulanmış bitkilerde K^+ miktarı her iki genotipte de Kontrol ve Tuz grubuna göre artış göstermiştir. H_2O_2 +tuz uygulaması, T grubuna göre K^+ miktarını her iki genotipte de artırırken, sadece H_2O_2 uygulaması yapılan grup ile karşılaştırıldığında azalmıştır.

NO donörü SNP uygulaması, Artvin genotipinde K^+ miktarını T grubuna göre artırmış, bu artış duyarlı Artvin genotipinde daha fazla olmuştur. SNP+tuz uygulamasında K^+ miktarı Artvin genotipinde artarken, Mardin genotipinde azalmıştır, ancak anlamlı değildir.

H_2O_2 sentez inhibitörü, DPI uygulaması yapılan bitkilerde, her iki genotipte de K^+ miktarını kontrol grubuna göre anlamlı biçimde azaltmıştır. DPI+tuz uygulamasında ise, içsel K^+ miktarı K, T ve DPI uygulamasına göre azalmıştır.

NO süpürücüsü cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde K^+ miktarı, SNP uygulamasının tam aksine, K ve T gruplarına göre azalmıştır. cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkiler, K, T ve cPTIO uygulamasına göre içsel K^+ miktarının azaldığı görülmüştür.

H_2O_2 ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı, H_2O_2 +cPTIO uygulama grubundaki bitkilerin K^+ miktarı, Artvin genotipinde T grubuna göre artarken Mardin genotipinde azalmıştır. H_2O_2 +cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde, H_2O_2 +cPTIO uygulamasına göre K^+ miktarında görülen azalmanın Artvin genotipinde anlamlı olmadığı, Mardin genotipinde ise anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

NO donörü SNP ile birlikte H_2O_2 sentez inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı SNP+DPI uygulaması yapılan bitkiler, T grubuna göre K^+ miktarı, her iki genotipte de azalmıştır. SNP+DPI+tuz uygulaması yapılan bitkilerde, SNP+DPI uygulamasına göre, K^+ miktarı Artvin genotipinde artarken, Mardin genotipinde azalmıştır.

H_2O_2 +SNP uygulaması, her iki genotipte de K^+ miktarının en yüksek olduğu uygulama grubudur. Donörlerin her ikisinin kullanıldığı bu uygulama grubunda, her iki genotipte de tekli uygulamadan daha yüksek bir K^+ miktarı bulunmuştur.

H₂O₂ inhibitörü DPI ve NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı cPTIO+DPI uygulaması yapılan bitkilerde, oldukça düşük bir K⁺ miktarı görülmüştür. Bu azalmanın cPTIO'dan ziyade DPI'dan kaynaklandığı düşünülmektedir.

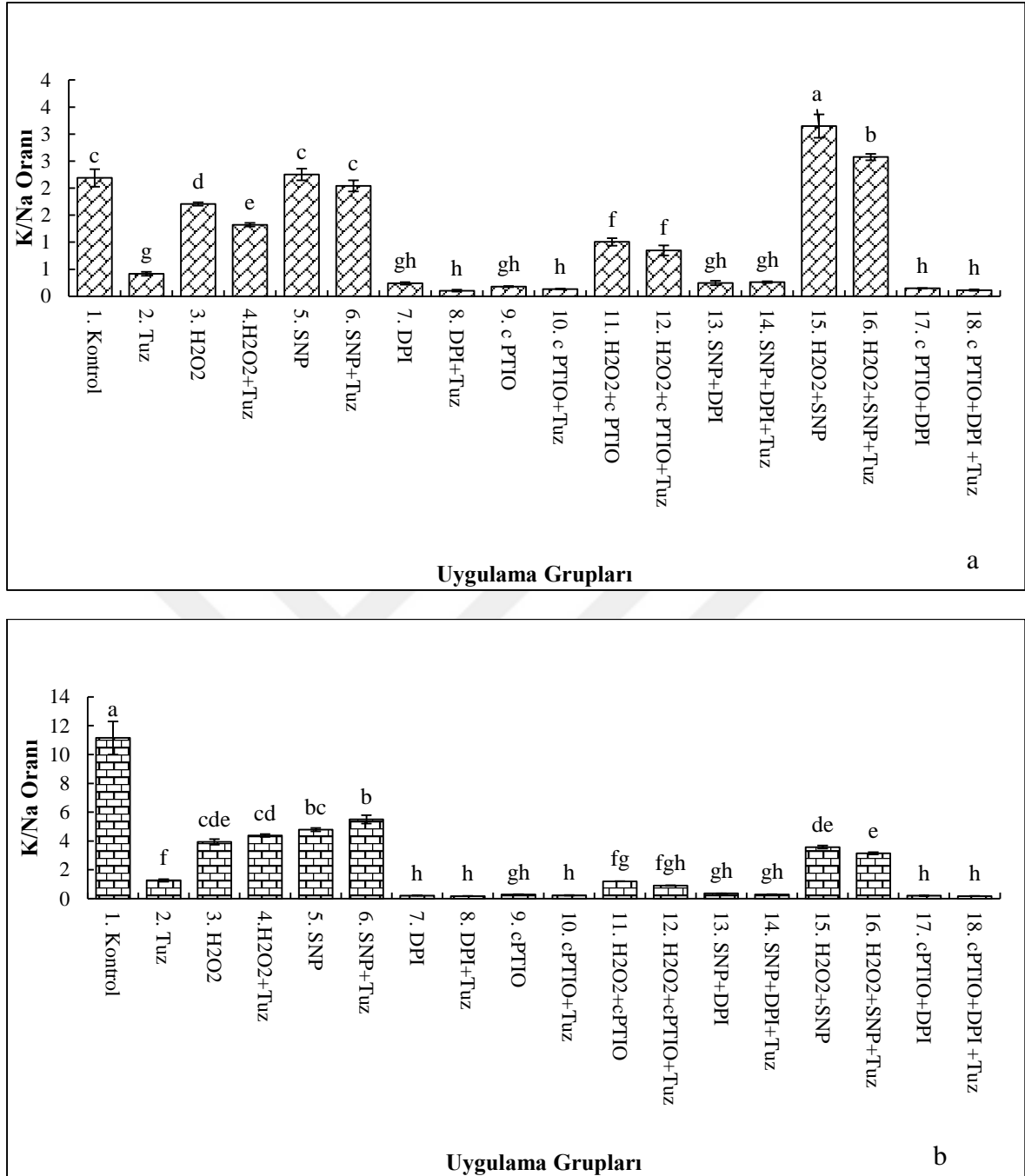
Sonuç olarak, tuz uygulaması, her iki genotipte de K⁺ miktarını azaltmıştır. Tuz uygulamasına göre, her iki genotipte de H₂O₂ ve/veya NO uygulaması Na⁺ miktarını azaltırken, K⁺ miktarını artırmıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulaması veya NO süpürücüsü cPTIO uygulamasında Na⁺ miktarını artırırken, K⁺ miktarını azaltmıştır. H₂O₂ ve NO'nin birlikte uygulanması durumunda en yüksek K⁺ ve en düşük Na⁺ miktarlarına ulaşılmıştır. En yüksek Na⁺ ve en düşük K⁺ miktarlarına inhibitörler ve tuzun birlikte uygulandığı cPTIO+DPI+tuz grubunda rastlanmıştır.

5.7.3. K/Na oranındaki değişimler

Uygulamaların Artvin ve Mardin genotiplerinin K/Na oranı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler Şekil 5.14'de verilmiştir. K/Na oranı bakımından uygulamalara karşı gösterilen tepkide, genotipler arasındaki fark (t=-1,668), p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 5.1, Çizelge 5.1).

Artvin genotipinde K/Na oranı en yüksek H₂O₂ uygulamasında görülürken, en düşük cPTIO+DPI uygulamasında görülmüştür. Mardin genotipinde ise en yüksek K/Na oranı kontrol grubunda bulunurken, en düşük K/Na oranı cPTIO+DPI uygulanan grupta tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, en yüksek K/Na oranı, donörlerin birlikte uygulandığı grupta elde edilirken en düşük K/Na oranı, cPTIO+DPI+tuz uygulama grubunda elde edilmiştir.



Şekil 5.14. Artvin (a), Mardin (b) genotipinde K/Na oranının değişimi



6. TARTIŞMA

Tuzluluk, fotosentez, protein sentezi ve enerji metabolizmasını bozarak bitki büyüme ve gelişmesini baskılamaktadır. Bu nedenle tuzluluk ürün verimliliğini kısıtlayan en önemli çevresel faktörlerden biridir (Parida, Das ve Mohanty, 2004). Çevresel stres faktörlerinden biri olan tuz stresi, ozmotik strese, iyon toksisitesine, beslenme bozukluklarına, oksidatif strese, metabolik süreçlerin değişmesine, membran düzensizliğine, hücre bölünmesinin azaltılmasına ve genotoksositeye neden olmaktadır (Zhu, 2004; Munns, James ve Läuchli, 2006).

Çalışmamızda sadece H₂O₂ veya NO uygulaması yapılan gruplarda yaprak taze ağırlığının Kontrol (K) ve Tuz (T) uygulamalarına göre arttığı, H₂O₂ ve NO inhibitörlerinin birlikte uygulandığı gruplarda azaldığı, donör ve inhibitörlerin farklı kombinasyonlarla birlikte uygulandığı gruplarda ise inhibitörlerin tek başına uygulandığı gruplardan daha yüksek bir değere ulaştığı belirlenmiştir. H₂O₂ ve NO'in birlikte uygulandığı gruplarda ise yaprak taze ağırlığı K, T ve bu maddelerin sadece birinin uygulandığı gruplara göre artmıştır. Yaprak taze ağırlığı bakımından genotipler arasındaki farklılık anlamlı bulunmamıştır. (Şekil 5.1). Sonuçlarımıza benzer olarak, dıştan uygulanan NO'in tuz stresine maruz kalan buğdayda yaş ağırlığı (Kausar, Shahbaz ve Ashraf, 2013) ve hardal bitkisinde tuz stresıyla birlikte azalan yaprak alanını genişlettiği bildirilmiştir (Fatma ve Khan, 2014).

Bitkilerde yüksek tuz konsantrasyonunda, klorofil miktarının azaldığı belirtilmiştir (Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; Furtana Baysal ve Tıprıdamaz, 2010; Kuşvuran, Yaşar, Abak ve Ellialtıoğlu, 2008). Çalışmamızda da NaCl stresine maruz bırakılan *Solanum melongena* L'nin Artvin ve Mardin genotiplerinde de klorofil a, klorofil b, klorofil a+b ve karotenoid miktarlarının azaldığı görülmüştür. H₂O₂ uygulaması, pigment miktarlarını hem Artvin hem de Mardin genotipinde T grubuna göre artırmıştır. Yani bitkiye dışarıdan uygulanan H₂O₂, bitkide olumlu bir etki oluşturmuş ve bu durum, doğrudan klorofil ve karotenoid miktarına yansımıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü, DPI ile birlikte tuz uygulaması yapılan gruplarda, klorofil miktarında meydana gelen azalma, H₂O₂+tuz uygulamasında elde ettiğimiz artışların bu maddenin (H₂O₂) klorofil miktarı üzerindeki olumlu etkisini göstermektedir. Benzer olarak, tuz stresi altında yetiştirilen mısır bitkisinde, yapraktan püskürtme yoluyla uygulanan H₂O₂'in, klorofil miktarını artırdığı belirlenmiştir. Bu artışın fotosentezin daha yüksek verimlilikte devam etmesini ve pozitif büyümeyi sağladığı

bildirilmiştir (Chen ve Li, 2002). Çalışmamızda NO donörü SNP uygulamasının klorofil miktarlarına, incelenen her iki genotipte de önemli bir etkisi görülmemiştir. Dolayısıyla SNP'nin katıldığı kombine uygulamalarda da benzer sonuç elde edilmiştir. SNP uygulaması yalnızca Artvin genotipinde klorofil a+b miktarı üzerinde olumlu bir etkide bulunmuştur, inhibitör uygulanması ile birlikte bu etkinin ortadan kalktığı belirlenmiştir. Daha koyu yeşil yapraklara sahip Mardin genotipinin kontrol bitkilerinin pigment miktarları, Artvin genotipinin kontrol grubuna göre daha yüksek bir değerdedir.

Tuzluluktan kaynaklanan iyon toksisitesi ve ozmotik stres, bitki fotosistemini engelleyerek aşırı miktarda ROS üretimine yol açmaktadır (Hasanuzzaman ve diğerleri, 2017). Hücre içinde artan ROS miktarının lipid peroksidasyonuna neden olarak MDA (Malondialdehit) miktarını artırdığı bilinmektedir (Mishra ve Choudhuri, 1999). Çalışmamızda, her iki patlıcan genotipinde de tuz uygulaması, K grubu ile karşılaştırıldığında MDA miktarında artışa neden olmuştur (Şekil 5.2). Tuza duyarlı Artvin genotipinde tuzun olumsuz etkisiyle birlikte membran lipitlerinin daha fazla zarar gördüğü ve MDA miktarının daha yüksek olduğu bir kez daha ortaya konmuştur. Yalnızca H₂O₂ uygulaması yapılan bitkilerde MDA miktarı her iki genotipte de kontrol grubuna göre artış gösterirken, yalnızca tuz uygulaması ile karşılaştırıldığında ise MDA miktarının daha düşük olduğu görülmüştür. H₂O₂'in tuz stresinin olumsuz etkisini azaltma yönündeki olumlu etkisi, Artvin genotipinde daha belirgin olarak gözlenmiştir. H₂O₂ dayanıklı Mardin genotipinde de bir koruyucu etki yapmakla birlikte, bu etki Artvin genotipindeki kadar belirgin olmamıştır. Yalnızca DPI (H₂O₂ sentez inhibitörü) uygulaması yapılarak H₂O₂ sentezinin inhibe edildiği gruplarda, tuz stresi ile birlikte MDA miktarındaki artış, yalnızca tuz uygulanan grup ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek çıkmıştır. Bu da hücre içindeki mevcut H₂O₂'in koruyucu rolünü doğrular niteliktedir. Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, dıştan uygulanan H₂O₂'in, maş fasülyesi (Saleh, 2007), buğday (Li ve diğerleri, 2008), *Panax ginseng* (Sathiyaraj ve diğerleri, 2014), arpa (Li, Qiu, Zhang ve Wang, 2011) ve mısırdaki (Chen ve Li, 2002) stres ile artan elektrolit sızıntısını azaltma yoluyla MDA miktarındaki artışı engellediği bildirilmiştir. Salatalık (Hasanuzzaman ve diğerleri, 2017), soya fasülyesi (Güler ve Pehlivan, 2016) ve kanolada (Gao ve diğerleri, 2010) ise H₂O₂ uygulaması MDA miktarında herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır.

Dıştan uygulanan NO donörü SNP, her iki genotipte de içsel MDA miktarını azaltmış ve bu azalma Artvin genotipinde daha belirgin bulunmuştur. NO süpürücüsü cPTIO ile birlikte tuz

uygulanan gruplar ile yalnızca tuz uygulanan grup karşılaştırıldığında her iki genotipte de MDA miktarındaki artış önemli bulunmakla birlikte Mardin genotipindeki artışın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Böylece cPTIO uygulamasının, NO'nin olumlu etkilerini inhibe ederek, tuzluluk toleransını azalttığı sonucuna varılabilir. Benzer olarak, NO'nin, lipid peroksidasyonundan kaynaklanan membran hasarına karşı koruyucu bir görev üstlendiğini kanıtlayan çeşitli çalışmalar mevcuttur (Kopyra ve Gwózdź, 2003; Shi, Fei, Xiufeng ve Min, 2007; Sheokand, Kumari ve Sawhney, 2008; López-Carrión, Castellano, Rosales, Ruiz ve Romero, 2008). Bundan başka, Huaifu, Shirong, Yansheng, Runhua ve Juan (2007) da NO'nun, elektrolit sızıntısını önleme yoluyla membran geçirgenliğini ve MDA miktarını azalttığını ve hücre zarındaki hasarı önlemeye çalıştığını savunmuşlardır.

Çalışmamızda, içsel NO miktarının, NO süpürücüsü cPTIO ile minimuma indirilerek, sadece dıştan uygulanan H_2O_2 'nin etkisini belirlemenin amaçlandığı H_2O_2 +cPTIO uygulama grubunda, MDA miktarı, sadece cPTIO uygulaması yapılan bitkilerdeki kadar yüksek bulunmamıştır. MDA miktarı bakımından genotipler arası farklılık önemli olup, Mardin genotipinde azalma daha belirgin bulunmuştur. Böylece, cPTIO ile birlikte uygulanan H_2O_2 'in, içsel MDA miktarını azaltmayı başardığı sonucuna varılabilir. NO donörü SNP ile birlikte H_2O_2 sentez inhibitörü DPI'nın verildiği SNP+DPI uygulama grubunda ise, her iki genotipte de MDA miktarı sadece DPI uygulanan bitkilere göre daha az bulunmakla birlikte bu azalma anlamlı değildir. Bir inhibitör ve bir donörün beraber uygulandığı bitkilerde içsel MDA miktarı inhibitörlerin tek uygulandığı gruplara göre daha az bulunmuştur. Bu bitkilerin (bir inhibitör+bir donör), her iki donörün de beraber uygulandığı H_2O_2 +SNP uygulaması ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir MDA miktarına sahip oldukları görülmüştür. H_2O_2 ve NO'nin birlikte uygulandığı bitkilerde ise, MDA miktarlarının kontrol grubuna yakın bir değerde kaldığı görülmüştür. MDA miktarının her iki inhibitörün de kullanıldığı, cPTIO+DPI uygulaması yapılan bitkilerde ise tüm uygulama grupları içerisinde en yüksek değere ulaştığı tespit edilmiştir. H_2O_2 +SNP+tuz uygulama grubuna ait sonuçlar değerlendirildiğinde ise, H_2O_2 +SNP'nin T grubunda meydana gelen ani MDA artışlarını kontrol altına alarak, hücrelerde meydana gelen lipid peroksidasyonunu azaltma yönünde hareket ettiği söylenebilir. Sonuçlarımıza benzer olarak, pirinç (Uchida, Jagendorf, Hibino ve Takabe, 2002) ve turunçta (Tanou, Molassiotis ve Diamantidis, 2009a), dıştan uygulanan H_2O_2 +SNP'nin MDA miktarını azalttığı ve bunu da antioksidan enzim aktivitesini uyararak hücredeki ROS miktarını azaltarak sağladığı bildirilmiştir.

Toprak tuzluluğu gibi çeşitli çevresel stresler, bitki hücrelerinde H₂O₂ miktarında geçici bir artışa yol açmaktadır. İyonik ve ozmotik strese ek olarak, tuz stresi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikmesine neden olarak, makromoleküllerde oksidatif hasara yol açarak büyümenin gecikmesine ve hatta bitki ölümüne neden olmaktadır. ROS'lar arasında yer alan H₂O₂, stres ile birlikte hücrede artış gösteren bir bileşik olup, son yıllarda stres sinyal iletim yollarının merkezi bir modülatörü konumuna gelmiştir. H₂O₂ bitkilerde çeşitli abiyotik ve biyotik streslere karşı direnci güçlendiren çoklu savunma yanıtlarını tetikleyen bir sinyal molekülüdür. Tuz stresinin bitkilerde içsel H₂O₂ miktarını artırdığı bilinmektedir (Neill, Desikan, Clarke, Hurst ve Hancock, 2002; Yaşar, 2003). Çalışmamızda, 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre içsel H₂O₂ miktarı, her iki genotipte de anlamlı bir şekilde artmıştır. Bu da bize bitkilerin oksidatif strese girdiğini göstermektedir. Yalnızca H₂O₂'in uygulandığı grupta, içsel H₂O₂ miktarının her iki genotipte de önemli şekilde azaldığı tespit edilmiştir. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI ile birlikte tuz uygulanan gruplarda, içsel H₂O₂ miktarı T uygulama grubu ile karşılaştırıldığında her iki genotipte de azalma görülmekle birlikte, bu azalma Artvin genotipinde daha belirgindir. Sonuçlarımıza benzer şekilde Fedina, Nedeva ve Çiçek (2009), H₂O₂ ön uygulamasını takiben 7 gün boyunca 150 mM NaCl'ye maruz bıraktığı *Hordeum vulgare* fidelerinde yalnızca tuz uygulaması yapılan grup ile karşılaştırıldığında içsel H₂O₂ miktarının azaldığını bildirmişlerdir.

Yalnızca NO donörü SNP'nin uygulandığı grupta H₂O₂ miktarının, her iki genotipte de T grubuna göre azaldığı, bu uygulama grubu için elde edilen değerler, K grubundan az olmakla birlikte T grubundan fazla olduğu belirlenmiştir. SNP+Tuz uygulama grubunda ise, H₂O₂ miktarının her iki genotipte de yalnızca SNP uygulaması ile karşılaştırıldığında arttığı, yalnızca tuz uygulanan grup ile karşılaştırıldığında ise azaldığı görülmektedir. Uygulamaya ait sonuçlar incelendiğinde NO donörü SNP uygulamasının dayanıklı Mardin genotipinde, içsel H₂O₂ miktarının azaltılmasında önemli bir rolü olduğu sonucuna varabiliriz, bu hipotez, cPTIO uygulaması ile de desteklenmektedir. Çünkü, NO süpürücüsü cPTIO uygulama grubunda H₂O₂ miktarı T grubuna göre Artvin genotipinde azalırken, Mardin genotipinde oldukça yüksek ve anlamlı bir şekilde artmıştır. cPTIO+tuz uygulama grubunda cPTIO uygulama grubuna göre H₂O₂ miktarları, her iki genotipte de az çok değişmeyerek aynı kalmıştır. Benzer sonuçlar, yalnızca cPTIO'nun tek başına uygulandığı gruplarda değil, cPTIO'nun diğer donör ve inhibitörler ile birlikte uygulandığı gruplarda da oldukça net bir şekilde görülmüştür. Tuz uygulaması ile karşılaştırıldığında H₂O₂+cPTIO uygulaması,

Artvin genotipinde H_2O_2 miktarını yarı yarıya azaltırken Mardin genotipinde 2 kat artırmıştır. SNP+DPI uygulama grubunda H_2O_2 miktarı yalnızca tuz uygulama grubuna göre Artvin genotipinde %50, Mardin genotipinde ise %46 oranında azalmıştır.

H_2O_2 +SNP uygulama grubunda H_2O_2 miktarı, her iki genotipte de yalnızca tuz grubuna göre azalmıştır. H_2O_2 +SNP+Tuz uygulama grubunda ise H_2O_2 miktarı Artvin genotipinde azalırken, Mardin genotipinde artış göstermiştir. H_2O_2 sentez inhibitörü ve NO süpürücüsü cPTIO+DPI uygulama grubunda H_2O_2 miktarı Artvin genotipinde T grubuna göre önemli bir şekilde artarken, Mardin genotipinde ise azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulama grubunda H_2O_2 miktarı Artvin genotipinde azalırken, Mardin genotipinde tüm uygulama grupları içerisindeki en yüksek değerine ulaşmıştır. Yapılan diğer bir çalışmada, yüksek sıcaklık stresi altında yetiştirilen *Arabidopsis thaliana* bitkisine dıştan uygulanan H_2O_2 'in içsel H_2O_2 miktarını yükseltmediği, hatta NO donörü SNP'nin uygulamasının içsel H_2O_2 miktarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Wu, Hongye, Lixiu, Kunming ve Liquin, 2015). Bu sonuç, bizim çalışmamızda olduğu gibi yine dışarıdan uygulanan NO süpürücüsü cPTIO uygulaması ile doğrulanmıştır, çünkü bu uygulama içsel H_2O_2 miktarında artışa yol açmıştır.

Tuzluluğun neden olduğu hücrel ROS miktarlarındaki artış, bitki büyümesi ve gelişimini olumsuz etkileyerek, bitkiyi ölüme kadar götürebilmektedir. Yüksek oranda reaktif olan ROS'lar, lipit, protein, DNA ve diğer bazı metabolitlerde önemli hasara neden olmaktadır (Ashraf, 2009). Tuzluluktan kaynaklanan oksidatif hasarın giderilmesi, antioksidan enzim (CAT, SOD, APX, GR) sentezinin teşvik edilmesi ile gerçekleşmektedir (Miller, Suzuki, Ciftci Yılmaz ve Mittler, 2010). Çalışmamızda tuz stresi, her iki genotipte de SOD ve CAT aktivitelerini anlamlı bir şekilde artırmıştır. SOD enzimi, birincil aktivitesi O_2^- reaktifinin H_2O_2 ve O_2 'ye değişmesine yol açan güçlü bir antioksidan enzimdir (Fridovich, 1995). Çalışmamızda, 100 mM NaCl uygulaması yapılan bitkilerde SOD enzim aktivitesi, duyarlı Artvin genotipinde anlamlı bir artış göstermezken, dayanıklı Mardin genotipinde anlamlı bir şekilde artmıştır. Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, NO'in ya prooksidan ya da antioksidan görevi üstelenerek CAT ve SOD aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Kopyra ve Gwózdź, 2003).

H_2O_2 uygulaması yapılan bitkilerde SOD aktivitesi her iki genotipte de K ve T grubuna göre artmıştır. H_2O_2 +tuz uygulama grubu, tek başına H_2O_2 uygulanmış grup ile karşılaştırıldığında, SOD aktivitesinin Artvin genotipinde artarken Mardin genotipinde

azaldığı, ancak bu artış ve azalmaların önemli olmadığı görülmüştür. H₂O₂ sentez inhibitörü, DPI uygulaması yapılan bitkilerde, SOD aktivitesi her iki genotipte de T grubuna göre önemli bir azalma gösterirken, DPI+tuz uygulama grubunda ise SOD aktivitesinin Artvin genotipinde anlamlı, Mardin genotipinde anlamlı olmayan bir şekilde arttığı görülmektedir.

NO donörü SNP uygulaması yapılan bitkilerde SOD aktivitesi Artvin genotipinde, K ve T gruplarına göre artarken, Mardin genotipinde K grubuna göre artmış, T grubuna göre ise azalmıştır. NO süpürücüsü cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde her iki genotipte de cPTIO ve cPTIO+tuz uygulaması yapılan bitkilerde, her iki genotipte de SOD aktivitesinde azalma görülmektedir. NO, stres toleransında hücrel antioksidan sistemin uyarılması yoluyla ROS metabolizmasını düzenleyen bir molekül olarak düşünülmektedir. Sonuçlarımıza benzer şekilde, dıştan uygulanan NO donörü SNP'in CAT ve SOD aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Fan, Guo, Jiao, Zhang ve Li, 2007).

H₂O₂ ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H₂O₂+cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde SOD aktivitesi, Artvin genotipinde, T grubuna göre azalırken, Mardin genotipinde artmıştır. H₂O₂+cPTIO+tuz uygulaması yapılan her iki genotipte de SOD aktivitesi H₂O₂+cPTIO uygulaması yapılan bitkilere göre artmıştır. NO donörü SNP ile birlikte H₂O₂ sentez inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı, SNP+DPI uygulamasında SOD aktivitesi Artvin genotipinde T grubuna göre artmış, Mardin genotipinde ise azalmıştır. SNP+DPI+tuz uygulama grubunda SOD aktivitesi SNP+DPI uygulama grubuna göre Artvin genotipinde azalmış, Mardin genotipinde artmıştır. H₂O₂+SNP uygulama grubunda SOD enzim aktivitesi her iki genotipte de artmış, bu artışlar Tuz grubu ile kıyaslandığında, Artvin genotipinde 1,4, Mardin genotipinde ise 1,3 kat olarak belirlenmiştir. H₂O₂+SNP+tuz uygulaması yapılan grupta SOD enzim aktivitesi Artvin genotipinde aynı kalırken, Mardin genotipinde önemli şekilde artmıştır. cPTIO+DPI uygulama grubunda SOD aktivitesi, her iki genotipte de T grubuna göre azalmıştır. cPTIO+DPI+tuz uygulama grubu incelendiğinde, cPTIO+DPI uygulaması yapılan grup ile karşılaştırıldığında her iki genotipte de SOD aktivitesindeki azalma devam etmiştir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda, CAT aktivitesinin, tuz stresi koşullarında yetiştirilen bitkilerde ya arttığı (Furtana Baysal ve Tıprıdamaz, 2010), ya değişmediği (Nohar ve diğerleri, 2015) ya da azaldığı (Hasanuzzaman ve Fujita, 2012) bildirilmiştir. Çalışmamızda tek başına H₂O₂ uygulaması yapılan bitkilerde CAT aktivitesinin T grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Bu artış, Mardin genotipinde daha yüksek ve anlamlı bulunmuştur. Çalışmamıza benzer şekilde,

yapraktan uygulanan H_2O_2 'in, mısır ve tütünde CAT aktivitesini artırdığı, de Azevedo Neto, Prisco, Ene'as-Filho, Medeiros ve Gomes-Filho (2005) ve Gechev ve diğerleri (2002) tarafından bildirilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada, H_2O_2 uygulanan mısır bitkilerinde CAT enzim aktivitesindeki artışın, CAT gen düzenlenmesini de içine alan karmaşık bir mekanizma ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Gondim, Gomes-Filho ve Costa, 2012). Ayrıca H_2O_2 'i süpüren diğer enzimlerden farklı olarak, CAT'ın, H_2O_2 'e olan affinitesinin (ilgisi) daha fazla olduğu Mhamdi ve diğerleri (2010) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar, H_2O_2 uygulanan bitkilerde CAT transkriptlerinin arttığı bildirilmektedir (Gondim, Gomes-Filho ve Costa, 2012; Mhamdi ve diğerleri, 2010).

H_2O_2 sentez inhibitörü, DPI uygulaması yapılan bitkilerde, CAT aktivitesi her iki genotipte de T grubuna göre önemli bir azalma gösterirken; DPI+tuz uygulama grubunda CAT aktivitesi artmaktadır. NO donörü SNP uygulaması yapılan bitkilerde CAT aktivitesi K ve T gruplarına göre artış gösterirken, NO inhibitörü cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde her iki genotipte de CAT aktivitesi azalmaktadır. Bu sonuçlar CAT aktivitesindeki artışın NO'den kaynaklanabileceği hipotezimizi destekler niteliktedir. H_2O_2 ile birlikte NO süpürücüsü cPTIO'nun beraber uygulandığı H_2O_2 +cPTIO uygulaması yapılan bitkilerde CAT aktivitesi, Artvin genotipinde, T grubuna göre %50 oranında azalmış, Mardin genotipinde ise önemli olmayan bir artış göstermiştir. H_2O_2 +cPTIO+tuz uygulaması yapılan Artvin genotipinde CAT aktivitesi H_2O_2 +cPTIO uygulaması yapılan bitkilere oranla azalmış, Mardin genotipinde ise yine önemsiz bir artış gerçekleşmiştir. NO donörü SNP ile birlikte H_2O_2 sentez inhibitörü DPI'nın beraber uygulandığı, SNP+DPI uygulamasında, CAT aktivitesi Artvin genotipinde T grubuna göre azalırken, Mardin genotipinde ise yaklaşık 2 katlık bir artış gerçekleşmiştir. SNP+DPI+tuz uygulama grubunda her iki genotipte de CAT aktivitesi SNP+DPI uygulamasına göre artmıştır.

H_2O_2 +SNP uygulaması yapılan bitkilerde CAT aktivitesi her iki genotipte de tüm gruplar içinde en yüksek değere ulaşmıştır. H_2O_2 +SNP+tuz uygulama grubunda ise CAT aktivitesinde her iki genotipte de H_2O_2 +SNP grubuna göre azalmalar görülmüştür. cPTIO+DPI uygulama grubunda CAT aktivitesi, T uygulama grubu ile karşılaştırıldığında her iki genotipte de azalmıştır. Tuz ile birlikte H_2O_2 ve SNP'nin bitkiye tek tek uygulandığı durumlarda, CAT aktivitesini artırmakla birlikte, en yüksek CAT aktivitesinin H_2O_2 +NO+tuzun birlikte uygulandığı gruplarda görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda H_2O_2 ve NO ön uygulaması yapılan bitkilerde, antioksidan enzim aktivitesindeki artışların, H_2O_2 ve NO'nun bu enzimleri kodlayan genlerin ifadesini artırması yoluyla olduğu gösterilmiştir (Beligni ve Lamattina, 2001; Neill, Desikan, Clarke, Hurst ve Hanckok, 2002; de Pinto, Paradiso, Leonetti ve Gara, 2006; Zhang ve diğerleri, 2007).

Prolin, tuz stresi altında bitki hücrelerinde biriktirilen, denge oluşturan uygun ozmotik bir amino asit olup, ozmoregülasyona katkı sağlamaktadır (Tripathi, Rabara ve Rushton, 2014). Çalışmamızda prolin miktarı, her iki genotipte 100 mM NaCl uygulaması yapılan T grubunda, K grubuna göre artış göstermiştir. Dıştan H_2O_2 uygulamasının, duyarlı Artvin genotipinde prolin miktarını, K grubuna göre artırdığı, T grubuna göre ise önemli şekilde azalttığı bulunmuştur. Dıştan uygulanan H_2O_2 , Artvin genotipinin içsel prolin miktarında daha yüksek ve anlamlı değişimlere yol açmıştır. H_2O_2 sentez inhibitörü DPI uygulanan grupta prolin miktarı her iki genotipte de T grubuna göre oldukça azalmıştır. H_2O_2 uygulaması ile artan prolin miktarının, DPI uygulaması ile azalması, bu değişimin dıştan uygulanan H_2O_2 ile gerçekleştiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamıza benzer şekilde, Mısır bitkisinde dıştan uygulanan H_2O_2 'in prolin miktarını artırırken, dıştan uygulanan H_2O_2 sentez inhibitörü DPI'nın da prolin miktarını azalttığı bildirilmiştir (Zhu, 2004). Bu azalmanın prolin biyosentezinde rol oynayan temel enzim olan Prolin-5-karboksilat sentetazın ifadesindeki azalmadan kaynaklandığı vurgulanmıştır Bir diğer çalışmada *Arabidopsis* bitkisinde artan H_2O_2 'in ABA ile uyarılan gen ifadesini artırdığını, böylece prolin birikimine yol açtığını göstermiş ve H_2O_2 'in prolin biyosentezinde sinyal molekülü olarak rol oynadığını belirtmişlerdir (Cingoz, Verma ve Gurel, 2014).

Çalışmamızda NO donörü SNP uygulanan grupta prolin miktarı, her iki genotipte de K grubuna göre artarken, T grubuna göre azalmıştır. Bu değişimler duyarlı Artvin genotipinde daha anlamlı ve yüksek bulunmuştur. NO süpürücüsü cPTIO uygulaması tek başına veya diğer donör/inhibitör ile birlikte uygulandığında prolin miktarını azaltmıştır. H_2O_2 +cPTIO uygulama grubunda prolin miktarı her iki genotipte de T grubuna göre azalma göstermekle birlikte, bu azalma H_2O_2 +cPTIO+tuz uygulamasında yerini artışa bırakmıştır. Dıştan uygulanan, NO süpürücüsü cPTIO'nun domates fidelerinde de prolin miktarını azalttığı bildirilmiştir (Siddiqui ve diğerleri, 2017)

SNP+DPI uygulama grubunda prolin miktarı, T grubuna göre her iki genotipte de azalmıştır. Çalışmamızda donör ve inihibitör uygulamalarının tek başına veya birlikte uygulanması sonucu elde edilen veriler incelendiğinde, tüm uygulama grupları içerisinde SNP uygulamasının prolin

miktarına en fazla artırıcı yönde etkiyi yaptığı, bu etkinin de duyarlı Artvin genotipinde daha belirgin olduğu görülmektedir. Bu bulgu, NO süpürücüsü cPTIO uygulaması ile birlikte prolin miktarında meydana gelen düşüşler de SNP'nin prolin birikimi üzerine olan etkisini ispatlar niteliktedir.

H₂O₂+SNP+tuz uygulama grubunda prolin miktarı her iki genotipte de artış göstermiştir. Bu sonuç, H₂O₂+SNP uygulamasının, bitkilerde stresle başa çıkmada önemli bir basamak olan prolin birikimini uyardığı şeklinde yorumlanabilir. cPTIO+DPI+tuz uygulama grubu ise her iki genotipte de görülen prolin miktarındaki azalmayı da desteklemektedir. Pirinç bitkisinde yapılan bir çalışmada, H₂O₂ ve NO ön uygulamasının, d-prolin-5 karboksilat sentaz ifadesini artırarak prolin biyosentezini teşvik ettiği sonucuna ulaşılmıştır (Uchida, Jagendorf, Hibino ve Takabe, 2002).

Tuzluluğun bitkilerde hücrel Na⁺ miktarını artırdığı bilinmektedir (Munns ve Tester, 2008). Çalışmamızda da Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, 100 mM NaCl uygulamasının, her iki genotipte de içsel Na⁺ miktarını artırdığı, bu artışın da duyarlı Artvin genotipinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tuz uygulaması, her iki genotipte de K⁺ miktarını azaltmıştır. Tuz uygulamasına göre, her iki genotipte de H₂O₂ ve/veya NO uygulaması Na⁺ miktarını azaltırken, K⁺ miktarını artırmıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulaması veya NO süpürücüsü cPTIO uygulaması, Na⁺ miktarını artırırken K⁺ miktarını azaltmıştır. H₂O₂ ve NO'nin birlikte uygulanması durumunda en yüksek K⁺ ve en düşük Na⁺ miktarlarına ulaşılmıştır. En yüksek Na⁺, en düşük K⁺ miktarlarına inhibitörler ve tuzun birlikte uygulandığı cPTIO+DPI+tuz grubunda rastlanmıştır. Dıştan uygulanan H₂O₂'in, hücre zarı Na⁺/H⁺ antiportunu *SOS1* (Salt Overly Sensitive 1) mRNA'sını düzenleyerek Na⁺ iyonunun hücre dışına atılmasını sağladığı ve hücre içindeki Na⁺ toksisitesini engellediği bildirilmiştir (Chung ve diğerleri, 2008).

K⁺/Na⁺ oranı, tuz toleransının belirlenmesinde bir indikatör olarak kullanılmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2007). Çalışmamızda Artvin genotipinde en yüksek K⁺/Na⁺ oranı tek başına H₂O₂ uygulamasında görülürken, en düşük K⁺/Na⁺ oranı ise cPTIO+DPI uygulamasında görülmüştür. Mardin genotipinde ise K⁺/Na⁺ oranı en yüksek grup kontrol grubu iken, en düşük K⁺/Na⁺ oranı cPTIO+DPI uygulamasında bulunmuştur. Zhang, Yang ve He'nin (2004) *Populus euphratica* kalluslarına dıştan H₂O₂ ve NO uygulayarak tuz stresine maruz bıraktıkları çalışmalarında dıştan uygulanan NO'nin, PM NADPH oksidaz aktivitesini artırarak H₂O₂ oluşumunu uyardığı ve H₂O₂ üretiminin transmembran elektrokimyasal gradiyent oluşumuna yol açarak hücrede K⁺/Na⁺

oranının artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle, araştırmacılar PM H⁺-ATPaz aktivitesinin artmasının muhtemelen PM NADPH oksidazın düzenlenmesi yoluyla NO tarafından teşvik edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızın ve diğer araştırmaların sonuçları, dışarıdan uygulanan H₂O₂ ve NO'nun bitkide iyon homeostazisini sağladığını ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak,

Bu çalışmada patlıcan (*Solanum melongena* L.) (duyarlı: Artvin, dayanıklı: Mardin) genotiplerinde yapraktan H₂O₂ ve NO donörleri (H₂O₂, SNP) ile inhibitörlerinin (DPI, cPTIO), ön uygulamalarının sonrasında 100 mM NaCl'e maruz bırakılan bitkilerde iyon dengesi, lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim aktivitesi ve etkileşimleri ile H₂O₂ ve NO ön uygulamalarının oksidatif mekanizma üzerine olası katılımı ve tuz stresinin olumsuz etkilerini iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Elde edilen veriler aşağıdaki gibi özetlenebilir.

- Tek başına H₂O₂ veya NO uygulaması yaprak taze ağırlığını K ve T uygulamalarına göre artırmış, H₂O₂ ve NO inhibitörlerinin birlikte uygulanması azaltmıştır. Donör ve inhibitörlerin birlikte uygulanması ise inhibitörlerin tek başına uygulanmasına göre yaprak taze ağırlığını daha fazla artırmıştır. H₂O₂ ve NO'nun birlikte uygulandığı gruplarda ise yaprak taze ağırlığı K, T ve bu maddelerin sadece birinin uygulandığı gruplara göre artmıştır.
- Her iki patlıcan genotipinde de T uygulaması, K grubuna göre MDA miktarını artırmıştır. T uygulamasına göre H₂O₂ ve NO donörü SNP tek tek ya da birlikte uygulandığında MDA miktarını azaltırken, DPI ve cPTIO inhibitörleri de tek ya da birlikte uygulandığında MDA miktarını artırmıştır. Bu azalma ve artış şeklindeki değişimler tuza duyarlı Artvin genotipinde Mardin genotipine göre daha fazla olmuştur. Özellikle H₂O₂ ve NO'nun birlikte uygulandığı grupta MDA miktarının her iki genotipte de kontrol grubuna yakın değerde kaldığı görülürken, her iki inhibitörün birlikte kullanıldığı cPTIO+DPI uygulamasında ise MDA miktarının tüm uygulama grupları içerisinde en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir. Diğer yandan H₂O₂+SNP+tuz uygulaması, yalnızca T uygulandığında ortaya çıkan MDA artışını azaltmıştır.
- Tuz uygulaması ile azalan klorofil ve karotenoid miktarları, H₂O₂ uygulaması ile hem Artvin hem de Mardin genotipinde artmıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI klorofil pigment miktarlarını azaltmıştır.
- H₂O₂+SNP (NO donörü) uygulaması T grubuna göre içsel H₂O₂ miktarını azaltmıştır. NO ve H₂O₂ inhibitörleri cPTIO+DPI uygulaması, T grubuna göre H₂O₂ miktarı Artvin genotipinde artırmış, Mardin genotipinde ise azaltmıştır.

- Tuz uygulamasına göre CAT ve SOD antioksidan enzim aktiviteleri H₂O₂ ve NO donörü SNP'nin tek tek veya birlikte uygulanması ile artmıştır. H₂O₂ ve SNP'nin birlikte uygulanmasının daha etkili olduğu belirlenmiştir.
- Prolin miktarı her iki genotipte de tuz stresi ile artmıştır. H₂O₂ ve NO donörü SNP uygulaması, prolin miktarını her iki genotipte de K grubuna göre artırırken, T grubuna göre azaltmıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI ile NO süpürücüsü cPTIO, T grubuna göre prolin miktarını her iki genotipte de azaltmıştır. Çalışmamızda tuz uygulamasından sonraki en yüksek prolin miktarı, SNP uygulamasında görülmüştür. İki donörün birlikte uygulandığı H₂O₂+SNP grubunda, prolin miktarı her iki genotipte de artarken, iki inhibitörün birlikte uygulandığı cPTIO+DPI grubunda azalmıştır.
- Tuz uygulaması, her iki genotipte de Na⁺ miktarını artırırken K⁺ miktarını azaltmıştır. Tuz uygulamasına göre, her iki genotipte de H₂O₂ ve/veya NO uygulaması Na⁺ miktarını azaltırken, K⁺ miktarını artırmıştır. H₂O₂ sentez inhibitörü DPI uygulaması veya NO süpürücüsü cPTIO uygulamasında Na⁺ miktarı artarken K⁺ miktarı azalmıştır. H₂O₂ ve NO'nin birlikte uygulanması durumunda en yüksek K⁺, ve en düşük Na⁺ miktarlarına ulaşılmıştır. En yüksek Na⁺, en düşük K⁺ miktarlarına inhibitörler ve tuzun birlikte uygulandığı cPTIO+DPI+tuz grubunda rastlanmıştır.
- En yüksek K/Na oranı, donörlerin birlikte uygulandığı grupta elde edilirken en düşük K/Na oranı, cPTIO+DPI+tuz uygulama grubunda rastlanılmıştır.

Elde ettiğimiz veriler ışığında H₂O₂ ve NO'nin, tuz stresinin bitkide oluşturduğu olumsuz etkileri, lipid peroksidasyonunu azaltarak, iyon dengesini ve antioksidan enzim aktivitesini artırarak iyileştirebileceği sonucuna varılmıştır. Araştırmamızda hücrede mevcut bulunan ve ikincil haberci olarak görev aldığı bildirilen H₂O₂ ve NO'nin sinyal iletimindeki rolü ve birbirleriyle olan ilişkisi inhibitörleri de kullanılarak kanıtlanmıştır.

Konu ile ilgili yapılacak sonraki çalışmalarda, farklı bitki ve mutantlarda, H₂O₂ ve NO'nin Salisilik Asit (SA), Ca²⁺, ABA gibi diğer büyüme düzenleyiciler ile ilişkilerinin farklı uygulama doz, süre ve biçimiyle etkilerinin fizyolojik, proteomik ve genomik düzeyde incelenmesi, mekanizmanın aydınlatılması açısından faydalı olacaktır.



KAYNAKLAR

- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V. (Editors). (2012). *Abiotic stress responses in plants, metabolis, Productivity and sustainability*. New York: Springer, Verlag, 56-75.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., and Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews of Biotechnology*, 30(3), 161-175.
- Ahmad, P., Latef, A. A. A., Hashem, A., Abdallah, E. F., Gucel, S., and Tran, L. S. P. (2016). Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. *Frontiers in Plant Science*, 7, 347-360.
- Ahmad, P., and Umar, S. (2011). *Oxidative stress, Role of antioxidants in plants*. New Delhi: Studium Press, 56-62.
- Ahmad, R., Lim, C. J., and Kwon, S.Y. (2013). Glycine betaine, a versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses. *Japan Plant Biotechnology Reports*, 7, 49-57.
- Akar, R. (2015). *Tuz stresi altında gelişen marul (Lactuca sativa L.) fidelerinde bazı fizyolojik, biyokimyasal parametreler ve fenolik bileşiklerin üretimi ile ilişkili genlerin ifadesi üzerine nitrik oksitin etkisi*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Arasimowicz, M., and Floryszak-Wieczorek, J. (2007). The combined nitrate reductase and nitrite dependent route of NO synthesis in potato immunity to *Phytophthora infestans*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 108, 468- 477.
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts, scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual Review of Plant Biology*, 50, 601-639.
- Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, 27(1), 84–93.
- Ashraf M., and Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and Experimental Botany*, 59 (2), 206-216.
- Avsian-Kretchmer, O., Gueta-Dahan, Y., Lev-Yadun, S., Gollop, R., and Ben-Hayyim, G. (2004). The salt-stress signal transduction pathway that activates the gpx1 pro-moter is mediated by intracellular H₂O₂, different from the pathway induced by extracellular H₂O₂. *Plant Physiology*, 135, 1685–1696.
- Azzedine, F., Gherroucha, H., and Baka, M. (2011). Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7, 27–37
- Bates, L.S., Waldren, R. P., and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and Soil*, 39, 205–207.

- Bhattacharjee, S. (2005). Reactive oxygen species and oxidative burst, roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science* 89, 1115–1121
- Begara-Morales, J., Sánchez-Calvo, C., and Chaki, B. (2014). Dual regulation of cytosolic ascorbate peroxidase (APX) by tyrosine nitration and S-nitrosylation, *Journal of Experimental Botany*, 65(2), 527–538.
- Belligni, M. V., and Lamattina, L. (2001). Nitric Oxide in plants: the history is just beginning. *Plant, Cell and Environment*, 24, 267-278.
- Belligni, M. V., and Lamattina, L. (1999). Is nitric oxide toxic or protective? *Trends in Plant Science*, 4, 299–300.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhriss, M., and Ben Abdullah, F. (2010) Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 4216–4222.
- Besson-Bard A., Astier J., Rasul S., Wawer, I., Dubreuil-Maurizi, C., Jeandroz, S., and Wendehenne, D. (2009). Current view of nitric oxide- responsive genes in plants. *Plant Science*, 177, 302–309.
- Bethke, P. C., Badger, M. R., and Jones, R. L. (2004). Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. *Plant Cell*, 16, 332–341.
- Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., and Sharma, K. K. (2008) Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Japan Plant Cell Reports*, 27, 411–424.
- Blokhina, O., and Fagerstedt, K. V. (2010). Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems. *Physiologia Plantarum*, 138, 447–462.
- Blumwald, E., (1987). Tonoplast vesicles as a tool in the study of ion transport at the plant vacuole; *Physiologia Plantarum*, 69, 731–734
- Bohnert, H. J. Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995). Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7(7), 1099–1111.
- Bolwell, G.P., Bindschedler, L.V., Blee, K.A., Butt, V.S., Davies, D.R., Gardner, S.L., Gerrish, C., and Minibayeva, F. (2002). The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three component system. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1367–1376.
- Bose, J., Munns, R., Shabala, S., Gilliam, M., Pogson, B., and Tyerman, S. D. (2017). Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. *Journal of Experimental Botany*, 68, 3129–3143.
- Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S., and Neill, S. J. (2006). ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H₂O₂ synthesis. *Plant Journal*, 45, 113–122.

- Cha-Um, S., and Kirdmanee, C. (2010). Effect of glycinebetaine on proline, water use, and photosynthetic efficiencies, and growth of rice seedlings under salt stress, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34(6), 517–527.
- Chaki, M., Valderrama, R., Fernández-Ocana, A. M., Carreras, A., Lopez-Jaramillo J., Luque, F., Palma, J. M., Pedrajas, J. R., Begara-Morales, J. C., and Sánchez-Calvo, B. (2009). Protein targets of tyrosine nitration in sunflower (*Helianthus annuus* L.) hypocotyls. *Journal of Experimental Botany*, 60, 4221–4234.
- Chaki, M., Fernández-Ocana, A. M., Valderrama, R., Carreras, A., Esteban, F. J., Luque, F., Gomez-Rodriguez, M. V., Begara-Morales, J. C., Corpas, F. J., and Barroso, J. B. (2009). Involvement of reactive nitrogen and oxygen species (RNS and ROS) in sunflower-mildew interaction. *Plant Cell Physiology*, 50, 265–279.
- Chen, V.P., and Li, P. H. (2002). Membrane stabilization by abscisic acid under cold aids proline in alleviating chilling injury in maize (*Zea mays* L.) cultured cells, *Plant, Cell and Environment*, 25, 955–962.
- Chokshi, K., Pancha, I., Ghosh, A., and Mishra, S. (2017). Salinity induced oxidative stress alters the physiological responses and improves the biofuel potential of green microalgae *Acutodesmus dimorphus*. *Bioresources and Technology*, 244, 1376–1383
- Christou, A., Manganaris, G. A., Fotopoulous, V. (2014). Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*. 107, 46-54.
- Chung, H.S., Koo, A.J.K., Gao, X., Jayanty S., Thines B., Jones A.D., and Howe G.A. (2008). Regulation and function of Arabidopsis JA ZIM-domain genes in response to wounding and herbivory. *Plant Physiology*, 146, 952–964
- Cingoz, G.S., Verma, S.K., and Gurel, E. (2014). Hydrogen peroxide-induced antioxidant activities and cardiogenic glycoside accumulation in callus cultures of endemic *Digitalis* species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 89-94.
- Clause, S.D., and Sasse J. M. (1998). Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development, *Annual Review of Plant Biology*, 49, 427–451.
- Cooney, R. V., Harwood, P. J., Custer, L. J., and Franke, A.A. (1994). Light mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide by carotenoids. *Environmental Health Perspectives*, 102, 460–462.
- Corpas FJ, Chaki M, Fernández-Ocaña A, Valderrama R, Palma JM, and Carreras A. (2008). Metabolism of reactive nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions. *Plant Cell Physiology*, 49, 1711–1722.
- Corpas, F.J., Barroso, J.B., and Carreras, A. (2004). Cellular and subcellular localization of endogenous nitric oxide in young and senescent pea plants. *Plant Physiology*, 136, 2722–2733.
- da Silva, C. J., Fontes, E. P. B., and Modolo, L. V. (2017). Salinity-induced accumulation of endogenous H₂S and NO is associated with modulation of the antioxidant and

- redox defense system El-Shintinawy F. ve. El-Shourbagy M. N, Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedlings by thiamine. *Biologia Plantarum*, 44 (4), 541–545.
- de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Ene'as-Filho, J., Medeiros, J. V, and Gomes-Filho, E. (2005). Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt stress acclimation in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 162(10),1114-1122.
- de Lourdes Oliveira Otoch, M., Menezes Sobreira A. C., Farias De Aragão M. E, E. G., Orellano, M. Da Guia Silva Lima, and D., and Fernandes D.M. (2001). Salt modulation of vacuolar H⁺-ATPase and H⁺-Pyrophosphatase activities in *Vigna unguiculata*. *Journal of Plant Physiology*, 158(5), 545–551.
- de Pinto, M. C., Paradiso, A., Leonetti, P., and Gara, L. (2006). Hydrogen peroxide, nitric oxide and cytosolic ascorbate peroxidase at the crossroad between defence and cell death. *Plant Journal* 48, 784–795.
- Deivanai, S., Xavier, R., Vinod, V., Timalata, K, and Lim, O. F. (2011). Role of exogenous proline in ameliorating salt stress at early stage in two rice cultivars, *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7, 157–174.
- Delledonne, M. (2005). NO news is good news for plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 8, 390–396.
- Delledonne, M., Xia, Y.J., Dixon, R.A., and Lamb, C. (1998). Nitric oxide functions as a signaling in plant disease resistance. *Nature*, 39, 585–588.
- Dempsey, D.A., and Klessig, D.F. (2012). SOS-too many signals for systemic acquired resistance? *Trends Plant Science*, 17, 538–545.
- Dempsey, D.A., and Klessig, D.F. (1995). Signals in plant disease resistance, *Bull. Inst. Pasteur*, 93, 167-186.
- Desikan, R., Cheung, M.K., Bright, J., Henson, D., Hancock, J.T., Neill, S.J. (2004). ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signaling in stomatal guard cell. *Journal of Experimental Botany*, 395, 205–212.
- Desikan, R., Mackerness, S.A.H., Hancock, J.T., and Neill, S.J. (2001). Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. *Plant Physiology*, 127,159–172.
- Dietz, K. J., Tavakoli, N., and Kluge, C. (2001). Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level, *Journal of Experimental Botany*, 52(363), 1969–1980.
- Dubovskaya, L.V., Kolesneva V.D., Knyazev, I.M., and Volotovskii, D. (2007). Protective role of nitric oxide during hydrogen peroxide-induced oxidative stress in tobacco plants, *Russian Journal of Plant Physiology* 54(6), 755-762.
- El-Shintinawy, F. and El-Shourbagy, M. N. (2001). Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedlings by thiamine, *Biologia Plantarum*, 44(4), 541–545.

- Fan, H., Guo, S., Jiao, Y., Zhang, R., and Li, J. (2007). Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism, and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. *Frontiers of Agriculture in China*, 1, 308–314.
- Fatma, M., and Khan, N. A. (2014). Nitric oxide protects photosynthetic capacity inhibition by salinity in Indian mustard. *Journal of Functional and Environmental Botany*, 4, 106–116.
- Fedina, I. S., Nedeva, D. and Çiçek, N. (2009). Pre-treatment with H₂O₂ induces salt tolerance in barley seedlings. *Biologia Plantarum*, 53, 321–324.
- Flowers, T. J., and Colmer, T. D. (2008) Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist* 179, 945–963
- Feechan, A., Kwon, E., Yun, B.W., Wang, Y., Pallas, J.A., and Loake G.J. (2005). A central role for S- nitrosothiols in plant disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(22), 8054-8059.
- Flowers, T.J., and Flowers, S.A. (2005) Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? *Agriculture and Water Management*, 78, 15–24.
- Ford, C. W. (1984). Accumulation of low molecular weight solutes in water-stressed tropical legumes, *Phytochemistry*, 23(5), 1007–1015.
- Foreman, J., Demidchik, V., Bothwell, J. H. F., Mylona, P, Miedema, H., Torres, M. A., Linstead, P., Costa, S., Brownlee, C., Jones, J.D., Davies, J.M., and Dolan, L. (2003) Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 422, 442–446.
- Foyer, C.H., and Noctor, G. (2011). Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant Physiology*, 155, 2-18.
- Fragnire, C., Serrano M, Abou-Mansour E., Métraux J.P., and Haridon F.L. (2011). Salicylic acid and its location in response to biotic and abiotic stress. *FEBS Letters*, 585(12), 1847–1852.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Reviews of Biochemistry*, 64, 97-112.
- Furtana Baysal, G., and Tıprıdamaz, R. (2010). Physiological and antioxidant response of three cultivars of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salinity. *Turkish Journal of Biology*, 34, 287–296.
- Gao, J., Thelen, K.D., Min, D.H., Smith, S, Hao, X., and Gehl, R. (2010). Effects of manure and fertilizer applications on canola oil content and fatty acid composition. *Agronomy Journal*, 102, 790-797.
- Gadallah, M.A.A. (1999). Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* responses to salt stress. *Biologia Plantarum*, 42(2), 249–257.

- García-Mata, C., and Lamattina, L. (2003). Abscisic acid, nitric oxide and stomatal closure is nitrate reductase one of the missing links? *Trends Plant Science* 8, 20–26.
- García-Mata, C., and Lamattina, L. (2002). Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells. *Plant Physiology*, 128, 790–792.
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., and Minkov, I. (2002). Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 9, 708–714.
- Gladwin, M.T., Schechter, A.N., Kim-Shapiro, D.B., Patel, R.P., Hogg, N., Richard S.S., Cannon, R.O., Wink, D.A., Espey, M.G., Oldfield, E.H., Pluta, R.M., Freeman, B.A., Lancaster, J.R., Feelisch, M., and Lundberg, J.O. (2006). The emerging biology of nitrite anion. *Nature Chemical Biology*, 1(6), 308–314.
- Gondim, F.A., Gomes-Filho, E., and Costa, J.H. (2012). Catalase plays a key role in salt stress acclimation induced by hydrogen peroxide pretreatment in maize. *Plant Physiology and Biochemistry*, 56, 62–71.
- Groß, F., Durner, J., and Gaupels, F. (2013). Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses. *Frontiers in Plant Science*, 4, 419–423.
- Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids*, 34(1), 35–45.
- Guo, Y. Qiu, Q.S., and Quintero F. J. (2004). Transgenic Evaluation of Activated Mutant Alleles of SOS2 Reveals a Critical Requirement for Its Kinase Activity and C-Terminal Regulatory Domain for Salt Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 16 (2), 435–449.
- Gupta, B. and Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 214, 1–18.
- Gupta, K., Dey, A., and Gupta, B. (2013). Polyamines and their role in plant osmotic stress tolerance, in *Climate change and plant abiotic stress tolerance*, N. Tuteja and S. S. Gill, Eds., 1053–1072, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- 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. *Journal of Experimental Botany*, 56(420), 2601–2609.
- Güler, N.S., and Pehlivan, N. (2016). Exogenous low-dose hydrogen peroxide enhances drought tolerance of soybean (*Glycine max* L.) through inducing antioxidant system. *Acta biologica Hungarica*, 67, 169–183.
- Güzel, Ş., and Terzi, R. (2013). Exogenous hydrogen peroxide increases dry matter production, mineral content and level of osmotic solutes in young maize leaves and alleviates deleterious effects of copper stress. *Botanical Studies*, 54, 26–32.

- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C. (2007). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Oxford Press, 150-198.
- Halliwell, B. (1984). *Toxic effects of oxygen in plant tissues*, In: *Chloroplast Metabolism, The structure and function of chloroplasts in green leaf cells*. Oxford: Oxford Press, 180-206.
- Hanson, A. D., Rathinasabapathi, B., Rivoal, J. Burnet, M., Dillon, M. O. and Gage, D. A. (1994). Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: a natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(1), 306–310.
- Hasanuzzaman, M., Nahar K., Hossain, M.S., Mahmud, J.A., Rahman, A., Inafuku, M., Oku, H., and Fujita, M. (2017). Coordinated actions of glyoxalase and antioxidant defense systems in conferring abiotic stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Science*, 18, 200-213.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., and Fujita, M. (2013). Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In: Ahmed P, Azooz MM, Prasad MNV (eds). *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. New York: Springer, 25–87.
- Hasanuzzaman, M., and Fujita, M. (2012). Selenium and plant health: the physiological role of selenium. In: Aomori C, Hokkaido M (eds). *Selenium: sources, functions and health effects*. New York: Nova Publishers, 12-96.
- Hasanuzzaman, M, Hossain, M.A., and Fujita, M. (2011a) Nitric oxide modulates antioxidant defense and the methylglyoxal detoxification system and reduces salinity-induced damage of wheat seedlings. *Japan Plant Biotechnology Reports*, 5, 353–365
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A., and Fujita, M. (2011b) Selenium-induced up-regulation of the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings. *Biology of Trace Element Research* 143, 1704–1721.
- Hasegawa, P. M. (2013). Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants, *Environmental and Experimental Botany*, 92, 19–31.
- Hasegawa, P., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 463–499
- Hayat S., and Ahmad, A. (2011). *Brassinosteroids: a class of plant hormone*. Springer: Dordrecht.
- Henry, Y. A., Ducastel, B., and Guissani, A. (1996). Basic chemistry of nitric oxide and related nitrogen oxides. In: Nitric oxide research from chemistry to biology. Springer, USA Hsu Y.T., Kao C.H., 2004. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regulation*, 42, 227–238.

- Henzler, T., and Staudel, E. (2000). Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in *Chara carollina*: Model calculations and measurements with the pressure probe suggests transport H₂O₂ across channels. *Journal of Experimental Botany*, 51, 2053-2066.
- Hossain, M.A., Munemasa, S., Uraji, M., Nakamura, Y., Mori, I.C., and Murata, Y. (2011) Involvement of endogenous abscisic acid in methyl jasmonate-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 156, 430–438
- Hoque, MA., Banu, M.N.A., Okuma, E., Amako, K., Nakamura, K., Shimoishi, Y., Murata, Y. (2007) Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. *Journal of Plant Physiology*, 164, 1457–1468
- Hossain, M. A., Munemasa, S., Uraji, M., Nakamura Y., Mori I. C. and Murata, Y. (2011). Involvement of endogenous abscisic acid in methyl jasmonate-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 156 (1), 430–438.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. (1938). The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley, USA: College of Agriculture, University of California.
- Hsu, Y.T., Kao, C.H. (2005). Abscisic acid accumulation and cadmium tolerance in rice seedlings. *Physiologia Plantarum*, 124, 71–80.
- Huaifu, F., Shirong, G., Yansheng, J., Runhua, Z., and Juan L. (2007). Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism, and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. *Frontiers Agriculture in China*, 1, 308-314.
- Iqbal, N., Masood, A., and Khan, N.A. (2012). Phytohormones in salinity tolerance: ethylene and gibberellins cross talk. In: Khan NA, Nazar R, Iqbal N, Anjum NA (eds) *Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants*. Berlin: Springer, 77–98.
- Ishitani, M., Liu, J., Halfter, U., Kim, C. S., Shi, W., and Zhu, J. K. (2000). SOS3 function in plant salt tolerance requires N-myristoylation and calcium binding. *Plant Cell*, 12(9), 1667–1677.
- Jayakannan, M., Bose, J., and Babourina, O. (2013). Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K⁺ loss via a GORK channel. *Journal of Experimental Botany*, 64 (8), 2255–2268.
- Jeschke, W.D., Peuke, A.D., Pate, J.S., and Hartung, W. (1997). Transport, synthesis and catabolism of abscisic acid (ABA) in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.) under phosphate deficiency and moderate salinity. *Journal of Experimental Botany*, 48(314), 1737– 1754.
- Kausar, F., Shahbaz, M., and Ashraf, M. (2013). Protective role of foliarapplied nitric oxide in *Triticum aestivum* under saline stress. *Turkish Journal of Botany*, 37, 1155-1165.

- Keskin, B. C., Sarikaya, A. T., Yüksel, B., and Memon, A. R. (2010). Abscisic acid regulated gene expression in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 4(8), 617–625.
- Kerepesi, I., and Galiba, G. (2000). Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*, 40 (2), 482–487.
- Khan, M. N., Mobin, M., Mohammad, F., and Corpas, F. J. (2015). *Nitric oxide action in abiotic stress responses in plants*. Switzerland: Springer International Publishing, 100-102.
- Khan, M. A., Ungar I. A., and Showalter, A. M. (2000). Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte *haloxylon recurvum*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31(17-18), 2763–2774.
- Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y., and Hoque, M. A. (2017) Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. *Rice Science*, 24, 155–162
- Kim, Y. H., Latif Khan, A., and Waqas, M. (2013). Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and antioxidant responses under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 20, 154-158.
- Klatt, P., and Lamas, S. (2000). Regulation of protein function by S-gluthiolation in response to oxidative and nitrosative stress, *European Journal of Biochemistry*, 267, 4928-4944.
- Klepper, L. A. (1979). Nitric oxide (NO) and nitrogen dioxide emissions from herbicide-treated soybean plants. *Atmospheric Environment*, 13, 537–542.
- Klepper, L. A. (1978). Nitric oxide (NO) evolution from herbicide-treated soybean plants. *Plant Physiology*, 61-65.
- Kopyra, M., and Gwózdź, E.A. (2003). Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 1011–1017.
- Kovács, Z., Simon-Sarkadi, L., Szucs, A., and Kocsy, G. (2010). Differential effects of cold, osmotic stress and abscisic acid on polyamine accumulation in wheat, *Amino Acids*, 38(2), 623–631.
- Köshland, D. E. (1992). The molecule of the year. *Science*, 1, 258-259.
- Kuşvuran, Ş., Yaşar, F., Abak, K. and Ellialtıoğlu, Ş. (2008). Tuz stresi altında yetiştirilen tuza tolerat ve duyarlı *Cucumis* sp.'nin bazı genotiplerinde lipid peroksidasyonu, klorofil ve iyon miktarlarında meydana gelen değişimler. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 18(1), 11-18.
- Laloi, C., Apel, K., and Danon, A. (2004). Reactive oxygen signalling: the latest news. *Current Opinion in Plant Science*, 7,323-328.
- Leshem, Y., and Levine, A. (2007). Intracellular ROS. What does it do there? *Plant Signalling Behaviour*, 2, 155–156

- Leshem, Y. Y., and Haramaty, E. (1996). The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage. *Journal of Plant Physiology*, 148, 258–263.
- Li, J. T., Qiu, Z. B., Zhang, X. W., and Wang L. S. (2011). Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 835–842.
- Li, Q. Y., Niu, H. B., Yin, J., Wang, M. B., Shao, H. B., Deng, D. Z., Chen, X. X., Ren, J. P., and Li, Y.C. (2008). Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 65, 220-225.
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods Enzymology*, 148, 350-382.
- Liu, T., Hu, T., Zhang, J., Du, Q., and Li, J. (2018), H₂O₂ mediates ALA-induced glutathione and ascorbate accumulation in the perception and resistance to oxidative stress in *Solanum lycopersicum* at low temperatures, *BMC Plant Biology* 18 (34), 3-10.
- Liu, J., Ishitani, M., Halfter, U., Kim, CS. and Zhu, J. K. (2000). The Arabidopsis thaliana SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7), 3730–3734.
- López-Carrión, A.I., Castellano, R., Rosales, M.A., Ruiz, J.M. and Romero, L. (2008). Role of nitric oxide under saline stress: implications on proline metabolism. *Biologia Plantarum*, 52(3), 587-591.
- Lutts, S., Kinet, J.M., and Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance, *Annals of Botany*, 78, 389–398.
- Martínez-Atienza, J. Jiang, B. Garciadeblas, X. (2017). Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice, *Plant Physiology*, 143(2), 1001–1012.
- Mahajan, S, and Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochemistry and Biophysics*. 444, 139–158.
- Makela, P., Karkkainen J., and Somersalo, S. (2010). Effect of glycinebetaine on chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activities in tomato grown under drought or salinity, *Biologia Plantarum*, 43(3), 471–475.
- Matysik, J., Alia, A., Bhalu, B. and Mohanty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants, *Current Science*, 82 (5), 525–532.
- Mazid, M., Khan T. A., and Mohammad, F. (2011). Role of nitric oxide in regulation of H₂O₂ mediating tolerance of plants to abiotic stress: a synergistic signaling approach. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7, 34-74.

- Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, F., Van Breusegem, F. and Noctor, G. (2010). Catalase function in plants: A focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany* 61, 4197-4220.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci Yilmaz, S., and Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell and Environment* 33, 453–467.
- Mishra, A., and Choudhuri, M.A., (1999). Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biologia Plantarum*, 42, 409–415.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., and Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9, 490–498.
- Mittler, R., 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance, *Trends in Plant Science*, 7, 405-410.
- Molassiotis, A., and Fotopoulou, V. (2011). Oxidative and nitrosative signaling in plants, two branches in the same tree? *Plant Signalling Behaviour*, 6, 210–214.
- Moskova, I., Todorova, E.D., Alexieva, V., Ivanov, S., and Sergiev, I. (2009). Effect of exogenous hydrogen peroxide on enzymatic and nonenzymatic antioxidants in leaves of young pea plants treated with paraquat. *Plant Growth and Regulation*, 57, 193–202.
- Mutlu, F., Yürekli, F. (2015). Analysis of interactions of nitric oxide and polyamine under cadmium stress in wheat. *Turkish Journal of Botany*, 39, 778-785
- Munns, R., Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Reviews of Plant Biology* 59, 651–681.
- Munns, R., James, R.A., and Läuchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57, 1025-1043.
- Neill, S., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J., and Wilson, I. (2008). Nitric oxide evolution and perception. *Journal of Experimental Botany*, 59, 25-35
- Neill, S., Desikan, R., and Hancock, J. T. (2003a). Nitric oxide as a mediator of ABA signalling in stomatal guard cells. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, (Special Issue), 124-132
- Neill, S., Desikan, R., and Hancock, J. T. (2003b). Nitric oxide signalling in plants. *New Phytologist*, 159, 11-35
- Neill, S., Desikan, R., and Hancock, J. T. (2002). Hydrogen peroxide signalling. *Current Opinion in Plant Biology* 5, 388–395.
- Neill, J. S., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D., and Hancock, J. T. (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1237- 1247.

- Nohar, S. D., Keshaw, P. R., Ankit, Y., Shobhana, R., Bharat Lal, S., and Khageshwar, S. P. (2015). Fluoride Contamination of Groundwater and Health Hazard in Central India, *Journal of Water Resource and Protection*, 7, 1416-1428.
- Nounjan, N., Nghia, P. T., and Theerakulpisut, P. (2012). Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes. *Journal of Plant Physiology*, 169, 596–604.
- Oh, D.H., Lee, S. Y., Bressan, Yun, D.J. and Bohnert, H. J. (2010). Intracellular consequences of SOS1 deficiency during salt stress R. A, *Journal of Experimental Botany*, 61(4), 1205–1213.
- Öcal Özdamar, F., Baysal Furtana, G., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., ve Tıyrıdamaz, R, (2016). Hidrojen Peroksit ve Nitrik Oksit İlişkinin Bitkilerde Abiyotik Stres Toleransındaki Rolü. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (1), 117-131.
- Parida, A.K., Das A. B., and Mohanty P., (2004). Investigations on the antioxidative defence responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes, *Plant Growth Regulation*, 42(3), 213–226.
- Pei, Z.M., Murata, Y., Benning, G., Thomine, S., Klusener, B., Allen, G.J., Grill, E., and Schroeder, J.I. (2000). Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells. *Nature* 406, 731-734.
- Perazzolli, M., Dominici, P., Romero-Puertas, M. C., Zago, E., Zeier, J., Sonoda, M., Lamb, C., and Delledonne, M. (2004). *Arabidopsis* non-symbiotic hemoglobin AHb1 modulates nitric oxide bioactivity. *Plant Cell* 16, 2785-2794.
- Poór P., Gémes, K., Horváth, F., Szepesi, A., Simon, M.L., Tari, I. (2011). Salicylic acid treatment via the rooting medium interferes with stomatal response, CO₂ fixation rate and carbohydrate metabolism in tomato, and decreases harmful effects of subsequent salt stress. *Plant Biology* 13,105-114.
- Popova, L.P., Stoinova, Z.G., and Maslenkova, L.T. (1995). Involvement of abscisic acid in photosynthetic process in *Hordeum vulgare* L. during salinity stress, *Journal of Plant Growth Regulation*, 14(4), 211-218.
- Prakash, L., and Prathapasenan, G. (1988). Effect of NaCl Salinity and Putrescine on Shoot Growth, Tissue Ion Concentration and Yield of Rice (*Oryza sativa* L. var. GR-3). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 160, 325–334.
- Qiao, W., Li, C., and Fan, L. M. (2014). Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 100, 84-93.
- Qiao, W. H., Xiao, S. H., Yu, L., and Fan, L. M. (2009). Expression of a rice gene OsNOA1 re-establishes nitric oxide synthesis and stress-related gene expression for salttolerance in *Arabidopsis* nitric oxide-associated 1 mutant *Atnoa1*. *Environmental and Experimental Botany*, 65, 90–98.

- Quintero, F. J., Ohta, M., Shi, H. Zhu, J.K., and Pardo, J. M. (2002). Reconstitution in yeast of the Arabidopsis SOS signaling pathway for Na⁺ homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(13), 9061-9066.
- Quintero, F. J., and Martinez-Atienza, J. (2011). Villalta, Activation of the plasma membrane Na/H antiporter salt-overly-sensitive 1 (SOS1) by phosphorylation of an auto-inhibitory C-terminal domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(6), 2611-2616.
- Rahman, S. Miyake H., and Takeoka Y., (2002). Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science*, 5(1), 33-44.
- Rahman, A., Nahar, K., Hasanuzzaman, M., and Fujita, M. (2016). Calcium supplementation improves Na⁺/K⁺ ratio, antioxidant defense and glyoxalase systems in salt-stressed rice seedlings. *Froniers int Plant Science*, 7, 609-621.
- Rajput, V.D., Yaning, C., Ayup, M., Minkina, T., Sushkova, S., and Mandzhieva, S. (2017). Physiological and hydrological changes in *Populus euphratica* seedlings under salinity stress. *Acta Ecologia Sintenica*, 37, 229-235
- Rawia Eid, A., Taha, L.S., and Ibrahiem, S.M.M. (2011). Alleviation of adverse effects of salinity on growth, and chemical constituents of marigold plants by using glutathione and ascorbate. *Journal of Applied Science Research*, 7, 714-721.
- Reddy, M.P., Sanish, S., and Iyengar, E.R.R. (1992). Photosynthetic studies and compartmentation of ions in different tissues of *Salicornia brachiata* Roxb. under saline conditions. *Photosynthetica*, 6, 173-179.
- Rockel, P., Strube, F., Rockel, A., Wildt, J., and Kaiser, W.M. (2002). Regulation of Nitric Oxide (NO) Production by Plant Nitrate Reductase in vivo and in vitro, *Journal of Experimental Botany*, 53, 103-110.
- Sairam, R.K., and Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86(3), 407-421.
- Saleh, A.A.H. (2007). Amelioration of chilling injuries in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings by paclobutrazol, abscisic acid and hydrogen peroxide. *American Journal of Physiology*, 2(6), 318-332.
- Sanders, D. (2000). Plant biology: The salty tale of Arabidopsis. *Current Biology*, 10 (13), 486-488.
- Sathiyaraj, G., Srinivasan, S., Kim, Y.J., Lee, O.R., Parvin, S., Balusamy, S.R., Khorolragchaa, A., and Yang, D.C. (2014). Acclimation of hydrogen peroxide enhances salt tolerance by activating defense-related proteins in *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Netherlands Molecular Biology Reports* 41, 3761-3771.
- Saxena, S.C., Kaur, H., and Verma, P. (2013). *Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions*. New York: Springer. 197-232.

- Sawada, H. I., Shim, S., and Usui, K. (2006). Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis-Modulation by salt stress in rice seedlings. *Plant Science*, 171(2), 263-270.
- Schroeder, J.I. (2003). NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in Arabidopsis. *EMBO Journals*. 22, 2623-2633.
- Sheokand, S., Kumari, A., and Sawhney, V. (2008). Effect of nitric oxide and putrescine on antioxidative responses under NaCl stress in chickpea plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 14, 355-362.
- Shi, Q., Fei, D., Xiufeng, W., and Min, W. (2007). Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 542-550.
- Shi, H., Quintero, F. J., Pardo, J. M., ve. Zhu, J. K. (2002). The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁺ transport in plants, *Plant Cell*, 14(2), 465–477.
- Shi, H. M. Ishitani, C. Kim, A.D., and Zhu, J.K. (2000). The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12), 6896-6901.
- Serrano, R., Mulet, J. M., and Rios, G. (1999). A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress, *Journal of Experimental Botany*, 50, 1023–1036.
- Shabala, S., and Cuin, T.A. (2007) Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum* 133, 651–669.
- Shrivastava, P., and Kumar, R. (2015). Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biology Science*, 22,123–131.
- Siddiqui, M.H, Alamri, S.A, Y., Al-Khaishany, M.Y.Y., Al-Qutami, M.A., Ali, H.M., and Khan, N. (2017). Sodium nitroprusside and indole acetic acid improve the tolerance of tomato plants to heat stress by protecting against DNA damage, *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 177-186.
- Ślesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., and Miszalski, Z. (2007). The Role of Hydrogen Peroxide in Regulation of Plant Metabolism and Cellular Signalling in Response to Environmental Stresses. *Acta Biochimica Polonica*, 54, 39-50.
- Stavridou, E., Hastings, A., Webster, R.J., and Robson, P.R.H. (2017) The impact of soil salinity on the yield, composition and physiology of the bioenergy grass *Miscanthus × giganteus*. *Gcb Bioenergy*, 9, 92-104.
- Sorelle, R. (1998). Nobel Prize awarded to scientists for nitric oxide discoveries. *Circulation*, 98, 2365-2366.
- Tahir, M.A., Aziz, T., Farooq, M., and Sarwar, G. (2012). Silicon-induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane

- permeability in two salt-stressed wheat genotypes. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58, 247-256.
- Talhouni, M., Sönmez K., Ellialtıoğlu, Ő., ve Kuşvuran, Ő. (2017). Tuz stresi altında yetiştirilen aşılı patlıcan bitkilerinde bazı bitki ve meyve özelliklerinin incelenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6, 71-80.
- Tanou, G., Molassiotis, A., and Diamantidis, G. (2009a). Hydrogen peroxide- and nitric oxide-induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl-stress and stress-free conditions in citrus plants. *Journal of Plant Physiology* 166, 1904-1913.
- Tanou, G., Molassiotis, A., and Diamantidis, G. (2009b). Induction of reactive oxygen species and necrotic death like destruction in strawberry leaves by salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 65, 270–281.
- Tanou, G., Job, C., Rajjou, L., Arc, E., Belghazi, M., Diamantidis, G., Molassiotis, A., and Job, D. (2009). Proteomics reveals the overlapping roles of hydrogen peroxide and nitric oxide in the acclimation of citrus plants to salinity. *Plant Journal*, 60, 795-804.
- Tıpırdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ő. (1994). *Domates genotiplerinde tuza dayanıklılığın belirlenmesinde değişik tekniklerin kullanımı*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Yayınları, 752-773.
- Tripathi, P., Rabara, R. C., and Rushton, P. J. (2014). A systems biology perspective on the role of WRKY transcription factors in drought responses in plants. *Planta*, 239(2), 255-266.
- Uchida, A., Jagendorf, A. T., Hibino, T., and Takabe, T. (2002). Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 163, 515–523
- Ünsal, NP., and Arısan, D. (2009). Nitric Oxide Signalling in Plants, *The Botanical Review*, 75 (2), 203-229.
- Wahid, A., Perveen, M., Geelani, S., and Basra, S.M.A. (2007). Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology*, 164, 283-294.
- Wang, H., Liang, X., Wan, Q., Wang, X., and Bi, Y. (2009). Ethylene and nitric oxide are involved in maintaining ion homeostasis in Arabidopsis callus under salt stress. *Planta*, 230, 293-307.
- Van Oosten, M. J., Sharkhuu, A., and Batelli, G. (2013). Bressan, R. A, and Maggio, A. The Arabidopsis thaliana mutant air1 implicates SOS3 in the regulation of anthocyanins under salt stress. *Plant Molecular Biology*, (83), 405–415.
- Velikova, V., Yordanov, I., and Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, 59–66.
- Vraová, E., Inzé, D., and Van Breusegem, F. (2002). Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1227-1236.

- Wang, Y. and Nii, N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress, *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(6), 623-627.
- Wang, Y. Y., Hsu, P. K., and Tsay, Y. F. (2012b). Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science* 17, 458–467.
- Wang, Y.Q., Li, L., Cui, W.T., Xu, S., Shen, W. B., Wang, R. (2012a) Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant & Soil*, 351,107–119.
- Wang, B., Lüttge, U., and Ratajczak, R., (2001). Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V-PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa*, *Journal of Experimental Botany*, 52 (365), 2355–2365,
- Wendehenne, D., Gould, K., and Lamotte, O. (2004). Nitric oxide is a essential component of biotic and abiotic stress-induced signaling pathways in plants. In: Magalhaes JR (ed) Nitric oxide signaling in higher plants. Houston: Studium Press, 55-64.
- Wendehenne, D., Durner, J., and Klessig, D.F. (2004). Nitric oxide: a new player in plant signalling and defence responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 449-455.
- Wu, D., Hongye, C., Lixiu, J., Kunming, C., and Liqun, Z. (2015). A feedback inhibition between nitric oxide and hydrogen peroxide in the heat shock pathway in *Arabidopsis* seedlings, *Plant Growth Regulation*, 75, 503–509.
- Xiaomu, N., Niu, X., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., and Pardo, J. M. (1995). Ion homeostasis in NaCl stress environments, *Plant Physiology*, 109(3), 735-742.
- Yang, J., Zhang, J., Liu, K., Wang, Z., and Liu, L. (2007). Involvement of polyamines in the drought resistance of rice, *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1545-1555.
- Yaşar, F., (2003). *Tuz stresi altındaki patlıcan genotiplerinde bazı antioksidant enzim aktivitelerinin in vitro ve in vivo olarak incelenmesi*, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 15-36.
- Yusuf, M., Fariduddin, Q., Varshney, P., and Ahmad, A. (2012). Salicylic acid minimizes nickel and/or salinity-induced toxicity in Indian mustard (*Brassica juncea*) through an improved antioxidant system. *Environmental Science of Pollution Research*, 19, 8–18.
- Zhang, X.L., Jia, X.F., Yu, B. (2011). Exogenous hydrogen peroxide influences antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in cucumber leaves at low light, *Scientia Horticulturae*, 129, 656–662.
- Zhang, A., Jiang, M., Zhang, J., Ding, H., Xu, S., Hu, X., and Tan, M. (2007). Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. *New Phytologist*, 175, 36–50.

- Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Wei, Q., and Zhang, W. (2006). Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na^+/H^+ antiport in the tonoplast. *Planta*, 224, 545–555.
- Zhang, F., Wang, Y., Yang, Y., Wu, H., Wang, D and Liu, J. (2007). Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses of *Populus euphratica*. *Plant, Cell and Environment*, 30, 775-785.
- Zhang, F., Yang, Y.L., and He, W.L. (2004). Effects of salinity on growth and compatible solutes of callus induced from *Populus euphratica*, *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 40, 491–494.
- Zhao, L., Zhang, F., Guo, J., Yang, Y., Li, B., and Zhang, L. (2004). Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Physiology*, 134, 849-857.
- Zhao, M.G., Tian, Q.Y., and Zhang, W.H. (2007). Nitric oxide synthase dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 144, 206-217.
- Zhao, M., Zhao, X., Wu, Y., and Zhang, L. (2006). Enhanced sensitivity to oxidative stress in Arabidopsis nitric oxide synthase mutant. *Journal of Plant Physiology*, 164, 737-745.
- Zhu, J.K. (2004). Regulation of ion homeostasis under salt stress, *Current Opinion in Plant Biology*, 6(5), 441-445.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖCAL ÖZDAMAR, Fahriye
 Uyuşu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 22.10.1986, Kayseri
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (312) 202 12 14
 Faks : 0 (312) 212 22 79
 e-mail : fahriyeocal@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	Devam ediyor
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2011
Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Nermin-Mehmet Çekiç Anadolu Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010-Halen	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2011- 2012	Georgia Eyalet Üniversitesi	Misafir Öğretim Üyesi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Öcal Özdamar, F., Tıpırdamaz, R, ve Duman, H. (2014). Ecophysiology of the Chenopodiaceae members around tuz lake (Turkey). *Ekoloji*, 23(93), 8-17.

2. Öcal Özdamar F, Baysal Furtana G., Ellialtıoğlu, Ş.Ş. ve Tıpırdamaz, R. (2016). Hidrojen peroksit ve nitrik oksit ilişkisinin bitkilerde abiyotik stres toleransındaki rolü. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25, (1), 117-131.
3. Duman, H., Öcal, F. (2012). *Bitkilerin adlandırılması* (Bölüm 17). Ankara. Nobel Akademik Yayıncılık.
4. Yaşarkan, O, Furtana, G. B., Özdamar, F. Ö., Akyüz, E., Ellialtıoğlu, Ş., Tıpırdamaz, R., (2016). *Tuz Stresinde hidrojen peroksit ön uygulamasının iki patlıcan genotipine ait kallus dokularında iyon dengesi ve membran geçirgenliği üzerine etkileri*. 23. Ulusal Biyoloji Kongresinde sunulmuş bildiri, şanlıurfa.
5. Furtana, G. B., Özdamar, F. Ö., Ellialtıoğlu, Ş., Tıpırdamaz, R., (2016). *Tuza toleransı farklı iki patlıcan solanum melongena l çeşidinde hidrojen peroksit nitrik oksit ve salisilik asit ön uygulamalarının tuz stresi koşullarında etkisi*. II. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumunda sunulmuş bildiri, Mersin.
6. Furtana, GB, Özdamar, F. Ö., Ellialtıoğlu, Ş., Tıpırdamaz, R. (2015). *Tuz ve dışsal hidrojen peroksit uygulamasının tuza toleransı farklı iki patlıcan (Solanum melongena L.) genotipinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi*. 1.Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu'nda sunulmuş bildiri, Erzurum.
7. Özdamar, F. Ö., Furtana, G. B., Tıpırdamaz, R., Duman, H. (2014). *Tuz Gölünde Yayılış Gösteren Bazı Chenopodiaceae Üyelerinin İnorganik İyon Miktarları ile Toprak Özellikleri Arasındaki İlişkiler*, (Poster Sunumu), 22. Ulusal Biyoloji Kongresinde sunulmuş bildiri, şanlıurfa Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
8. Öcal, F., Furtana G. B.,Duman, H., Tıpırdamaz, R. (2012). *The ecophysiology of some members of halophyte chenopodiaceae family around the salt lake*, (Sözlü Sunum), Kırgızistan 1. Uluslararası Biyoloji Kongresinde sunulmuş bildiri, Kırgızistan.



GAZİ GELECEKTİR..