

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TUZ STRESİNE MARUZ BIRAKILAN *Helianthus annuus* L. ve *Brassica napus* L.'TA
SÜKROZ UYGULAMASININ ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ, PROLİN
İÇERİKLERİ VE BÜYÜME PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA SEVGİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. SEMA LEBLEBİCİ

BİLECİK, 2023

10564620

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TUZ STRESİNE MARUZ BIRAKILAN *Helianthus annuus* L. ve *Brassica napus* L.'TA
SÜKROZ UYGULAMASININ ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ, PROLİN
İÇERİKLERİ VE BÜYÜME PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA SEVGİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. SEMA LEBLEBİCİ

BİLECİK, 2023

10564620

BEYAN

“Tuz Stresine Maruz Bırakılan *Helianthus annuus* L. ve *Brassica napus* L.'ta Sükroz Uygulamasının Antioksidan Savunma Sistemi, Prolin İçerikleri ve Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi” adlı yüksek lisans tezimin proje hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.			
DESTEK ALINMIŞTIR	☐	DESTEK ALINMAMIŞTIR	☒
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum;			
Desteğin Türü		Proje Numarası	
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)			
2- TÜBİTAK			
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:		/.....	

Büşra SEVGİ

.../.../2023

İmza

ÖN SÖZ

Tez çalışmam süresince her türlü bilgi ve deneyiminden faydalandığım, ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, araştırmalarımnda beni teşvik ederek yönlendiren değerli danışman hocam Doç. Dr. Sema LEBLEBİCİ'ye,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşan Fadime DONBALOĞLU BOZCA'ya, Öğr. Gör. Gülçin ÇETİN KILIÇASLAN'a ve Arş. Gör. Fırat Yavuz ÖZTÜRK'e,

Hayatımın her anında maddi ve manevi açıdan benden yardımlarını esirgemeyen, bana sonsuz destek sağlayan ve her zaman yanımda olarak bana sevgilerini her daim hissettiren sevgili annem Zeynep ve babam Hasan SEVGİ'ye,

Hayatımın her alanında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim boyunca da benden desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, beni daima başarılarımda teşvik eden, aynı laboratuvar ve sınıf ortamını paylaşmaktan büyük mutluluk duyduğum canım kardeşim Kübra SEVGİ'ye tüm samimiyetimle teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

TUZ STRESİNE MARUZ BIRAKILAN *Helianthus annuus* L. ve *Brassica napus* L.'TA SÜKROZ UYGULAMASININ ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ, PROLİN İÇERİKLERİ VE BÜYÜME PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Tuz stresi, bitkilerin büyümesini ve mahsul verimliliğini sınırlayarak dünya çapında her geçen gün artan bir tehdit haline gelmektedir. Küresel bir sorun olan tuzluluk, bitkilerin ozmotik ve iyonik dengelerini bozarak nihayetinde bitkinin ölümüyle sonuçlanabilen ozmotik stres, iyonik stres ve besin dengesizliklerine yol açmaktadır. Bitkiler, tuzun zararlı etkileriyle başa çıkmak için tuza tolerans düzeylerini artırabilen ekolojik, fizyolojik ve moleküler mekanizmalarını harekete geçirmektedir. Bitkilerin tuzluluğa toleranslarının artırılması amacıyla uygulanan sükroz, trehaloz, glisin betain, prolin gibi çeşitli ozmoprotektanların ekzojen takviyeleri de, bitkilerde tuz stresinden kaynaklanan olumsuz etkilerin iyileştirilmesinde son derece etkili rol oynamaktadır. Bu çalışmada, iki farklı konsantrasyonda tuz uygulamasının (75 ve 150 mM NaCl) ve bu konsantrasyonlarla birlikte uygulanan ekzojen sükrozun (75 mM NaCl+Sükroz ve 150 mM NaCl+Sükroz) ayçiçeği ve kanola bitkileri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tuz ve ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin kök ve gövde uzunlukları, kök ve gövde yaş-kuru ağırlıkları, kök ve gövde biyokütleleri, tolerans indeksleri, klorofil miktarları, lipid peroksidasyonları, prolin içerikleri, toplam protein miktarları, SOD, CAT, APX enzim aktiviteleri ve antioksidanların gen ekspresyon seviyesindeki değişimleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, tuz stresinin her iki bitki türünde de büyüme parametrelerini olumsuz etkilediği, klorofil miktarlarını azalttığı, MDA, prolin ve toplam protein miktarlarını ise artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak artırdığı belirlenmiştir. Tuz uygulanan ayçiçeği ve kanola örneklerinde kontrole göre SOD aktivitesinin arttığı, CAT aktivitesinin azaldığı, APX aktivitesinin ise önemli bir değişime uğramadığı tespit edilmiştir. Antioksidanlara ait *P5CS*, *SOD-Mn* ve *APX* gen ifadelerinin arttığı, *CAT* gen ifadesinin ise anlamlı düzeyde değişmediği kaydedilmiştir. Ayçiçeği ve kanola bitkilerine uygulanan ekzojen sükroz takviyesinin ise, tuz stresine maruz kalan örneklerin ekolojik parametrelerini iyileştirdiği, klorofil miktarlarını artırdığı, MDA, prolin ve toplam protein miktarlarını ise azalttığı tespit edilmiştir. Ekzojen sükroz uygulamasının, sadece tuz uygulanan örneklere kıyasla bitkilerin SOD aktivitesini azaltırken, CAT ve APX aktivitelerini artırdığı gözlenmiştir. Tuz stresi altında sükrozun, ayçiçeğinde antioksidanlara ait gen ifadelerini farklı şekilde etkilerken, kanolada antioksidanların mRNA ekspresyon seviyelerini artırdığı saptanmıştır. Bitkilerin tuzluluğa gösterdikleri toleranslar çok farklı olmasa da ayçiçeğinde büyümeye bağlı tuz toleransının nispeten kanoladan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ekzojen sükrozun da tuz toleransını ayçiçeğinde kanolaya göre daha fazla artırdığı ortaya konmuştur. Ekofizyolojik ve moleküler düzeyde elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ekzojen sükrozun hem ayçiçeği hem de kanolada tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifleterek iyileştirici bir etki oluşturduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tuz Stresi, Sükroz, Ekolojik Parametreler, Antioksidan Enzim, Gen Ekspresyonu

ABSTRACT

THE EFFECT OF SUCROSE APPLICATION ON ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM, PROLINE CONTENTS AND GROWTH PARAMETERS IN *Helianthus annuus* L. and *Brassica napus* L. EXPOSED TO SALT STRESS

Salt stress is becoming an increasing threat worldwide, limiting plant growth and crop productivity. Salinity, which is a global problem, disrupts the osmotic and ionic balances of plants, causing osmotic stress, ionic stress and nutrient imbalances that can ultimately result in the death of the plant. To cope with the harmful effects of salt, plants activate their ecological, physiological and molecular mechanisms that can increase their tolerance level to salt. Exogenous supplementations of various osmoprotectants such as sucrose, trehalose, glycine betaine, proline, which are applied to increase the tolerance of plants to salinity, also play an extremely effective role in improving the negative effects of salt stress on plants. In this study, the effects of salt application at two different concentrations (75 and 150 mM NaCl) and exogenous sucrose applied together with these concentrations (75 mM NaCl+Sucrose and 150 mM NaCl+Sucrose) on sunflower and canola plants were investigated. Root and stem lengths, root and stem fresh-dry weights, root and stem biomass, tolerance indices, chlorophyll amounts, lipid peroxidations, proline contents, total protein amounts, SOD, CAT, APX enzyme activities and changes in the gene expression level of antioxidants of sunflower and canola plants treated with salt and exogenous sucrose were determined. As a result, it was observed that salt stress negatively affected the growth parameters in both plants species, decreased the amounts of chlorophyll, and increased the amounts of MDA, proline and total protein depending on the increasing salt concentration. It was determined that SOD activity increased, CAT activity decreased, and APX activity did not undergo a significant change in salt-treated sunflower and canola samples compared to the control. It was noted that the *P5CS*, *SOD-Mn* and *APX* gene expressions of antioxidants increased, while the *CAT* gene expression did not change significantly. It was determined that exogenous sucrose supplementation applied to sunflower and canola plants improved the ecological parameters of the samples exposed to salt stress, increased the amounts of chlorophyll, and decreased the amounts of MDA, proline and total protein. It was observed that exogenous sucrose application decreased the SOD activity of the plants and increased the CAT and APX activities compared to the only salt applied samples. It was found out that under salt stress, sucrose differently affected the gene expressions of antioxidants in sunflower, while it increased the mRNA expression levels of antioxidants in canola. Although the tolerances of plants to salinity are not very different, it has been observed that the growth related salt tolerance in sunflower is relatively higher than that of canola. Exogenous sucrose has also been shown to increase salt tolerance more in sunflower than in canola. In line with the results obtained at the ecophysiological and molecular level, it has been determined that exogenous sucrose has an amendatory effect by alleviating the negative effects of salt stress in both sunflower and canola.

Keywords: Salt Stress, Sucrose, Ecological Parameters, Antioxidant Enzyme, Gene Expression

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
GRAFİKLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ayçiçeği Bitkisinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	1
1.2. Kanola Bitkisinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	2
1.3. Bitkilerde Abiyotik Stres.....	4
1.3.1. Tuz Stresi	8
1.3.1.1. Ozmotik Stres ve Bitki-Su İlişkileri.....	10
1.3.1.2. İyon Toksisitesi ve Besin Dengesizliği.....	11
1.3.1.3. Tuzluluğun Kloroplast ve Fotosentez Mekanizması Üzerinde Etkileri	12
1.3.1.4. Tuz Stresinde Sinyal İletimi	13
1.3.1.5. Tuz Toleransı ve Adaptif Yanıt Mekanizmaları	14
1.4. Antioksidan Savunma Sistemi	19
1.4.1. Lipid Peroksidasyonu (LPO)	19
1.4.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Serbest Radikaller.....	20
1.4.3. Antioksidan Savunma Sisteminin Enzimatik Bileşenleri.....	23
1.4.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	23
1.4.3.2. Katalaz (CAT)	23
1.4.3.3. Askorbat Peroksidaz (APX)	24
1.4.3.4. Guaiakol Peroksidaz (GPX)	24
1.4.3.5. Glutasyon Redüktaz (GR)	24
1.4.3.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR).....	24
1.4.3.7. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR).....	25
1.4.4. Antioksidan Savunma Sisteminin Enzimatik Olmayan Bileşenleri	25
1.4.4.1. Prolin	25
1.4.4.2. Askorbat (AsA).....	25

1.4.4.3. Glutasyon (GSH)	26
1.4.4.4. Tokoferoller	26
1.4.4.5. Karotenoidler	26
1.4.4.6. Fenolik Bileşikler	27
1.5. Bitkilerde Şekerin Rolü ve Ekzojen Şeker Uygulamaları.....	27
1.6. Literatür Özeti	29
2. MATERYAL METOD	34
2.1. Bitki Örneklerinin Yetiştirilmesi, Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamaları	34
2.2. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi	35
2.3. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi.....	35
2.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi için Yapraklardan Protein Ekstraksiyonu	36
2.5. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi.....	36
2.6. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi.....	37
2.7. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	37
2.7.1. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	37
2.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	38
2.7.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	38
2.7.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	39
2.8. Antioksidanlara Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi	39
2.8.1. Total RNA İzolasyonu	39
2.8.2. Total RNA Miktarının Belirlenmesi.....	41
2.8.3. cDNA Sentezi.....	41
2.8.4. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İçin Primer Tasarımı	41
2.8.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı PZR.....	42
2.9. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi.....	43
3. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER	44
3.1. Sonuçlar	44
3.1.1. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi	44
3.1.2. Klorofil Miktarlarının Belirlenmesi	55
3.1.3. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi	58
3.1.4. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi	60
3.1.5. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	62

3.1.5.1. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi	62
3.1.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi	64
3.1.5.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi	67
3.1.5.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	69
3.1.6. Antioksidanlara Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi.....	71
3.1.6.1. Total RNA Miktarının Belirlenmesi	71
3.1.6.2. Yapraklarda <i>P5CS</i> mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi.....	71
3.1.6.3. Yapraklarda <i>SOD</i> mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi	73
3.1.6.4. Yapraklarda <i>CAT</i> mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi	75
3.1.6.5. Yapraklarda <i>APX</i> mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi	77
3.2. Tartışma	79
3.2.1. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri	80
3.2.2. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Klorofil Miktarları Üzerine Etkileri	86
3.2.3. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri	87
3.2.4. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Prolin İçeriği Üzerine Etkileri	89
3.2.5. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Toplam Protein İçeriği Üzerine Etkileri	90
3.2.6. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri.....	92
3.2.7. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının <i>P5CS</i> , <i>SOD</i> , <i>CAT</i> ve <i>APX</i> Gen İfadeleri Üzerine Etkileri	96
3.3. Öneriler.....	100
KAYNAKÇA	104
EKLER.....	125

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Ayçiçeğinde qPZR için kullanılan primerler ve nükleotit dizileri	42
Tablo 2.2. Kanolada qPZR için kullanılan primerler ve nükleotit dizileri	42
Tablo 2.3. Kantitatif gerçek zamanlı PZR bileşenleri	43
Tablo 2.4. Kantitatif gerçek zamanlı PZR sıcaklık döngüsü	43



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Ayçiçeği bitkisi	1
Şekil 1.2. Kanola bitkisi	3
Şekil 1.3. Bitkilerde stres yanıtı sırasında görülen farklı dinamik süreçler	6
Şekil 1.4. Bitkilerde abiyotik stres yanıtında genel sinyal yolu	7
Şekil 1.5. Bitkilerde tuz stresine karşı iki-fazlı büyüme yanıtı	10
Şekil 1.6. Bitkilerin tuzluluğa karşı biyokimyasal ve moleküler tolerans mekanizmalarını içeren yanıt ağı	15
Şekil 1.7. Bitkilerde iyon homeostazını sağlayan SOS sinyal yolu ve vakuolar kompartımanlaşma	17
Şekil 1.8. Bitkilerde ROS'un hücrel ve moleküler hasarı.....	21
Şekil 1.9. Bitkilerde enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar	22
Şekil 2.1. Ayçiçeği ve kanolaya ait saksıların deney gruplarına göre şematik gösterimi.....	34
Şekil 2.2. Ayçiçeği ve Kanolada 7. uygulama sonunda tuz (NaCl) ve tuzla birlikte uygulanan ekzojen sükröz gruplarına ait saksı görüntüleri.....	35
Şekil 3.1. Tuz ve ekzojen sükröz uygulanan ayçiçeği bitkisinde 7. uygulama sonunda saksı görüntüleri	44
Şekil 3.2. Tuz ve ekzojen sükröz uygulanan kanola bitkisinde 7. uygulama sonunda saksı görüntüleri	45
Şekil 3.3. Ayçiçeği ve kanola yapraklarından izole edilen RNA'ların agaroz jel görüntüleri.	71

GRAFİKLER LİSTESİ

Sayfa No

Grafik 3.1. Ayçiçeği örneklerine ait gövde ve kök uzunlukları	46
Grafik 3.2. Kanola örneklerine ait gövde ve kök uzunlukları	47
Grafik 3.3. Ayçiçeği örneklerine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları	48
Grafik 3.4. Kanola örneklerine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları	49
Grafik 3.5. Ayçiçeği örneklerine ait gövde yaş ve kuru ağırlıkları	50
Grafik 3.6. Kanola örneklerine ait gövde yaş ve kuru ağırlıkları	51
Grafik 3.7. Ayçiçeği örneklerine ait gövde ve kök biyokütleleri	52
Grafik 3.8. Kanola örneklerine ait gövde ve kök biyokütleleri	53
Grafik 3.9. Ayçiçeği örneklerine ait tolerans indeksleri	54
Grafik 3.10. Kanola örneklerine ait tolerans indeksleri	55
Grafik 3.11. Ayçiçeği örneklerine ait klorofil miktarları	56
Grafik 3.12. Kanola örneklerine ait klorofil miktarları	58
Grafik 3.13. Ayçiçeği örneklerine ait MDA içerikleri	59
Grafik 3.14. Kanola örneklerine ait MDA içerikleri	60
Grafik 3.15. Ayçiçeği örneklerine ait prolin içerikleri	61
Grafik 3.16. Kanola örneklerine ait prolin içerikleri	62
Grafik 3.17. Ayçiçeği örneklerinin toplam protein miktarı	63
Grafik 3.18. Kanola örneklerinin toplam protein miktarı	64
Grafik 3.19. Ayçiçeği yaprak örneklerine ait SOD aktivitesi	65
Grafik 3.20. Kanola yaprak örneklerine ait SOD aktivitesi	66
Grafik 3.21. Ayçiçeği yaprak örneklerine ait CAT aktivitesi	67
Grafik 3.22. Kanola yaprak örneklerine ait CAT aktivitesi	68
Grafik 3.23. Ayçiçeği yaprak örneklerine ait APX aktivitesi	69
Grafik 3.24. Kanola yaprak örneklerine ait APX aktivitesi	70
Grafik 3.25. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki <i>P5CS</i> mRNA seviyesi	72
Grafik 3.26. Kanola yaprak örneklerindeki <i>P5CS</i> mRNA seviyesi	73
Grafik 3.27. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki <i>SOD-Mn</i> mRNA seviyesi	74
Grafik 3.28. Kanola yaprak örneklerindeki <i>SOD-Mn</i> mRNA seviyesi	75
Grafik 3.29. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki <i>CAT</i> mRNA seviyesi	76
Grafik 3.30. Kanola yaprak örneklerindeki <i>CAT</i> mRNA seviyesi	77
Grafik 3.31. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki <i>APX</i> mRNA seviyesi	78
Grafik 3.32. Kanola yaprak örneklerindeki <i>APX</i> mRNA seviyesi	79

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

% : Yüzde

α : Alfa

β : Beta

γ : Gamma

δ : Delta

ε : Ekstinksiyon katsayısı

μl : Mikrolitre

μg : Mikrogram

μM : Mikromolar

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat Derece

ABA : Absisik Asit

APX : Askorbat Peroksidaz

AsA : Askorbat

AsA-GSH : Askorbat-Glutatyon

BSA : Sığır Serum Albümini

Ca^{+2} : Kalsiyum

CaM : Kalmodulin

CAT : Katalaz

CBL : Kalsinörin B Benzeri Protein

cDNA : Komplementer DNA

CDPK : Kalsiyum Bağımlı Protein Kinaz

CIPK : Kalsinörin B Benzeri Protein Etkileşimli Protein Kinaz

Cl⁻ : Klor

CML : Kalmodulin Benzeri Protein

cm : Santimetre

CNGC : Siklik nükleotid-kapılı iyon kanalı

CO₂ : Karbondioksit

Cu/Zn-SOD : Bakır/Çinko Süperoksit Dismutaz

DEPC : Dietil Pirokarbonat

DHAR : Dehidroaskorbat Redüktaz

dk : Dakika

DNA : Deoksiribonükleik asit

dS/m (dS m⁻¹): DesiSiemens/metre
ECe : Elektriksel İletkenlik
EDTA : Etilendiamin Tetra Asetik Asit
ESP : Değişebilir Sodyum Yüzdesi
FAD : Flavın Adenin Dinükleotit
Fe-SOD : Demir Süperoksit Dismutaz
g : Gram
GLR : Glutamat-benzeri reseptör
GPX : Guaiakol Peroksidaz
GR : Glutasyon Redüktaz
GSH : Glutasyon
GSSG : Yükseltgenmiş Glutasyon
H₂O₂ : Hidrojen Peroksit
ha : Hektar Alan
HKT : Yüksek afiniteli K⁺-taşıyıcıları
K⁺ : Potasyum
K₂HPO₄ : Dipotasyum Hidrojen Fosfat
KH₂PO₄ : Potasyum Dihidrojen Fosfat
L : Litre
MAPK : Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
MDA : Malondialdehit
MDHAR : Monodehidroaskorbat Redüktaz
Mg : Magnezyum
mg : Miligram
ml : Mililitre
mM: Milimolar
Mn-SOD : Mangan Süperoksit Dismutaz
MPa : Megapascal
mRNA : Mesajcı RNA
MUFA : Tekli Doymamış Yağ Asitleri
Na⁺ : Sodyum
NaCl : Sodyum Klorür
NaClO : Sodyum Hipoklorit
NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotid

Na₂HPO₄ : Disodyum Hidrojen Fosfat
Na₂SO₄ : Sodyum Sülfat
NBT : Nitro Blue Tetrazolyum
NHX : Vakuol membranında lokalize Na⁺/H⁺ antiporteri
nm : Nanometre
nmol : Nanomol
NO : Nitrik Oksit
NO₃⁻ : Nitrat
NSCC : Seçici Olmayan Katyon Kanalı
O₂ : Moleküler Oksijen
¹O₂ : Singlet Oksijen
O₂^{•-} : Süperoksit Radikali
OH[•] : Hidroksil Radikali
P : Fosfor
P5CS : Prolin-5-karboksilat sentetaz
PUFA : Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
PVP : Polivinilpirolidon
PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA : Ribonükleik Asit
ROS : Reaktif Oksijen Türleri
rpm : Dakikadaki Devir Sayısı
SFA : Doymuş Yağ Asitleri
sn : Saniye
SOD : Süperoksit Dismutaz
SOS (Salt Overly Sensitive) : Tuza Aşırı Duyarlı
TBA : Tiyoarbitürik Asit
TBARS : Tiyoarbitürik Asit Reaktif Madde
TCA : Trikloroasetik Asit
V-ATPaz : Vakuolar tip H⁺-ATPaz
V-PPaz : Vakuolar Pirofosfataz

1. GİRİŞ

1.1. Ayçiçeği Bitkisinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), Asteraceae diğeri bir adıyla Compositae (Papatyagiller) familyasının *Helianthus* cinsine ait tek yıllık, diploid ($2n=34$) bir bitkidir (Jocic vd., 2015: 1). Kökeni Kuzey Amerika olan ayçiçeğinin, kültüre alınması ise çok eskilere dayanmaktadır. 20. yüzyılın ortalarında Rusya'da yağ oranı daha yüksek olan verimli çeşitlerin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmalarının ardından yağlık çeşitleri önem kazanmıştır ve günümüzde ağırlıklı olarak Karadeniz bölgesinde yetiştirilmektedir (Kaya vd., 2012: 86-87).

Ayçiçeği (*H. annuus* L.), kökleri 150-250 cm derinliğe kadar inebilen oldukça sağlam kazık bir kök yapısının yanında ana kök üzerinden çıkan 30-60 cm derinlikteki saçak kökleri sayesinde toprağı sıkıca kavramaktadır. Boyu 0,5-5 metre arasında değişen üzeri tüylü ve oldukça kuvvetli dik bir gövde sapı ile buna bağlanan yeşil, uzun ve oval yapraklara sahiptir ve bitki sapının üzerinde çoğunlukla 15-30 cm çapında etsi kalın ve yuvarlak bir çiçek tablası bulundurur. Güneş yönüne göre hareket eden bu tablanın iç kısmında, meyve veren çiçekler mevcutken dış kısmında da tozlaşma için böcekleri çeken iri ve güzel görünümlü kısır çiçekler bulunur (Şekil 1.1). Ayçiçeğinin tohumları ise, beyaz, gri, siyah veya alaca renkli odunlaşmış bir kabuk içindedir. Yağlı olan çeşitlerin tohumları daha küçük olurken çerezlik amaçlı kullanılan çeşitlerin tohumları ise genelde daha büyüktür (MEGEP, 2013: 5-7).



Şekil 1.1. Ayçiçeği bitkisi

Kaynak: (Planteset, 2021)

Bol güneş ve yüksek sıcaklığı seven ayçiçeği (*H. annuus* L.), tohumlarının çimlenmesi için 8-10 °C arasında değişen bir toprak sıcaklığına ihtiyaç duyar. Çiçeklenme döneminde ise en uygun hava sıcaklığı 21-24 °C arasındır. Taban suyu yüksek ve asitli topraklar dışında pH'ı 6,5-7,5 olan, drenajı iyi, su tutma kapasitesi yüksek, nemli ve humuslu topraklar ayçiçeğinde daha iyi bir verim alınabilmesi için oldukça idealdir. Bunun dışında tuzluluk direnci orta seviye olan ayçiçeği, derin ve kazık kök yapısı sayesinde kumludan killiye kadar yapısı değişik pek çok toprak bünyesinde yetiştirilebilir (MEGEP, 2013: 7-8; Kaya, 2013b: 21-22).

Tek yıllık bir ayçiçeği tohumu, içeriğinde %23-24 protein ve %47-50 yağ bulundurmaktadır (Aransiola vd., 2019: 64-65). Yapısında içerdiği önemli miktardaki (530-700 ppm) tokoferol sayesinde hem tohumu hem de yağı, iyi bir E vitamini kaynağıdır (Woodfield ve Harwood, 2016: 38). Dünyada palm, soya ve kanoladan sonra dördüncü en büyük bitkisel yağ kaynağı olan ayçiçeği, düşük SFA (Doymuş Yağ Asitleri) içeriği ve oldukça yüksek linoleik asit (omega-6 PUFA-Çoklu Doymamış Yağ Asitleri) değerine sahiptir (Khurana ve Singh, 2021: 123,128). Ayçiçeğinden elde edilen yağın toplam üretiminin yaklaşık %90'ı insan tüketimi için kullanılırken, sadece %10'u biyodizel ve endüstriyel amaçlar için kullanılmaktadır (Jocic vd., 2015: 2). Ayçiçeği tohumları öğütüldükten sonra kalan küspesi ise, besi ve kümes hayvanlarının yemlerinde sıklıkla kullanılan yüksek proteinli bir ürün olarak tercih edilmektedir.

Ayçiçeği tohum yağı üretiminde, dünyada ilk dört sırayı sırasıyla Ukrayna, Rusya, Türkiye ve Arjantin paylaşmaktadır (FAO, 2020). Türkiye'de ayçiçeğine ait veriler yağlık ve çerezlik olmak üzere iki farklı şekilde sunulmaktadır. 2022 TÜİK verilerine göre, Türkiye'de yağlık ayçiçeği tohumu üretimi en fazla Batı Marmara bölgesinde yapılırken Orta Anadolu bölgesinde ise en fazla çerezlik ayçiçeği tohumu üretimi gerçekleştirilmektedir. İl bazında ise sırasıyla Tekirdağ, Edirne, Konya, Kırklareli ve Adana yağlık ayçiçeği tohumu üretiminin en fazla yapıldığı iller iken Konya, Aksaray ve Kayseri ise çerezlik ayçiçeği tohumu üretiminde öncü gelen illerdir (TÜİK, 2022).

1.2. Kanola Bitkisinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları

Kolza (*Brassica napus* L.), Brassicaceae familyasının *Brassica* cinsine ait kromozom sayısı 2n=38 olan tek yıllık, otsu yapıda bir yağ bitkisidir. Hibrit bir tür olan kolza (*B. napus* L.), diploid türler olan *Brassica rapa* ve *Brassica oleraceae* arasında doğada kendiliğinden gerçekleşen hibridizasyon olayı sonucu ortaya çıkmıştır ve iki diploid genom içerdiği için

amfidiplloid bir tür olarak kabul edilmektedir. Yazlık ve kışlık çeşitleri mevcut olan kolzanın Avrupa, Doğu Kanada, ABD ve Çin'in de dahil olduğu pek çok ülkede genellikle kışlık çeşitleri tercih edilmektedir. Ülkemizde de çoğu bölgede kışlık kolza tarımı yapılmaktadır (Doğru, 2020: 30-31; Woodfield ve Harwood, 2016: 34-35).

Tarihsel olarak bakıldığında kolza, Orta Çağlar'dan beri Avrupa'da aydınlatma amacıyla lamba yağı olarak ve kısmen de olsa yemeklik yağı olarak kullanılmıştır. Ancak kolza yağının insanlar tarafından tüketimi, yapısında içerdiği yüksek miktarda erusik asit ve glukosinolat nedeniyle sağlıklı görülmemiştir. 1970'lerde Kanada'da yapılan yoğun ıslah çalışmaları neticesinde ise yeni bir çeşit geliştirilerek kolzanın bitkisel yağ olarak kullanımı sağlanmıştır. 'Kanola' adı verilen bu yeni çeşit, yağında %2'nin altında erusik asit ve küspesinde 30 $\mu\text{mol/g}$ 'den daha düşük miktarda glukosinolat içermektedir (Doğru, 2020: 32).

Kanola (*B. napus* L.), kökleri toprakta 100-120 cm derine inebilen ve yanlara doğru ise 50-80 cm yayılabilen bir kök yapısına sahiptir. Boyu 150-160 cm'e çıkabilen kanola, dik, sert yapılı ve dayanıklı bir gövde sapına sahiptir. Dallı yapıdaki bu saptan koyu yeşil-mavimsiye renkte yapraklar oluşur ve alttaki yaprak büyük ve yırtmaçlı bir yapıda olup üstteki yapraklar daha dar ve uzun bir yapıdadır. Şemsiye salkım şeklinde ve açık sarı renkte çiçekleri olan (Şekil 1.2) kanolanın tohumları ise, kapsül içindedir. Tohumlar, rengi koyu kahveden siyaha kadar değişen yuvarlak ve küçük bir yapıdadır (MEGEP, 2016: 13-14).



Şekil 1.2. Kanola bitkisi

Kaynak: (NC State Extension Plant Toolbox, 2020)

Yağış alan ılık iklimlerden hoşlanan kanola, büyüme döneminde nemli bir havaya ihtiyaç duyar. Kışlık kanola, yıllık ortalama 5-27 °C sıcaklıklarda kolayca yetiştirilebilir. Kısa kuvvetli bir kök yapısı oluşturup rozetleşmesini tamamlayarak girerse kar örtüsü altında -15 °C soğuklara dayanabilmektedir. Kumlu ve hafif topraklar dışında pH'ı 6-7 arasında değişen verimli, drenajı iyi, humus ve kireç yönünden zengin, nötr ve alkali topraklar yetiştirilmesi için idealdir (MEGEP, 2016: 30).

Kanola, dünyada palm ve soya yağından sonra bitkisel yağ üretiminin üçüncü en büyük kaynağıdır (Zhou vd., 2020: 4). Kanola yağı, düşük SFA (Doymuş Yağ Asitleri) içeriği, yüksek MUFA (Tekli Doymamış Yağ Asitleri) ve oleik asit içerikleri, faydalı bir omega-3 PUFA (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri) profili ve oldukça dengeli N-6:N-3 (2:1) oranından dolayı insan tüketimi için en sağlıklı yağlardan biri olarak kabul edilir. Kanola tohumu, içeriğinde yaklaşık olarak %40-45 yağ ve %19-28 protein içermektedir. Tohumu, beslenme amaçlı yağ üretiminde veya biyodizel amacıyla kullanılırken, küspesi ise proteince zengin hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Yaprakları ise esas olarak Asya'da sebze olarak veya yine hayvan yemi olarak tüketilirken, kurutulmuş sapları ise evlerde yakacak olarak tercih edilebilmektedir (Jahreis ve Schäfer, 2011: 968-969; Goyal vd., 2021: 51, 54).

Kanada, kolza tohumu veya kanola yağı üretiminde dünyada ilk sırada yer alırken bunu Almanya, Çin, Hindistan, Fransa ve Polonya izlemektedir (FAO, 2020). Türkiye'de kolza/kanola tohumu üretimine bakıldığında, 10 yıllık bir süreçte yaklaşık 49,000 ton artış sağlanarak 2021 yılında 140,000 ton üretim gerçekleştirilmiştir. 2022 yılında ise, Türkiye'de kolza/kanola tohumu üretimi bir önceki yıla göre artış göstererek 150,000 tonu bulmuştur. 2022 TÜİK verilerine göre, Türkiye'de kolza/kanola tohumu üretimi ve ekilen alanı en fazla Batı Marmara bölgesinde yapılırken bu sırayı Batı Anadolu ve Doğu Marmara bölgeleri takip etmektedir. İl bazında ise 30,387 tonla Edirne ilk sırada yer alırken sırasıyla Tekirdağ, Konya ve Kırklareli illeri kolza/kanola tohumu ekiminin ve üretiminin en fazla yapıldığı iller olarak tespit edilmiştir (TÜİK, 2022).

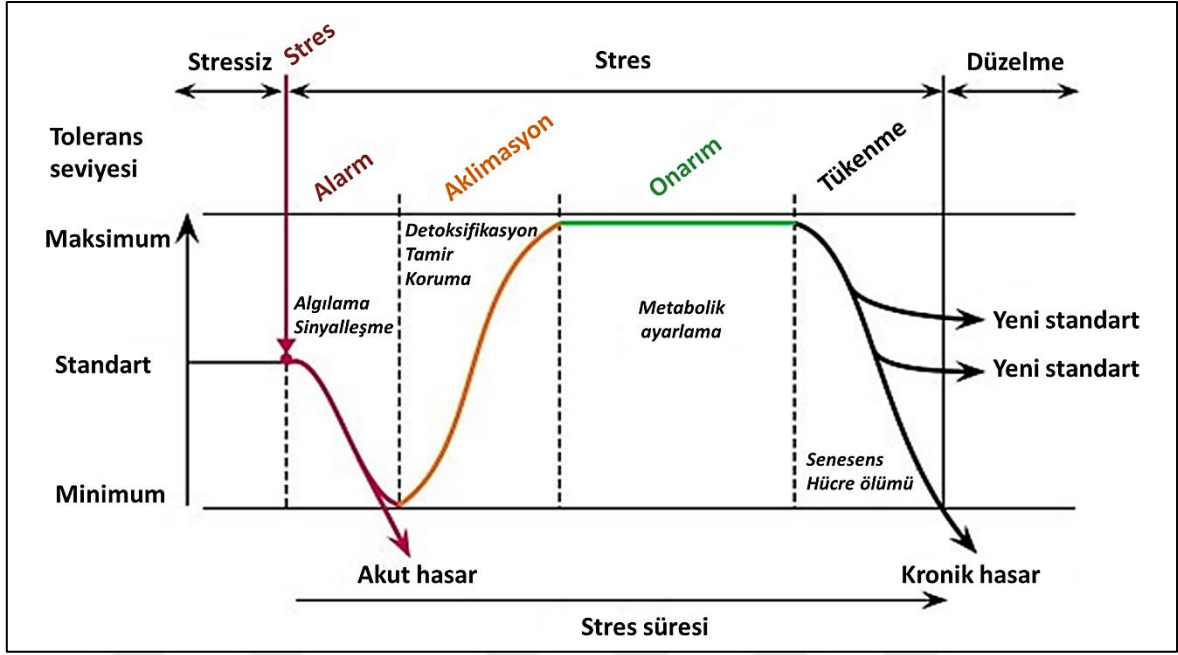
1.3. Bitkilerde Abiyotik Stres

Bitkiler, yaşamlarını elverişli ya da elverişsiz birçok ekolojik faktöre maruz kaldıkları, sürekli değişen ortamlarda geçirirler. Olumsuz çevresel koşullar, bitkilerde büyüme, metabolizma ve gelişimi engelleyen bir uyarıcı olan 'stres' neden olur. Stres, bitkilerin büyüdüğü optimum koşullardan önemli bir sapma olarak kabul edilir ve onların büyüme, gelişme ve üreme için gerekli tam genetik potansiyellerini ifade etmelerini engelleyen aşırı güçlü bir baskıyı temsil eder (Fritsche-Neto ve DoVale, 2012: 14; Saharan vd., 2022: 1).

Bitkiler, biyotik ve abiyotik olarak sınıflandırılan iki tip ekolojik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Böcekler, herbivorlar, nematodlar, mantarlar, virüsler, bakteriler veya yabancı otlar gibi yaşayan organizmaların neden olduğu hasar, hastalık ve enfeksiyonlar bitkilerde 'biyotik' strese neden olurken düşük veya yüksek sıcaklık, kuraklık, su baskını, yüksek tuzluluk, ağır metaller, ultraviyole (UV) radyasyon, mekanik yaralanmalar ve besin eksikliklikleri gibi pek çok fiziksel veya kimyasal faktör ise bitkilerde 'abiyotik' strese yol açar (Umar vd., 2021: 1-2).

Abiyotik stresler, bitkilerde gen ekspresyonu ile hücresel metabolizmadaki değişiklikleri içeren pek çok yanıtı tetikleyebilir. Bitkilerin abiyotik streslere karşı yanıtları, dinamik ve karmaşık olup bunlar hem geri dönüşümlü hem de geri dönüşümsüz şekilde olabilir. Bitkinin strese verdiği yanıtlar, stresten etkilenen doku veya organa bağlı olabildiği gibi stresin seviyesi ile süresi de (akut veya kronik) bu oluşturulan yanıtların karmaşıklığı üzerinde etkilidir. Ayrıca, bitkinin genotipi ve hangi gelişim aşamasında bulunduğu da strese karşı oluşturulan bitki yanıtlarını etkiler. Sonuç olarak farklı koşullardaki bir kombinasyon, aynı strese karşı bitkilerin farklı yanıtlar göstermesine neden olabilir (Cramer vd., 2011: 2-3; Fritsche-Neto ve DoVale, 2012: 14).

Bitkiler strese, birkaç aşamasının ayrılabildiği dinamik bir süreçle (alarm, aklimasyon, onarım, tükenme ve düzelme) yanıt verir (Şekil 1.3). Strese maruz kalmadan önce bitki, fizyolojik bir standart koşuldadır. Stres başladığında bitki, stres yanıtının erken aşaması olan bir alarm fazına geçer. Bu faz, algılama ve sinyalleşme ile ilgilidir. Bitkinin canlılığının azaldığı ve tolerans seviyesinin minimum olabildiği bu aşamada, çeşitli sinyal yolları indüklenir. Eğer stres çok yüksekse ve bitki düşük tolerans mekanizmalarına sahipse, akut hasar ve senesens meydana gelebilir. Bitki, hayatta kalırsa ardından detoksifikasyon, onarım ve koruma aktivasyonu ile ilişkili bir aklimasyon aşamasına geçer. Bu aşama bitkide strese karşı maksimum dirençli yeni bir fizyolojik standarda karşılık gelir ve bu faz stabilize edilebilir, böylece bitki derin metabolik yeniden düzenlemelerle sonuçlanan bir onarım fazına geçer. Bitki bu fazı sürdüremezse, canlılığı azalır ve hücre ölümüne yol açan kronik hasar meydana gelir. Bu, geri dönüşü olmayan zararların meydana geldiği tükenme aşamasıdır. Ancak senesens başlamadan önce stres etkeni ortadan kaldırılırsa, yeni fizyolojik tepkilere yol açan bir düzelme veya rejenerasyon fazı gözlemlenebilir (Cabane vd., 2012: 223-224).



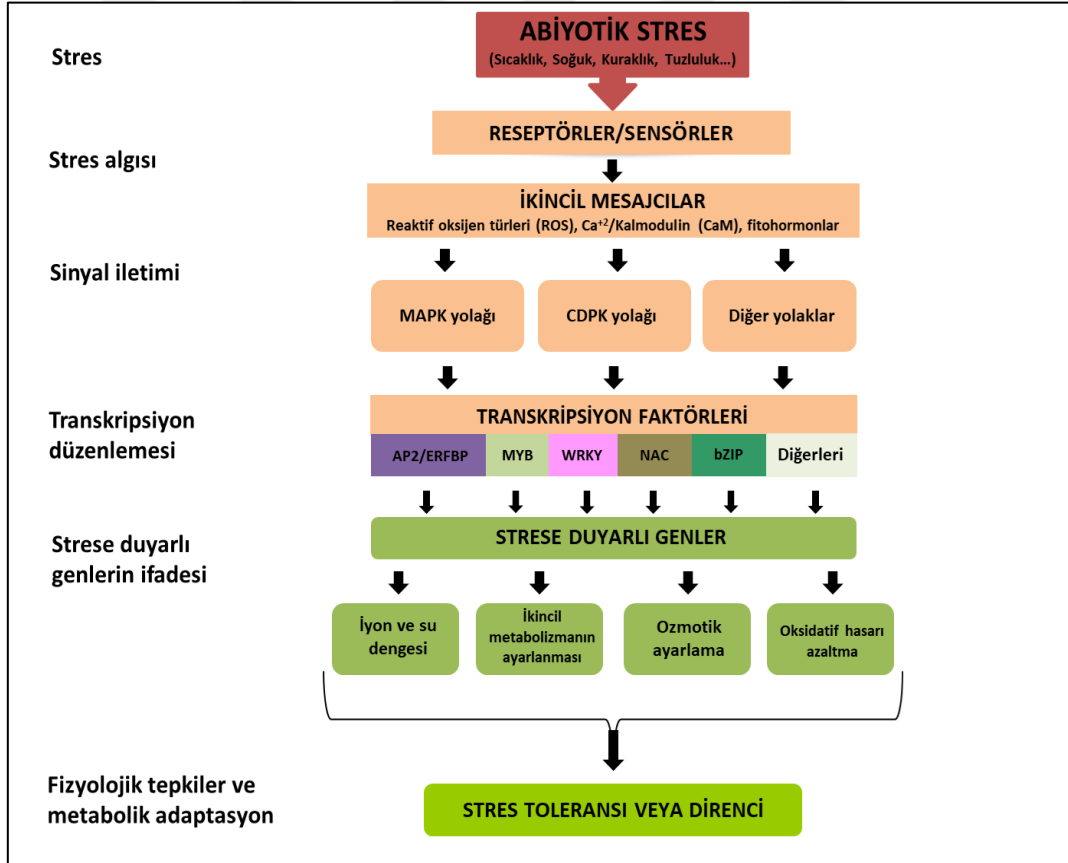
Şekil 1.3. Bitkilerde stres yanıtı sırasında görülen farklı dinamik süreçler

Kaynak: (Cabane vd., 2012: 224)

Abiyotik stresler, bitkilerde azalmış CO_2 asimilasyonu, düşük prolin ve klorofil içerikleri gibi birçok ozmotik etkilere yol açar. Bu abiyotik streslerin ikincil sonuçları ise daha kompleks olup nükleik asitler, membranlarda ve lipidlerde bulunan proteinler gibi çeşitli hücrel bileşenlere zarar veren oksidatif stresleri içerir (Saharan vd., 2022: 2). Proteinlerin denatürasyonu, enzimlerin inaktivasyonu, DNA hasarı, membran lipidlerinin akışkanlığının ve membran bütünlüğünün bozulması abiyotik streslerin neden olduğu hücrel hasarların bir kısmıdır (Kumar, 2020: 371). Bitkiler, bu tür koşullar altında hayatta kalabilmek için strese uyum sağlamaya (adaptasyona) veya stresten kaçınmaya olanak tanıyan bazı karmaşık mekanizmalar geliştirmişlerdir. Hücrel düzeyde membran sisteminin ayarlanması, hücre duvarının yapısında modifikasyonlar, hücre döngüsü ile hücre bölünmesindeki değişiklikler ve spesifik düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin (salisilik asit, jasmonik asit, etilen gibi) sentezini içeren bu mekanizmalar sayesinde bitkiler strese karşı en uygun yanıtları oluşturmayı sağlar (Onaga ve Wydra, 2016: 168).

Abiyotik stres koşulları altında bitkiler, çoğunlukla stomalar aracılığıyla su kaybını en aza indirecek mekanizmalarını harekete geçirir, ancak bu durum CO_2 alımı ve fiksasyonu azaltarak bitkilerin fotosentetik kabiliyetini etkiler, dolayısıyla ROS üretimi ve oksidatif hasar insidansında bir artışa yol açar. Bu nedenle, bitkilerin abiyotik strese karşı oluşturduğu esas metabolik yanıtlar, su kaybı (ozmolitlerin biyosentezini indükleyerek) ve oksidatif hasar

(antioksidan bileşiklerin biyosentezini indükleyerek) ile başa çıkmaya yönelik olur (Arbona vd., 2017: 1). Bitkilerin büyümeleri ve hayatta kalabilmeleri, stres uyaranına yanıt vererek sinyal üretebilme ve uygun biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikleri başlatabilme yeteneklerine bağlıdır. Abiyotik streslerin aktive ettiği reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, redoks potansiyelindeki veya hücrel Ca^{+2} iyon seviyesindeki değişiklikler ve iyon homeostazının bozulması gibi çeşitli savunma sinyalleri, bitki hücrelerindeki spesifik reseptörler tarafından algılanır ve hücre içi akış aşağı sinyal iletim yollarına iletilir. Çeşitli sinyal kaskadları aktive edilerek spesifik gen ekspresyonunun tetiklenmesi için nükleer transkripsiyon faktörleri uyarılır. Böylece uygun transkripsiyon düzenlemesi ile strese yanıt oluşturularak homeostatik düzen yeniden kurulur ve strese tolerans sağlanmış olur (Şekil 1.4) (Wang vd., 2016: 2-3; Chi vd., 2019: 2; Saharan vd., 2022: 1).



Şekil 1.4. Bitkilerde abiyotik stres yanıtında genel sinyal yolu

Kaynak: (Wang vd., 2016: 3; Khan vd., 2018b: 2)

1.3.1. Tuz Stresi

Özellikle karasal ekosistemin vazgeçilmez materyallerinden biri olan toprak, bitkilerin büyüme ve gelişimi için gerekli besin ve mineral elementleri sağlamaktadır. Ancak, bazen doğal faktörlerle veya tarımsal, endüstriyel ve antropojenik faaliyetlerle toprağın doğal yapısı değişerek toprakta ‘tuzlanma’ durumu gözlemlenebilmektedir (Singhal vd., 2021: 2).

Suda çözünebilen tuzların iyonlarının toprakta aşırı birikmesi ile meydana gelen toprak tuzluluğu, dünya toplam karasal alanının %6’sından fazlasına karşılık gelerek dünya üzerinde 800 milyon hektardan fazla toprağı etkileyen oldukça önemli bir sorundur (Isayenkov, 2012: 302-303). Dünyada sulanan mevcut 230 milyon hektar alanın yaklaşık olarak %20’si (45 milyon hektarı) tuzdan etkilenmekte olup bu durum, özellikle bitki ve mahsullerde verimliliği kısıtlamaktadır (Parihar vd., 2015: 4056-4057). Türkiye’de ise, yaklaşık 1,5 milyon hektar alanda tuzluluk sorunu baş gösterirken bunun yaklaşık %32,5’i sulanabilir arazilerdir (Ekmekçi vd., 2005: 118).

Bünyesinde yüksek konsantrasyonlarda çözünür tuza sahip, elektriksel iletkenliği (ECe) 4 dS m⁻¹’den (40 mM NaCl’ye eşdeğer) fazla olan topraklar ‘tuzlu’ olarak kabul edilmektedir. Bu topraklar, yaklaşık 0,2 MPa’lık bir ozmotik basınç oluşturur ve 8,5’ten düşük bir pH değeri ile %15’in altında değişebilir sodyum yüzdesine (ESP) sahiptir. Çözünür tuzlar arasında, topraktaki tuzluluğa katkıda bulunan esas bileşen ise NaCl’dir (Javid vd., 2011: 193; Bojórquez-Quintal vd., 2012: 13616).

İklimsel değişiklikler, drenaj, sulama suyu kalitesi, çeşitli tarımsal uygulamalar (gübreleme ve pestisit kullanımı) gibi birçok çevresel ve antropojenik faktör, toprağın tuzlanmasında etkin rol oynar. Topraktaki tuzluluk, tuzluluğun kaynağına göre, birincil ve ikincil olarak sınıflandırılır. Genel olarak, toprakta tuzların doğal süreçlerle birikmesi ‘birincil’ tuzluluktur. Birincil tuzluluk, kayaların doğal parçalanma süreçlerinin bir sonucu olarak sodyum, kalsiyum ve magnezyum klorürleri, sülfatlar ve karbonatlar gibi çözünür tuzların toprak çözeltilisine karışmasıyla ve rüzgar/yağmur tarafından getirilen deniz tuzunun toprakta birikmesiyle oluşur. Bu süreçte en kolay taşınan tuz, sodyum klorürdür. Öte yandan, ikincil tuzluluk ise doğal kaynakların yönetiminin bir sonucu olarak ortaya çıkar ve çok yıllık mahsullerin tek yıllık mahsullerle değiştirilmesi, yüksek konsantrasyonda tuz içeren sulama sularının kullanılması ve tamamen toprak tuzluluğunu artıran kimyasal gübrelerin irrasyonel kullanımı gibi çeşitli insan faaliyetlerinden kaynaklanır (Isayenkov, 2012: 303; Gamalero vd., 2020: 1; Giordano vd., 2021: 16).

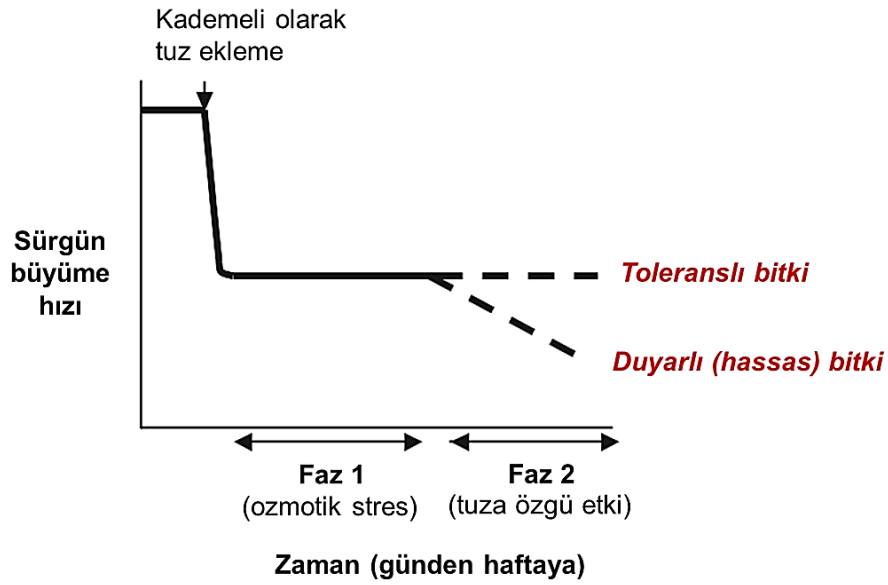
Tuzluluk, özellikle kurak ve yarı-kurak iklim bölgelerinde önemli bir sorun teşkil eder. Yetersiz yağış, yüksek buharlaşma, tuz içeren tortuların varlığı ve sığ, tuzlu yeraltı sularının birleşik etkisi toprakların tuzlanmasına neden olur. Ayrıca iyi bir drenaj sisteminin olmaması sorunu daha da ağırlaştırabilir (Nawaz vd., 2010: 5475; de Oliveira vd., 2013: 69).

Topraktaki tuzluluk esas olarak NaCl, Na₂SO₄ gibi nötr tuzlardan kaynaklanır, ancak Ca, Mg ve K'nın karbonatları ve sülfatları da büyük miktarlarda birikebilir (Gamalero vd., 2020: 2; Fang vd., 2021: 1). Tuz stresi, Na⁺, Cl⁻ gibi fazla minerallerin bitkiler üzerinde oluşturduğu olumsuz etkiler sonucu ortaya çıkar (Parihar vd., 2015: 4056). Toprak tuzluluğu, tohum çimlenmesi, fide gelişimi, çiçeklenme ve meyve oluşumu dahil olmak üzere bitkilerin morfolojileri ve fizyolojileri üzerinde çok sayıda yıkıcı etki gösterir ve bitki büyümesi ile verimliliğini sınırlar (Shahzad vd., 2019: 61; Zhao vd., 2021: 1). Yüksek tuzluluk, bitkilerde su stresi, iyon toksisitesi, beslenme bozuklukları, oksidatif stres, membran düzensizliği, metabolik süreçlerin değişmesi, genotoksisite ve hücre bölünmesi ve genişlemesinde azalma gibi pek çok biyokimyasal ve moleküler değişikliklere sebep olur ve bitkilerde fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması gibi tüm ana süreçleri etkiler (Carillo vd., 2011: 21).

Toprak tuzluluğu, bitkileri esas olarak iki şekilde etkiler. Bir yandan, bitki köklerinin etrafındaki su potansiyelini azaltıp suyun kök emilimini sınırlayarak bitkileri fizyolojik kuraklığa, yani ozmotik strese sokar. Öte yandan çeşitli kanal ve taşıyıcı proteinler yoluyla doğrudan hücreye giren sodyum ve klor iyonları, bitki dokularında birikerek iyon toksisitesi ile besin dengesizliklerine neden olur ve bitkilerde bir iyonik stresi tetikler. Bu yönlerin her ikisi de bitkilerde çeşitli metabolik bozukluklara neden olabilir. (Fang vd., 2021: 1-2).

Tuzluluğun bitkiler üzerindeki etkisi, ozmotik stres ve spesifik iyon toksisitesini içeren 'iki-fazlı büyüme yanıtı' ile daha net anlaşılır (Şekil 1.5). Bu yanıtta, genç yaprakların büyümesini baskılayan hızlı bir ozmotik faz ve yüksek tuz birikimi nedeniyle olgun yaprakların yaşlanmasını hızlandıran daha yavaş bir tuza özgü (iyon toksisitesi) faz olmak üzere iki ana aşama bulunur. İlk aşama, hücre-su ilişkilerinde değişikliklere neden olan kök dışındaki ozmotik değişikliklerden kaynaklanır. Bitkinin su emme yeteneğini azaltan bu fazda (ozmotik stres), dakikalar ila günler içinde iyon etkisinden bağımsız bir büyüme azalması gerçekleşir, bu da stomaların kapanmasına ve özellikle de sürgünde hücre genişlemesinin engellenmesine neden olur. İkinci aşama ise, günler hatta haftalar içinde gerçekleşir ve metabolik süreçleri yavaşlatan, erken yaşlanmaya (senesense) ve nihayetinde hücre ölümüne neden olan sitotoksik iyon seviyelerinin birikmesiyle ilgilidir. Tuza özgü bu fazda, tuz

toksitesitesi özellikle yaşı yapraklarda senesense neden olabilir ve toplam fotosentetik yaprak alanını azaltabilir. Sonuç olarak, bitkiye fotosentat arzında bir azalışa neden olur ve büyüme için gerekli genel karbon dengesini etkiler. Bu iki fazlı modele göre, hem tuza duyarlı hem de tuza toleranslı bitkiler için ilk büyüme düşüşü, köklerin dışındaki ortamda bulunan tuzların ozmotik etkisinden kaynaklanır. İkinci aşamadaki durum ise, tuza duyarlı türlerin yapraklarındaki toksik tuz birikmesini engelleyememesinden dolayı tuza toleranslı olanlardan farklıdır (Läuchli ve Grattan, 2007: 3-4; Isayenkov ve Maathuis, 2019: 1).



Şekil 1.5. Bitkilerde tuz stresine karşı iki-fazlı büyüme yanıtı

Kaynak: (Läuchli ve Grattan, 2007: 3)

1.3.1.1. Ozmotik Stres ve Bitki-Su İlişkileri

Toprak çözeltisindeki çözünmüş tuz iyonları, bitki kökleriyle yakın temas halindedir. Bu tuz iyonlarının yüksek seviyeleri, toprak suyunun ozmotik potansiyelini azaltarak bitki kök hücreleri ile toprak çözeltisi arasındaki su potansiyelinde bir dengesizliğe neden olur. Bu durum, bitki kök hücrelerinde hızlı ve doğrudan etkiler oluşturarak bitkilerde ozmotik (su eksikliği) stresi indükler. Ozmotik stres, bitki hücreleri için gereken su mevcudiyetini azaltır ve topraktan su alımının azalmasına sebep olarak hücrelerde dehidrasyona yol açar. Ayrıca, tuzluluk koşullarında tuz iyonlarının artan aktivitesi, ozmotik potansiyelin azalmasına ve bitki hücrelerine pasif tuz iyonu penetrasyonuna neden olur (Kosová vd., 2013: 6758, 6762). Tuz stresinden kaynaklı ozmotik etki, absisik asidin (ABA) sentezini ve birikmesini de indükleyerek bitkilerde stomaların kapanmasına neden olur. Stomaların kapanması,

transpirasyon (terleme) oranı ve karbon alımını düşürür, bu da fotosentetik aktivitenin azalmasına neden olur. Bitki hücrelerinde nispi su içeriği, yaprak su potansiyeli, ozmotik potansiyel ve transpirasyon oranında azalmaya yol açan ozmotik stres, yaprakların ve gövdelerin plastik büyümesiyle ilişkili bir kuvvet olan turgor basıncını da etkiler. Tuzluluk koşullarında azalan turgor potansiyeli, hücre bölünmesi ve hücre uzaması ile ilişkili olan yaprak genişlemesini etkileyerek fotosentezin azalmasına sebep olur (Nayidu vd., 2013: 250; Shahzad vd., 2019: 64-65).

1.3.1.2. İyon Toksisitesi ve Besin Dengesizliği

Bitkilerin yaprak gibi sürgün kısımları köklere kıyasla sodyuma karşı daha hassastır ve bu kısımlarda daha yüksek konsantrasyonlarda sodyum (Na^+) ve klor (Cl^-) iyonları birikmektedir. Bu nedenle toprakta bulunan tuz iyonları, bitki kökleri tarafından alınarak ksilemdeki transpirasyon akışıyla sürgünlere uzun mesafeli olarak taşınır. Yaprak gibi dokularda tuz iyonlarının toksik bir şekilde birikimi de, bitkiler için çeşitli ozmotik ve metabolik sorunlara yol açan spesifik iyon toksisitesiyle sonuçlanır (Tester ve Davenport, 2003: 504). Bitki dokularında biriken aşırı Na^+ iyonu, hücre zarına ve bitki organellerine zarar vererek bitkilerde hücre ölümüne neden olabilir (Hussain vd., 2019: 5). Sitozolde yüksek Cl^- birikimi ise, bitkilerde toksik bir radikal patlamaya yol açabilir ve fotosentezi engelleyerek kloroplast homeostazını bozabilir. Yapraklarda Cl^- toksisitesinin ilk belirtileri, genellikle nekrotik lezyonlara dönüşebilen klorotik renk değişimleridir ve nihayetinde yaprak uçlarının yanması ve yaprakların solmasıdır (Geilfus, 2018: 877, 883).

Toprakta NaCl gibi çözünür tuzların aşırı varlığı, bitkiler için gerekli olan mineral besin maddelerinin bitkiye alımını sınırlar. Na^+ ve Cl^- iyonları, potasyum (K^+), kalsiyum (Ca^{+2}), fosfor (P), magnezyum (Mg) ve nitrat (NO_3^-) gibi diğer besinlerle rekabet ederek bu besinlerin bitkiye alımını azaltmakta ve bitkilerde besin eksiklikleri veya dengesizliklerine neden olmaktadır (Javid vd., 2011: 194; Parihar vd., 2015: 4059). Na^+ toksisitesi, bitkilerde çoğunlukla K^+ ve Ca^{+2} eksikliklerine yol açarken, Cl^- toksisitesi ise nitrat alımını kısıtlayarak bitkilerde NO_3^- eksikliğine neden olmaktadır (Grattan ve Grieve, 1992: 275).

Bitkiler, normal hücresel fonksiyonları için sitozollerinde genelde nispeten yüksek bir K^+ konsantrasyonu ve nispeten düşük bir Na^+ konsantrasyonuna sahiptir. Sodyum (Na^+) iyonunun, sitozolde 10 mM'den daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması çoğu bitki hücresi için oldukça zararlı iken, temel hücresel katyon olan potasyum (K^+) iyonunun ise sitozolde 100-200 mM aralığında bulunması verimli bir metabolik işleyiş için gereklidir. Potasyum, bitkilerde hücre turgoru, zar potansiyeli ile zar bütünlüğünün korunması ve sitozelde 50'den

fazla enzimin aktivasyonunda kritik önem arz eden hücrel bir katyon ve besin elementidir. Kök yüzeyindeki sodyum iyonları, benzer kimyasal özelliklerinden dolayı potasyum ile rekabet ederek bitkiye potasyumun alınmasını engeller ve bitkilerde K^+ eksikliğine neden olur. Dahası, sitozelde biriken fazla Na^+ iyonları, K^+ 'nın hücrel bağlanma yerlerini alarak birçok enzimin ve proteinin aktivitesini azaltır veya engeller (Kader ve Lindberg, 2010: 233; Park vd., 2016: 449; Narsing Rao vd., 2019: 425). Kök bölgesindeki artan $NaCl$ konsantrasyonları nedeniyle hücrel K^+/Na^+ oranındaki azalış, biyokütle birikimi dahil olmak üzere çeşitli metabolik ve fizyolojik süreçleri etkileyerek bitkilerde iyonik bir dengesizlik yaratır. Bu nedenle, metabolik olarak aktif bir doku içinde yüksek bir K^+/Na^+ oranının sürdürülmesi, iyonik homeostazın sağlanması ve tuza direnç gösterilmesi açısından esastır (Nayidu vd., 2013: 251; Chakraborty vd., 2018: 328).

Bitki büyüme ve gelişimi, ozmotik dengenin korunması, membran stabilitesi ve hücre içi sinyalleşme için gerekli bir esansiyel besin elementi olan kalsiyum ise, biyotik ve abiyotik stres durumlarında bitki dokularının direncini artırmakta ve tuzluluk gibi çeşitli stres koşullarında önemli bir ikincil haberci molekül olarak sinyal işlevi görmektedir. Kök bölgesinde artan Na^+ konsantrasyonu, kalsiyumun (Ca^{+2}) alınması ve taşınmasını engelleyerek bitkilerde hücrel kalsiyum dengesini bozmakta ve bitkilerin büyümesini azaltmaktadır. Membrana bağlı Ca^{+2} iyonlarının yerini alarak membran bütünlüğünü bozan Na^+ 'nın bu rekabetçi inhibisyonu, hücrelerde Ca^{+2} seviyesini azaltır ve düşük bir Ca^{+2}/Na^+ oranına sebep olur. Bitkilerde yüksek bir Ca^{+2}/Na^+ oranını veren fazla Ca^{+2} konsantrasyonları sayesinde plazma membranının Na^+ 'ya geçirgenliği azalır ve yüksek Ca^{+2} seviyeleriyle hücre duvarı özellikleri değiştirilerek pasif akışla Na^+ birikiminin önüne geçilir (Kader ve Lindberg, 2010: 234; Hadi ve Karimi, 2012: 2049; Park vd., 2016: 450; Hao vd., 2021: 5).

1.3.1.3. Tuzluluğun Kloroplast ve Fotosentez Mekanizması Üzerinde Etkileri

Kloroplastlar, bitkilerin hayatta kalmasını sağlayan fotosentez gibi önemli biyokimyasal reaksiyonların gerçekleştirildiği hücrel organellerdir. (Hameed vd., 2021: 1). Fotosentezde görev alan fotosentetik pigmentler, tilakoid membran proteinleri, membran lipidleri ve çeşitli enzimler, yüksek tuzluluktan olumsuz etkilenmekte ve bu da, bitkilerin fotosentetik aktivitesinde azalmayla sonuçlanmaktadır (Hao vd., 2021: 4).

Yüksek tuzluluk, tilakoid membranlarda elektron akışını bozmakta ve hidroksil radikali ($OH^\bullet$), hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak tilakoidlerin şişmesine neden olmaktadır (Miyake vd., 2006: 224). Kloroplast zarfının kaybı, grana ve tilakoidlerin düzensizliği, plastoglobülin sayısı ve boyutunda artış, tuzluluğun

kloroplastlar üzerinde oluşturduğu önemli etkilerdendir. Tuz stresi, bitkilerde kloroplast dış membran yapısının bozulmasına, nişasta içeriğinin azalmasına, mezofil hücrelerinde tilakoid membranların ve grana lamellerinin şişmesine ve daha yüksek tuz konsantrasyonlarında grana ve tilakoidlerin yıkımına yol açmaktadır. Ancak, nişasta sentez yolunda görev alan sükroz-fosfat sentazın daha yüksek aktivitesi veya nişasta parçalanmasında görev alan enzimlerin hasar görmesiyle ilişkili olarak kloroplast stromasında nişasta birikiminde artış olabilmekte ve kloroplast boyutunun artmasına yol açan büyük nişasta taneleri görülebilmektedir (Khavari-Nejad ve Mostofi, 1998: 151; Bejaoui vd., 2016: 9-10; Acosta-Motos vd., 2017: 10-11).

Yüksek tuzluluk, klorofil, karotenoid gibi fotosentetik pigmentlerin miktarlarının ve fotosenteze katılan enzimlerin aktivitelerinin değişimine neden olarak bitkilerde fotosentetik aktiviteyi etkileyebilir (Shahid vd., 2020: 6). Tuz stresi altında, bitkilerde klorofil *a*, klorofil *b* ve karotenoid gibi fotosentetik pigmentlerin miktarlarında azalmalar görülmekte (Taïbi vd., 2016: 308) ve CO₂ fiksasyon reaksiyonlarında görev alan Rubisco (ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz) enziminin maksimum karboksilaz aktivitesinde de bir düşüş yaşanmaktadır (Shu vd., 2014: 763). Bu gibi stoma dışı kısıtlamalar, bitkilerin CO₂'ye erişimini sınırlandırarak fotosentetik aktiviteyi azaltmaktadır. Öte yandan, stoma iletkenliğinin azalması gibi stoma kaynaklı kısıtlamalar, bitkilerde fotosentezin azalmasının çoğunlukla esas nedenidir (Shahzad vd., 2019: 64). Tuzluluk koşullarında bitkilerde, azalan su potansiyeli ile ilişkili olarak stomalar kapanır ve mezofil iletkenliği azalır (Flexas vd., 2006: 344; Chaves vd., 2009: 553). Tuz stresi altında, ABA sentezindeki ani artış, H₂O₂ gibi reaktif oksijen türlerinin birikimi ve sürgünlerde K⁺ içeriğinin azalması gibi bazı faktörler bitkilerde stoma kapanmasını indükler ve böylece bitkinin transpirasyonla kaybedeceği suyu korumasını sağlar (Hedrich ve Shabala, 2018: 87). Ancak, stomaların kapanması ve stoma iletkenliğindeki azalış, dış ortamdaki CO₂'nin kloroplastlara difüzyonunu önemli ölçüde kısıtlayarak hücreler arası CO₂ konsantrasyonunu azaltır ve nihayetinde de, bitkinin fotosentez hızında azalmaya neden olur (Hao vd., 2021: 4). Bunların dışında, tuz stresinin membranlarda oluşturduğu oksidatif hasar sonucunda da fotosentez mekanizması zarar görerek fotosentez oranı düşebilir (Chaves vd., 2009: 553; Shahzad vd., 2019: 64).

1.3.1.4. Tuz Stresinde Sinyal İletimi

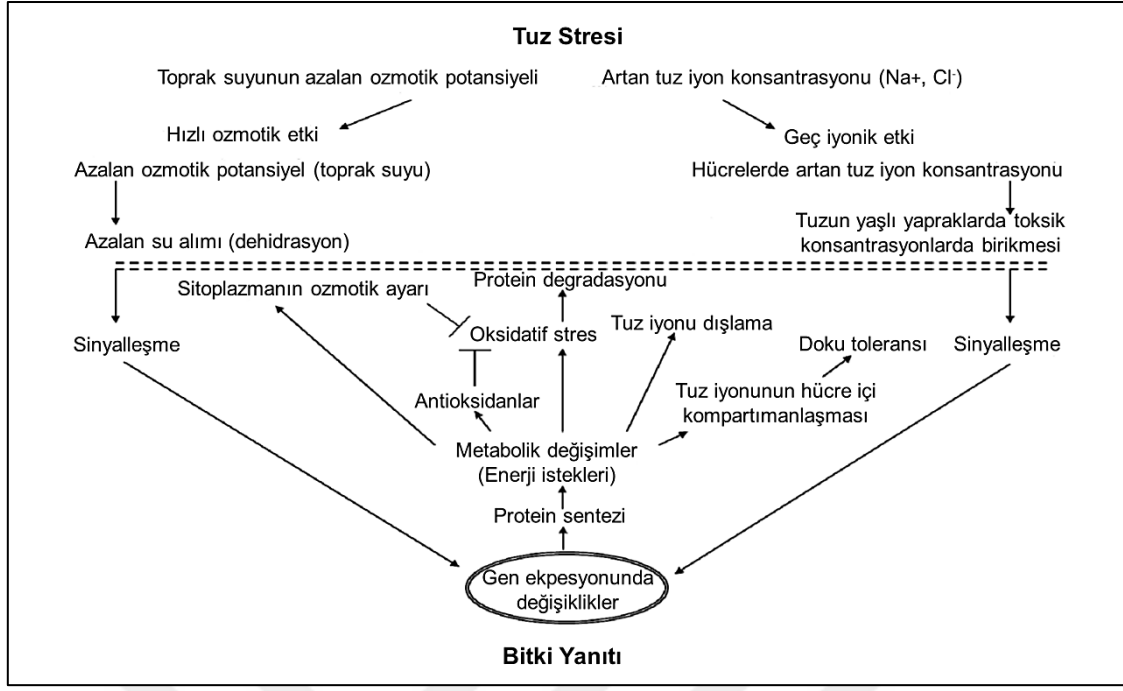
Yüksek tuz konsantrasyonu, bitki kök hücrelerinin plazma membranında bulunan protein ve reseptörler tarafından algılanmakta, ardından kalsiyum, reaktif oksijen türleri (ROS), inositol fosfat gibi ikincil habercilerin aktivasyonu gerçekleşmektedir. İkincil haberciler, artan sitozolik Ca⁺² seviyesiyle sonuçlanan hücresel Ca⁺² seviyesinin

regölasyonunu sağlamaktadır. Artan sitozolik Ca^{+2} seviyesi, CaM (kalmodulin), CML (kalmodulin benzeri protein), CDPK (kalsiyum bağımlı protein kinaz), CBL/CIPK (kalsinörin-B benzeri protein/ kalsinörin-B benzeri protein etkileşimli protein kinaz) gibi kalsiyum sensör proteinleri tarafından algılanarak hücrede protein fosforilasyon olaylarının başlaması sağlanır. Nihayetinde, hücrenin korunmasından sorumlu olan stres yanıt genlerinin ekspresyonları artırılarak ve bu genleri kontrol eden transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu sağlanarak strese yanıt oluşturulur. Kalsiyum bağımlı SOS sinyali, MAPK kaskadları, ROS ve hormon sinyalleri gibi önemli sinyal yolakları, bitkilerde biyokimyasal ve moleküler düzeyde tuza yanıt mekanizmaları oluşturulmasında etkin rol oynar (C Nikalje vd., 2017: 545; Lan Thi Hoang vd., 2017: 484; Kaleem vd., 2018: 309).

1.3.1.5. Tuz Toleransı ve Adaptif Yanıt Mekanizmaları

Bitkiler, yüksek tuz koşullarında gösterdikleri yeteneklere göre halofitler veya glikofitler olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Halofit bitkiler, geliştirdikleri çeşitli adaptasyon mekanizmaları ile yüksek tuz konsantrasyonlarında (>200 mM NaCl) hayatta kalabilen ve iyi büyüeyebilen oldukça dirençli türlerdir. Glikofitler ise, hem hücresel hem de tüm bitki düzeyinde tuzlu koşullardan ciddi şekilde etkilenen tuza duyarlı bitki türleri olup mahsul bitkileri dahil karasal bitkilerin pek çoğunu içermektedir (Parida ve Das, 2005: 325; Shahid vd., 2020: 2).

Bitkiler, yüksek tuzluluğa adapte olabilmek için çeşitli biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar geliştirmişlerdir (Şekil 1.6). İyon homeostazı ve kompartımanlaşma, ozmolitlerin indüklenmiş biyosentezi, antioksidan savunma sisteminin aktivasyonu ve tuzlulukla ilişkili genlerin ekspresyonlarının değişimi bitkilerin geliştirdiği önemli tuz tolerans mekanizmalarındandır (Tang vd., 2015: 2).



Şekil 1.6. Bitkilerin tuzluluğa karşı biyokimyasal ve moleküler tolerans mekanizmalarını içeren yanıt ağı

Kaynak: (Kosová vd., 2013: 6763)

Tüm bitkiler, hemen hemen benzer tuz tolerans mekanizmalarına sahiptir. Glikofitler de, halofitler gibi hücresel ozmotik ve turgor basıncını korumak için ozmotik ayarlama, iyon transportu veya iyon detoksifikasyon mekanizmalarını kullanmaktadır. Ancak, önemli olan halofit ile glikofit arasında nitelijselden çok nicelijsel farklılıklardır. Halofitler, tüm bitkilerde bulunan aynı temel strese duyarlı genlerin yüksek farklı regülasyonuna sahiptir ve dolayısıyla tuzluluğa daha toleranslıdır. Bu durum, tuzluluk toleransında yer alan anahtar genlerin halofitlerde daha yüksek ekspresyonundan veya halofitik proteinlerin muadili olan glikofitik proteinlerden daha aktif olmasından kaynaklanabilir (Mishra ve Tanna, 2017: 3; Van Zelm vd., 2020: 19). Bununla birlikte, halofitler geliştirdikleri bazı özel anatomik ve morfolojik adaptasyonlar veya kaçınma mekanizmaları sayesinde de yüksek tuzluluğa adapte olabilmektedir (Yokoi vd., 2002: 26).

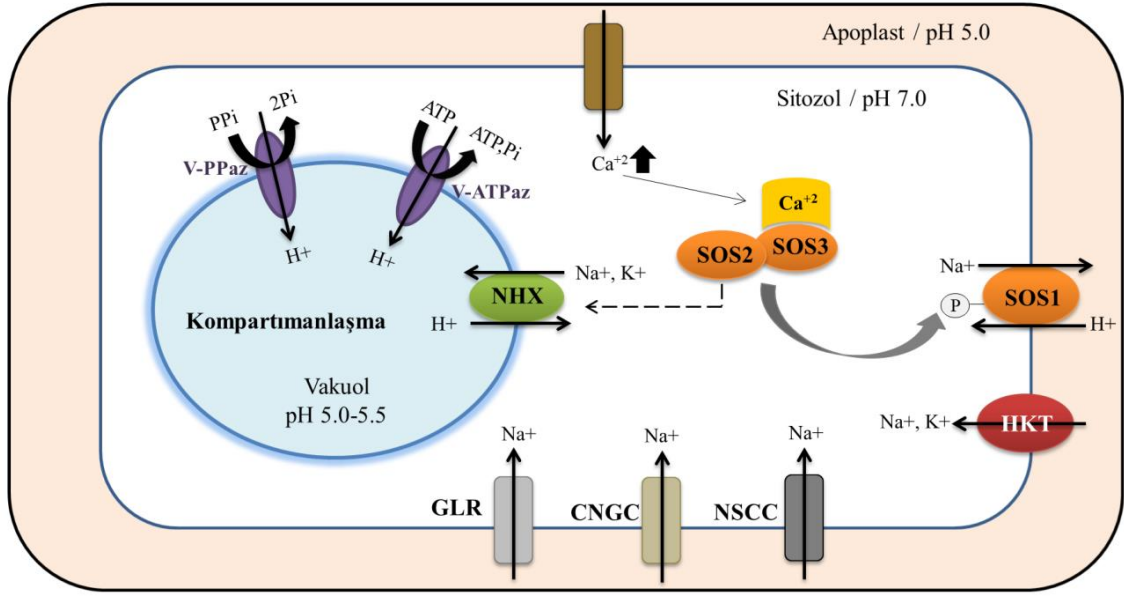
Bitkiler, yüksek tuzluluğun neden olduğu hasarı hafifletmek için tuz iyonlarının seviyelerini tolere edilebilir bir aralığa düşürmeli veya bitkinin tuz stresine toleransını artırmalıdır. Bu nedenle, bitkilerin tuzun yol açtığı hasardan kaçınmada dört seçeneği vardır: Tuzun atılması, tuzun seyreltilmesi, tuzun birikimi ve tuzun dışlanması. Tuzun atılması, halofitlerde oldukça yaygın bir strateji olup bitkilerin tuz bezlerinden fazla tuzu dışarı atarak iyon homeostazını sürdürmelerini sağlar. Tuzun seyreltilmesi, bitkilerin yüksek miktarlarda

suyu emerek veya hücrelerinin boyutunu artırarak vücutlarındaki tuzu seyrelttikleri bir stratejidir. Tuzun birikimi ise, hücrenin önemli bölümlerine verdiği zararı azaltmak amacıyla fazla tuzun vakuollerde depolanması olurken, bitkilerin bazı özel yapılarla tuzun vücutlarına girmesini engellemesi de tuzun dışlanmasıdır (Hao vd., 2021: 7).

Hücre içi yüksek sitozolik K^+/Na^+ oranının sürdürülmesi, tüm bitkilerde tuzluluk toleransı için oldukça önemlidir (Tang vd., 2015: 428). Halofit ve glikofit bitkilerin her ikisi de, sitozollerinde yüksek seviyelerde tuzları tolere edemez ve bu nedenle, fazla Na^+ iyonları ya vakuollerde depolanır ya da genç dokuların korunabilmesi amacıyla bitkinin eski dokularında toplanır (Gupta ve Huang vd., 2014: 2). Bitkilerin sitozellerindeki fazla tuz iyonlarından vakuole aktararak veya eski dokularında tutarak kurtulması, metabolik süreçler ile büyümenin devamlılığı veya hücre ölümünün engellenmesi açısından oldukça önem arz etmektedir (Zhu, 2003: 441).

Na^+ 'nın vakuolar bölmelendirilmesi/kompartımanlaşması, sitoplazmadaki Na^+ toksisitesinin önlenmesi ve hücrel iyon homeostazının sağlanması açısından kritiktir. Vakuol membranında bulunan Na^+/H^+ antiporterleri (NHX-tipi taşıyıcılar), sitoplazmadaki fazla Na^+ iyonlarının vakuollere sekestrasyonunu sağlar. Ancak bu taşıyıcılar, Na^+ 'nın taşınması sırasında gereken enerjiyi sağlayabilmek için bir proton hareket gücüne ihtiyaç duymaktadır. Vakuol membranında bulunan vakuolar tip H^+ -ATPaz (V-ATPaz) ve vakuolar pirofosfataz (V-PPaz) gibi iki H^+ pompası, protonların elektrokimyasal gradyanını oluşturarak bu hareket gücünü sağlar. Böylece, NHX-tipi taşıyıcılar tarafından Na^+ 'nın vakuolar sekestrasyonu gerçekleşir (Şekil 1.7). NHX proteinleri (NHX1 ve NHX2), sadece bununla kalmaz, K^+ 'nın vakuolde birikimini sağlayarak hücrel K^+ homeostazını da düzenleyebilir. Bunun dışında, vakuolar NHX taşıyıcıları endozomal pH regülasyonu, hücre genişlemesi, hücre içi vezikül taşınması ve protein lokalizasyonunda da etkin rol oynamaktadır (Apse ve Blumwald, 2007: 2251; Bassil ve Blumwald, 2014: 1; Khan vd., 2018a: 293). Öte yandan, plazma membranda lokalize olan Na^+/H^+ antiporterleri de, sitoplazmadaki fazla Na^+ 'nın apoplasta taşınmasını sağlayabilir. Fakat tuz iyonlarının apoplastta birikmesi, hücre içi ve dışı arasındaki ozmotik gradyanda bir artışa neden olur. Termodinamik dengenin sağlanması için, hücre içindeki suyun hücreler arası boşluklara yayılması gerekir ki, bu da bitkide hücrel dehidrasyona ve nihayetinde hücre ölümüne yol açar. Bu nedenle, tuza toleranslı bitkilerin tuz iyonlarını apoplast yerine vakuollerde biriktirmesi daha sık rastlanan bir durumdur (Pirasteh-Anosheh vd., 2016: 150; Zhao vd., 2021: 3).

Na^+ 'nın vakuolar kompartımanlaşması dışında, bitkiler köklerinden Na^+ 'yı dışlayarak da kök hücre sitozollerinde fazla Na^+ birikimini önler. Bitkilere seçici olmayan katyon kanalları CNGC (Siklik nükleotid-kapılı iyon kanalı) ve GLR (Glutamat-benzeri reseptör) tarafından alınan Na^+ iyonlarının köklerden dışlanması, plazma membranda bulunan SOS1 Na^+/H^+ antiporteri tarafından sağlanır (Şekil 1.7). Fotosentetik olarak aktif mezofil hücrelerinde, Na^+ toksisitesini önlemek için bunlara ek olarak ksileme Na^+ yüklenmesi, ksilemden Na^+ 'nın geri alımı ve sürgünlerden floem aracılığıyla Na^+ 'nın dolaşımı gibi stratejiler de mevcuttur (Hanin vd., 2016: 5; Zhao vd., 2020: 14).



Şekil 1.7. Bitkilerde iyon homeostazını sağlayan SOS sinyal yolu ve vakuolar kompartımanlaşma

Kaynak: (Gupta ve Huang, 2014: 2; Park vd., 2016: 449)

SOS (Salt Overly Sensitive), bitkilerde iyon homeostazı ve tuz toleransı için gerekli önemli sinyal yollarından biridir. Bu kaskadın ana bileşenleri olan SOS1, SOS2 ve SOS3 proteinlerinin aktiviteleri, dolayısıyla bu proteinleri kodlayan genlerin ekspresyon seviyeleri önemli olup artan ekspresyon seviyeleri, NaCl 'ye karşı geliştirilen yüksek toleransla ilişkilidir. Bu genlerde görülen fonksiyon kaybı ise, NaCl 'ye karşı farklı seviyelerde gelişen aşırı duyarlılık ile sonuçlanır (Ji vd., 2013: 276; Park vd., 2016: 450). Hücre dışındaki artan iyon konsantrasyonu, hücrede Ca^{+2} -aracılı SOS3 aktivasyonuna yol açar. Aktif hale gelen SOS3 (bir kalsiyum sensör proteini), bir serin/treonin protein kinaz olan SOS2 ile fiziksel olarak etkileşime girerek bu kinazı aktive eder. Oluşan bu Ca^{+2} sensör/kinaz (SOS3/SOS2) kompleksi, SOS1'i fosforilleyerek aktifleştirir. Böylece, plazma membranda lokalize

aktifleşmiş Na^+/H^+ antiporteri SOS1 sayesinde sitozolden Na^+ çıkışı ve uzun mesafeli Na^+ taşınımı gerçekleşir. Ayrıca SOS2, NHX ile etkileşime girip onun aktivasyonunu sağlayarak fazla Na^+ 'nın vakuoller içine sekestrasyonunda da rol oynamaktadır (Tuteja, 2007: 427; Manishankar vd., 2018: 4217).

Ksileme Na^+ yüklemesi, pasif olarak, seçici olmayan katyon kanalları (NSCC) tarafından olurken Na^+ 'nın aktif şekilde yüklenmesi, SOS1 proteini tarafından sağlanmaktadır (Zhao vd., 2020: 15). Ksilemden Na^+ geri alımı ise, HKT1 tipi taşıyıcılar tarafından sağlanır. HKT1 tipi taşıyıcılar, ksilem transpirasyon akımından Na^+ geri alımını sağlayarak fotosentetik dokularda aşırı Na^+ bikiiminin önüne geçer. Dahası, sürgündeki fazla Na^+ iyonlarını sürgün floem hücrelerine yükleyerek aşağı doğru akım yoluyla köklere geri gönderilmesini sağlar, böylece sürgünde aşırı Na^+ yükünü önler (Almeida vd., 2017; 334).

Tuz iyonlarının sitoplazmadan vakuole kompartımanlaşması, vakuoler membran boyunca güçlü bir ozmotik gradyan oluşturur. Bu da, 'ozmotik ayarlama' olarak bilinen sitoplazmada çeşitli biyokimyasal moleküllerin sentezindeki artışla dengelenir (Pirasteh-Anosheh vd., 2016: 150). Yüksek tuzluluğa maruz kalan bitkiler, tuz stresinin indüklediği ozmotik stresle başa çıkmak için nitrojen içeren bileşikler (prolin, glisin betain vb), polioller (mannitol, sorbitol, D-ononitol vb), çözünür şekerler (trehaloz, sükroz, fruktoz vb), çözünür proteinler (LEA proteinleri ve dehidrinler) ve organik asitler (oksalat, malat) gibi ozmotik koruyucu işlevi olan ve birbirinin yerini tutabilen (compatible) bileşikleri sentezler (Ashraf, 2004: 363; Sairam ve Tyagi, 2004: 408). Ozmolit ya da ozmoprotektan adı verilen bu uyumlu moleküller, elektriksel olarak yüksüz ve düşük moleküler ağırlıklı olup yüksek konsantrasyonlarda toksik etki göstermez ve hücre metabolizmasına zarar vermezler. Yüksek oranda çözünür olan ozmolitler, sitoplazmadaki ozmotik basıncı artırarak hücrenin turgor basıncını korur ve bitki hücrelerinde dehidrasyonu önlerler, nihayetinde de hücresel düzeyde gerekli ozmotik dengenin sürdürülmesini sağlarlar. Protein, enzim ve membranları stabilize etmelerinin yanı sıra, şaperon benzeri aktivite göstererek reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonuna ve hücresel redoks dengesinin korunmasına katkıda bulunurlar (Saxena vd., 2013: 199; Zulfiqar vd., 2020: 1-2). Ancak bitkiler, bu molekülleri yeterli derecede sentezleyebilmek için önemli miktarlarda karbon tüketir ve bu da, potansiyel olarak bitkinin normal büyüme ve gelişimini sınırlamaktadır. Dolayısıyla ozmotik ayarlamalar, tuzluluk gibi stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde stresin üstesinden gelebilmek ve hayatta kalabilmek adına gereken bir adaptasyon mekanizmasıdır (Pirasteh-Anosheh vd., 2016: 150).

1.4. Antioksidan Savunma Sistemi

Hücre metabolizması, normal yan ürün olarak düşük oranlarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretmektedir (Hossain ve Dietz, 2016: 2). Normal koşullarda, ROS üretimi ve antioksidan savunma sistemleri tarafından ROS'un uzaklaştırılması belirli bir denge halindedir. Ancak, tuzluluk, kuraklık, yüksek ışık gibi çeşitli stres faktörleri, genellikle reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırarak bitkilerde ROS üretimi ve temizlenmesi arasındaki dengeyi bozmaktadır (Pang ve Wang, 2008: 233). Bozulan bu denge sonucunda, bitkiler oksidatif strese girmekte ve DNA, lipid, protein gibi başlıca biyomolekülleri zarar görerek nihayetinde bitki ölümüyle sonuçlanabilen moleküler ve hücrel hasarlar meydana gelmektedir (Ahmad vd., 2019: 198).

Bitkiler, oksidatif stresi azaltıp hücrel redoks homeostazını sağlayabilmek için hücrel savunma mekanizmalarını aktive etmektedir. Farklı biyokimyasal özelliklerdeki enzim ve metabolitleri içeren, esnek, çok yönlü ve yetkin bir yapıya sahip antioksidan savunma mekanizması, yeterli antioksidan seviyelerinin oluşturulmasını sağlayarak bitki biyomoleküllerinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin ana bileşenleri olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, ROS'ları temizlemekte ve tuzun neden olduğu hasarları sınırlayarak hücrelerin korunmasını sağlamaktadır (Paciolla vd., 2016: 1; Ahmad vd., 2019: 200).

1.4.1. Lipid Peroksidasyonu (LPO)

Lipidler, plazma membranın büyük bir bölümünü oluşturan ve hücrenin çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı korunmasında yardımcı olan önemli bileşenlerdir. Hücre membranındaki fosfolipidler, serbest radikallere karşı çok hassastır ve ROS'lar özellikle plazma membranda bolca bulunan çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) saldırarak bunların oksidatif bozunmasına yol açmaktadır. Lipid peroksidasyonu (LPO) olarak bilinen bu olay, oldukça zararlı olup lipidlerin yok olmasıyla sonuçlanan zincirleme bir reaksiyonu tetiklemekte ve nihayetinde protein, DNA gibi diğer biyomoleküllere zarar veren lipid radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır (Tuteja vd., 2009: 137; Mushtaq vd., 2020: 83).

Lipid peroksidasyonu, bitkilerde membranın göreceli geçirgenliğini ve sızıntıyı artırırken membran akışkanlığını azaltmakta ve membran proteinlerinde hasara neden olmaktadır, bunun neticesinde ise membran bütünlüğü bozulmaktadır (Ahmad vd., 2009: 11).

Lipid peroksidasyonunun sonucunda oluşan 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) ve malondialdehit (MDA) gibi çeşitli aldehit ürünleri, DNA ve proteinlerle çeşitli konjugatlar oluşturarak önemli modifikasyonlara neden olabilmektedir. Örneğin, LPO son ürünlerinden biri olan MDA, guanin bazı ile ekstra bir halka oluşturan konjugasyona yol açabilmektedir (Møller vd., 2007: 464-465).

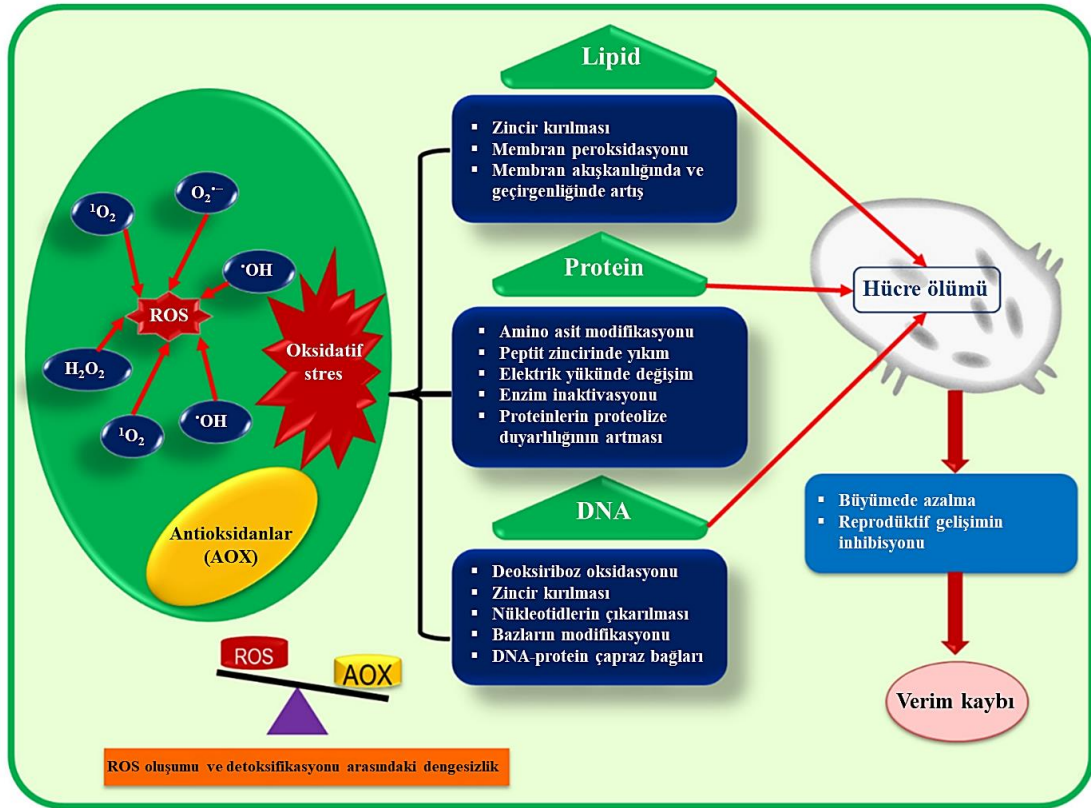
MDA içeriği, bitkilerde stres altında lipid peroksidasyonunu gösteren önemli bir belirteç olup plazma membrandaki hasarın derecesini belirlemede kullanılmaktadır (Liang vd., 2018: 289). PUFA peroksidasyonunun birincil ürünleri olan lipid hidroperoksitlerin miktarının belirlenmesi, kararsızlıkları ve reaktiviteleri nedeniyle zor olduğundan lipid peroksidasyonunun seviyesinin belirlenmesinde bu lipid hidroperoksitlerden türetilen ikincil ürünlerin (çoğunlukla MDA gibi aldehitler) konsantrasyonları kullanılmaktadır. Bu ürünlerden bazıları, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) olarak adlandırılan renkli ürünler oluşturmaktadır. Bu yöntem sayesinde, reaksiyon kolorimetrik olarak ölçülerek MDA içeriği belirlenmektedir (Gill ve Tuteja, 2010: 914; Morales ve Munné-Bosch, 2019: 1246-1247).

1.4.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Serbest Radikaller

Reaktif oksijen türleri (ROS), yapısında bir veya daha fazla aktifleştirilmiş oksijen atomu içeren oksijen türevli serbest radikaller ve radikal olmayan reaktif moleküllerden oluşan bir çeşit grubu temsil etmektedir (Sharma vd., 2012: 2; Demidchik, 2015: 2). ROS'lar, serbest radikaller ve radikal olmayan moleküller olmak üzere iki farklı sınıfa ayrılmaktadır. Serbest radikaller, atomik yörüngelerinde en az bir eşlenmemiş elektron bulunduran oldukça kararsız ve reaktif olan türler iken, radikal olmayanlar ise her ne kadar radikal olmasalar da son derece reaktif olan veya kolayca reaktif türlere dönüşebilen bileşiklerdir (Engwa, 2018: 51). Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($\bullet OH$), singlet oksijen (1O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), başlıca ROS çeşitleri olup bunlardan süperoksit ve hidroksil radikali, serbest radikallere örnek iken, singlet oksijen ve hidrojen peroksit molekülü ise radikal olmayan moleküllerdendir (Hossain ve Dietz, 2016: 2).

Bitkilerde, kloroplast, mitokondri, peroksizom, hücre duvarı ve plazma membranlarda aerobik metabolizmanın yan ürünü olarak devamlı bir şekilde ROS üretilir (Hasanuzzaman vd., 2021: 4). Işık varlığında bitkinin yeşil kısımları, kloroplastlar ve peroksizomlar ROS'un esas üretim yerleri olup ışığın olmadığı karanlıkta ve bitkinin yeşil olmayan kısımlarında ise, ROS üretiminin ana kaynağı mitokondrilerdir (Møller vd., 2007: 462).

Tuzluluk gibi çeşitli stres koşullarında ROS'ların artan üretimi, ROS temizleyici sistemler tarafından etkili bir şekilde detoksifiye edilemediklerinde bitkiler için bir tehdit oluşturmakta ve hücrelerde oksidatif modifikasyonlara ve ölüme yol açabilen hücrel ve moleküler hasarlar meydana getirmektedir (Şekil 1.8) (Huang vd., 2019: 2). Yüksek konsantrasyonlarda ROS, bitkilerde membran lipid peroksidasyonu, karbonhidrat oksidasyonu, protein denatürasyonu, enzim inhibisyonu ve DNA hasarına yol açmakta ve nihayetinde hücre ölümüne sebep olmaktadır (Sharma vd., 2012: 7). Öte yandan, ROS'lar sadece geri dönüşümü olmayan DNA hasarı ve hücre ölümüne yol açmakla kalmaz aynı zamanda normal bitki büyümesini ve strese verilen yanıtları düzenleyen önemli sinyal molekülleri olarak da işlev görmektedir. Bitkilerde düşük konsantrasyonlarda ikincil haberciler olarak kullanılan ROS'lar (özellikle H_2O_2), hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, organogenez gibi fizyolojik ve gelişimsel süreçler, programlı hücre ölümü ve biyotik/abiyotik stres yanıtlarında önemli rol oynamaktadır. Farklı ROS konsantrasyonları, bitkilerde farklı etkilere sahip olduğundan, bitki sağlığı için bu ROS seviyelerinin doğru aralıkta tutulması gerekir. Bu nedenle, bitkilerde ROS seviyelerindeki değişiklikler, sitostatik ve sitotoksik seviyeler arasındaki eşik sınırını aşmamalıdır (Sharma vd., 2012: 5; Huang vd., 2019: 1-2).



Şekil 1.8. Bitkilerde ROS'un hücrel ve moleküler hasarı

Kaynak: (Hasanuzzaman vd., 2021: 6)

Çeşitli abiyotik stres koşullarında, fazla üretilen ROS'ların temizlenmesi için bitkiler, antioksidan sistemlerini devreye sokmakta ve bu ROS seviyelerini belirli bir dengede tutmaya çalışmaktadır. Enzimatik olan ve olmayan antioksidanları içeren antioksidan savunma sisteminin aktivitesi de, bitkilerde streslere karşı toleransı artırmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010: 909; Dvořák vd., 2021: 1-2). Antioksidan savunma sisteminin enzimatik bileşenleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), guaiakol peroksidaz (GPX) ile askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü enzimleri olan askorbat peroksidaz (APX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutasyon redüktaz (GR) iken, enzimatik olmayan antioksidanları ise prolin, askorbat (AsA), glutasyon (GSH), tokoferoller, karotenoidler ve fenolik bileşikler oluşturmaktadır (Şekil 1.9) (Ahmad vd., 2019: 200; Rajput vd., 2021: 2).

Enzimatik antioksidanlar	Enzim kodu	Katalize edilen reaksiyon	Hücre altı lokasyon
Süperoksit dismutaz (SOD)	1.15.1.1	$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$	Peroksizomlar, Mitokondri, Sitozol ve Kloroplast
Katalaz (CAT)	1.11.1.6	$H_2O_2 \rightarrow (1/2)O_2 + H_2O$	Peroksizom ve Mitokondri
Askorbat peroksidaz (APX)	1.11.1.11	$H_2O_2 + AA \rightarrow 2H_2O + DHA$	Peroksizomlar, Mitokondri, Sitozol ve Kloroplast
Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR)	1.6.5.4	$MDHA + NADPH \rightarrow AA + NADP^+$	Mitokondri, Sitoplazma ve Kloroplast
Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)	1.8.5.1	$DHA + 2GSH \rightarrow AA + GSSG$	Mitokondri, Sitoplazma ve Kloroplast
Glutasyon redüktaz (GR)	1.6.4.2	$GSSG + NADPH \rightarrow 2GSH + NADP^+$	Mitokondri, Sitoplazma ve Kloroplast
Guaiakol peroksidaz (GPX)	1.11.1.7	$H_2O_2 + GSH \rightarrow H_2O + GSSG$	Mitokondri, Sitoplazma, Kloroplast ve ER
Enzimatik olmayan antioksidanlar	Fonksiyon	Hücre altı lokasyon	
Askorbik Asit (AA)	APX'in faaliyetiyle H_2O_2 'yi temizler	Sitozol, Kloroplast, Mitokondri, Peroksizom, Vakuol ve Apoplast	
İndirgenmiş Glutasyon (GSH)	Peroksidazlar, GR ve GST gibi enzimler için detoksifiye edici bir kosubstrat görevi görür	Sitozol, Kloroplast, Mitokondri, Peroksizom, Vakuol ve Apoplast	
α -Tokoferol	Membran LPO ürünlerine karşı koruma sağlayarak bunları detoksifiye eder	Çoğunlukla membranlarda	
Karotenoidler	Fotosistemdeki LHC'lerde fazla enerjiyi söndürür	Kloroplastlar ve diğer yeşil olmayan plastidler	
Flavonoidler	H_2O_2 ve 1O_2 ve $OH^{\cdot}$ 'ın doğrudan temizleyicileri	Vakuol	
Prolin	$OH^{\cdot}$ ve 1O_2 'nin etkili temizleyicisidir ve LPO'dan kaynaklanan hasarları önler	Mitokondri, Sitozol ve Kloroplast	

Şekil 1.9. Bitkilerde enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar

Kaynak: (Das ve Roychoudhury, 2014: 7)

1.4.3. Antioksidan Savunma Sisteminin Enzimatik Bileşenleri

1.4.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), hemen hemen tüm aerobik organizmaların hücre altı lokasyonlarında bulunan bir metalloenzimdir. Oksidatif hasarlara karşı ilk savunma hattı olan SOD, süperoksit radikalini ($O_2^{\bullet-}$) oksijen ve hidrojen peroksit moleküllerine dönüştürerek bu radikalın uzaklaştırılmasını sağlar. Aktif bölgelerindeki metal kofaktörlerine göre SOD'un dört farklı izozimi mevcut olup bunlardan Ni-SOD (nikel-SOD) bitkilerde bulunmaz. Bitkilerdeki SOD izozimlerinden Fe-SOD (demir-SOD) kloroplastlarda, Mn-SOD (mangan-SOD) mitokondrilerde ve son olarak Cu/Zn-SOD (bakır/çinko-SOD) ise sitozol, kloroplast ve peroksizomlarda bulunur (Mushtaq vd., 2020: 86; Dvořák vd., 2021: 2). Tuzluluk gibi çeşitli stresler altında, bitkilerin SOD aktivitelerinde artışlar gözlenir ve abiyotik streslerin yol açtığı oksidatif stresle mücadelede, SOD'ların yukarı regülasyonu, bitkilerin hayatta kalmasında kritik bir rol oynar (Ahmad vd., 2008: 169).

1.4.3.2. Katalaz (CAT)

Antioksidan enzimler arasında ilk keşfedilen katalaz (CAT, EC 1.11.1.6), hidrojen peroksidin (H_2O_2) su ve oksijene dismutasyonunu kataliz eden tetramerik yapıda, hem grubu içeren bir enzimdir. Çoğunlukla peroksizomlarda lokalizedir, ancak anlamlı bir CAT aktivitesi görülme de hücrelerin sitozol, mitokondri ve kloroplast gibi kısımlarında da bulunduğu dair kanıtlar mevcuttur. Katalaz, organik peroksitler için olmasa da H_2O_2 için yüksek bir afinite gösterir ve indirgeyici bir eşdeğer gerektirmediğinden diğer antioksidan enzimlerden farklıdır (Sharma vd., 2012: 11; Anjum vd., 2016: 19004). Bitkilerde birden fazla formu bulunan katalazlar, farklı dokulardaki ekspresyon profillerine göre üç ayrı sınıfa ayrılır: Sınıf I katalazlar fotosentetik dokularda, Sınıf II katalazlar vasküler dokularda ve sınıf III katalazlar ise tohum ve reproduktif dokularda eksprese edilmektedir. Ayrıca, elverişsiz koşullar altında bitki tepkilerinde rol alan çoklu izoformları da (CAT1, CAT2, CAT3) mevcuttur (Dvořák vd., 2021: 2; Rajput vd., 2021: 6). Çeşitli çevresel stres koşulları ise, stresin yoğunluğuna, süresine ve türüne bağlı olarak bitkilerde CAT aktivitesinde artış veya azalışa neden olmaktadır (Ahmad vd., 2019: 202).

1.4.3.3. Askorbat Peroksidaz (APX)

Askorbat-Glutatyon (AsA-GSH) döngüsünün vazgeçilmez bir bileşeni olan askorbat peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11), sınıf I hem-peroksidaz ailesinin bir üyesi olup CAT enzimi gibi hidrojen peroksidin (H_2O_2) temizlenmesinde rol oynar, ancak ondan farklı olarak hidrojen peroksidin katalizlenmesi için bir indirgeyici madde olan askorbatı (AsA) kullanır. APX, elektron verici olarak askorbatı kullanarak hidrojen peroksidi iki molekül suya ve dehidroaskorbata (DHA) indirger. Yüksek bitkilerde amino asit sekansına dayalı olarak hücre altı lokasyonlarda beş farklı APX izozimi mevcuttur. Çözünür izoformlar sitozol (cAPX), mitokondri (mitAPX) ve kloroplast stromasında (sAPX) bulunurken, membrana bağlı izoformlar peroksizom/glioksizom gibi mikrocisimcik (mAPX) ve kloroplast tilakoidlerinde (tAPX) bulunmaktadır. Çeşitli hücre organellerinde bulunması ve hidrojen peroksit molekülü için en yüksek afiniteye sahip olması, APX'i stres koşullarında H_2O_2 'nin yetkin bir temizleyicisi yapmaktadır (Caverzan vd., 2012: 1012; Mushtaq vd., 2020: 87).

1.4.3.4. Guaiakol Peroksidaz (GPX)

Guaiakol peroksidazlar (GPX, EC 1.11.1.7), sınıf III bitki peroksidaz süper ailesine ait hem grubu içeren enzimlerdir. Guaiakol ve pirogallol gibi aromatik elektron donörlerini kullanarak normal ve stres koşulları altında metabolizma tarafından üretilen fazla hidrojen peroksidin detoksifikasyonunu sağlarlar (Tognolli vd., 2002: 129; Karuppanapandian vd., 2011: 717).

1.4.3.5. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2), NADPH'ı indirgeyici olarak kullanarak glutatyon disülfidin (GSSG) sülfidril forma (GSH) indirgenmesini katalizleyen bir flavo-protein oksidoredüktazdır (Yousuf vd., 2012: 153). GR, oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüştürerek stres koşullarında yüksek bir GSH/GSSG oranının korunmasına yardımcı olmaktadır (Gill vd., 2013: 205; Berwal vd., 2021: 190-191).

1.4.3.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR)

Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR, EC 1.6.5.4), askorbatın rejenerasyonunu sağlayarak askorbat-glutatyon döngüsünde kilit rol oynayan bir flavin adenin dinükleotid (FAD) enzimidir. MDHAR, elektron vericisi olarak NADPH veya NADH'yi kullanarak monodehidroaskorbatın (MDHA) askorbata (AsA) indirgenmesini katalize etmektedir (Gill ve Tuteja, 2010: 921; Leterrier ve Cagnac, 2018: 83).

1.4.3.7. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR)

Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR, EC 1.8.5.1), MDHAR gibi hücrel AsA havuzunun yeniden oluşumunu sağlayan çözünür monomerik bir enzimdir. DHAR, elektron vericisi olarak indirgenmiş glutatyonu (GSH) kullanarak dehidroaskorbatı (DHA) askorbata (AsA) indirgemekte ve hücrenin redoks potansiyelinin korunması için gerekli olan askorbatın geri dönüşümünü sağlamaktadır (Das ve Roychoudhury, 2014: 7; Dvorák vd., 2021: 3).

1.4.4. Antioksidan Savunma Sisteminin Enzimatik Olmayan Bileşenleri

1.4.4.1. Prolin

Çok işlevli bir amino asit olan prolin, çeşitli çevresel streslere karşı koruma sağlamak için bitkilerde yaygın olarak bulunan bir ozmolittir. Prolin, ozmotik stres altında bitki hücrelerini korumak için uyumlu bir çözünür görevi görürken, moleküler bir şaperon olarak protein bütünlüğünü koruyup enzim aktivitelerini artırır. Ayrıca, ROS temizleme aktivitesi ve singlet oksijen söndürme kabiliyetiyle de antioksidan bir rol üstlenir. Bunların dışında, bir bitki büyüme düzenleyicisi görevi gören sinyal molekülü olarak ise sinyal kaskadlarını tetikleyebilme özelliğine sahiptir. Prolinin biyosentezi, bozunması ve bitkilerde birikmesi, tuzluluk gibi abiyotik stresler tarafından düzenlenir (Singh vd., 2014: 1; Suprasanna vd., 2016: 5). Prolinin biyosentez hızı, biyosentezinde görev alan P5CS (Δ^1 -prolin-5-karboksilat sentetaz) gibi hız sınırlayıcı enzimler ve bu enzimleri kodlayan genlerin ekspresyon düzeylerine bağlıdır (Liang vd., 2018: 287). Çeşitli çevresel streslere yanıt olarak pek çok bitki türünde prolin birikimi söz konusu olup bu, bitki stres toleransı ile pozitif bir korelasyon göstermektedir. Dahası, düşük konsantrasyonlarda ekzojen prolin uygulaması da, bitkilerde toleransın artmasını sağlamaktadır (Dar vd., 2016: 155).

1.4.4.2. Askorbat (AsA)

Askorbat (AsA), bitkilerde ROS'un neden olduğu oksidatif hasarı önlemede veya en aza indirmede kilit role sahip, en bol bulunan, düşük moleküler ağırlıklı, güçlü bir antioksidandır. AsA, bitkilerde büyüme, farklılaşma ve metabolizma dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte de önemli rol oynar (Ahmad vd., 2009: 13; Sharma vd., 2012: 9). Büyük bir kısmı sitoplazmada bulunan çözünür bir antioksidan olan AsA'nın, diğer çözünür antioksidanların aksine, önemli bir kısmı milimolar konsantrasyonlarda apoplastta olup potansiyel olarak zararlı dış oksidantlara karşı birincil savunma hattı sağlar (Dumanović vd., 2021: 9). Ayrıca, bir dizi enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarda elektron verme kabiliyeti, AsA'yı güçlü bir ROS temizleyicisi yapar (Ahmad vd., 2009: 13).

1.4.4.3. Glutasyon (GSH)

Tüm aerobik organizmalardaki en önemli metabolitlerden biri olan tripeptit glutasyon (γ -glutamil-sisteinil-glisin, GSH), düşük moleküler ağırlıklı, protein yapıda olmayan tiyollerden biridir ve ROS'un neden olduğu oksidatif hasara karşı hücre içi savunmada en önemli antioksidanlardan kabul edilir (Sharma vd., 2012: 9; Waśkiewicz vd., 2014: 206). Apoplastın yanı sıra sitozol, mitokondri, endoplazmik retikulum, kloroplastlar, vakuoller ve peroksizomlar gibi tüm hücre bölümlerinde bulunan GSH, bitki dokularında bol miktarda indirgenmiş formda bulunur (Ahmad vd., 2009: 13). İndirgenmiş glutasyon formu (GSH), stres kaynaklı oksidatif stresin zararlı etkilerinin dengelenmesinde hücrelerin normal indirgenmiş durumunun korunması için gereklidir. Oksitlenmiş formu GSSG ile birlikte de, hücre içindeki redoks dengesinin korunmasında rol oynar (Saed-Moucheshi vd., 2014: 1581).

1.4.4.4. Tokoferoller

Tokoferoller, reaktif oksijen türlerini ve lipid radikallerini temizleyen bir grup lipofilik antioksidan olup yapılarındaki benzen halkasına bağlı metil gruplarının sayısı ve metilasyon modeline göre bitkilerde dört ayrı izomere (α -, β -, γ - ve δ -) sahiptir. Bu izomerler arasında, en yüksek antioksidatif aktiviteye sahip olan moleküler yapısında üç metil grubu bulundurması nedeniyle α -tokoferoldur. Sadece fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenen tokoferoller, yalnızca bitkinin yeşil, fotosentetik olarak aktif kısımlarında bulunur (Sharma vd., 2012: 10; Dumanović vd., 2021: 10). Bitkilerin kloroplast zarlarında önemli miktarlarda bulunan α -tokoferoller, özellikle $^1\text{O}_2$ gibi ROS'ların etkili bir temizleyici olarak foto-oksidatif hasara karşı koruma sağlar (Ahmad vd., 2009: 14; Saed-Moucheshi vd., 2014: 1582).

1.4.4.5. Karotenoidler

Bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan sarı, turuncu ve kırmızı renkli lipofilik pigmentler olan karotenoidler, bir antioksidan olarak bitkilerin fotooksidatif süreçlere karşı korunmasında önemli bir rol oynar (Berwal vd., 2021: 185). Yardımcı ışık toplayan bir rolü olmasının dışında, bitkilerde çeşitli ROS'ları detoksifiye edebilen ve lipid peroksil radikalini en etkili şekilde yakalayabilen, böylece tilakoid membrana ve ışık toplayan kompleks proteinlerine stabilize sağlayan antioksidanlar olarak da işlev görür (Ahmad vd., 2009: 15; Das ve Roychoudhury, 2014: 8; Dumanović vd., 2021: 10). Ayrıca karotenoidler, bitki gelişimini ve bitkilerin biyotik/abiyotik stres tepkilerini etkileyen sinyal moleküllerinin öncüleri olarak da etkin rol oynar (Sharma vd., 2012: 10).

1.4.4.6. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler (flavonoidler, tanenler, hidroksisinamat esterler ve lignin), bitki dokularında bol bulunan, antioksidan özelliklere sahip çeşitli ikincil metabolitlerdir. *In vitro* koşullarda askorbat ve tokoferollerden daha etkili antioksidanlar olan fenolikler, serbest radikalleri yakalayabilen ideal bir yapısal kimyaya sahiptir (Karuppanapandian vd., 2011: 719). Fenolikler, ROS'ları doğrudan temizleyebilir ve lipid alkoksil radikalini yakalayarak lipid peroksidasyonunu engelleyebilir. Bununla birlikte, lipid paketleme düzenini değiştirerek membranların akışkanlığını azaltabilirler. Böylece, serbest radikallerin difüzyonunu engelleyerek peroksidatif reaksiyonların kısıtlanmasını sağlarlar (Ahmad vd., 2008: 168; Sharma vd., 2012: 11).

1.5. Bitkilerde Şekerin Rolü ve Ekzojen Şeker Uygulamaları

Şekerler, bitkilerin fotosentez, solunum, tohum çimlenmesi, çiçeklenme ve senesens gibi önemli fizyolojik süreçlerinde yer alan kimyasal olarak aktif biyomoleküllerdir ve çeşitli abiyotik stres koşullarında bu süreçleri kolaylaştıran en önemli düzenleyicilerdir (Sami vd., 2016: 54; Gangola ve Ramadoss, 2018: 21). Şekerler, bitki büyüme ve metabolizması için gerekli enerji kaynağı ve yapısal bileşenler olmanın yanı sıra depolama, taşıma ve sinyal molekülleri olarak da işlev görür. Solunum reaksiyonlarının substratları veya diğer bazı biyokimyasal süreçlerin ara metabolitleri olan şekerler, bitkilerde uzun mesafeler boyunca taşınabilir ve çoğunlukla depolama maddeleri olarak kullanılabilir. Dahası, birincil haberci sinyal molekülleri olarak hareket ederek fotosentez, glikoliz, sükroz ve nişasta metabolizması, nitrojen metabolizması, hücre döngüsü regülasyonu ve savunma mekanizmalarında yer alan birçok genin ekspresyonunu ve bitki gelişimini kontrol eden sinyalleri düzenleyebilir (Tuteja ve Sopory, 2008: 531; Ciereszko, 2018: 2; Khan vd., 2020: 356).

Şekerler, karbonhidrat veren (kaynak-source) ve alan (havuz-sink) dokulardaki gen ekspresyonunu ve enzim aktivitelerini modüle ederek bitki büyüme aktivitelerinin düzenlenmesinde rol oynar. Bu da, bitkilerde karbon ve enerji kaynaklarının optimal sentezini ve kullanımını sağlar. Glikoz veya sükroz seviyelerindeki değişiklikler, yapraklarda esas olarak asimilatların fotosentez yoğunluğunu ve ihracatını etkilerken köklerde ise, solunum metabolizmasını ve şeker depolanmasını etkiler. Genel olarak, düşük şeker durumu, bitkilerde fotosentezi, rezerv mobilizasyonunu ve ihracatı artırırken, şekerlerin yüksek miktarda bulunması, fotosentez hızını azaltıp büyümeyi ve karbonhidrat depolanmasını teşvik eder (Gupta ve Kaur, 2005: 765-766; Ciereszko, 2018: 3). Bitkilerde şeker seviyeleri, oldukça

önemlidir. Şeker sensörleri tarafından algılanan bu seviyeler, içsel ve çevresel uyaranlarla bağlantılı olarak gen ekspresyonunu düzenleyen bir sinyal kaskadını harekete geçirmekte ve nihayetinde, bitkilerin belirli bir stres durumuna tepki verebilmesini sağlamaktadır (Martínez-Noël ve Tognetti, 2018: 397).

Şekerler, bitkilerde kuraklık ve tuzluluk streslerinin neden olduğu dehidrasyonla mücadele etmede önemli ozmoprotektanlar olarak kabul edilmektedir. Şekerlerin hidroksil grupları, bitki hücrelerinde hidrofilik etkileşimleri sürdürebilmek için su moleküllerinin yerini alabilir. Bu sayede, dehidrasyon sırasında doğal makromoleküllerin ve membran yapısının stabilizasyonu sağlanmış olur. Bitki hücrelerinde ozmotik koruyucu olan bu şekerlerin birikimi, ozmotik ve iyonik homeostazın sürdürülmesini sağlayarak abiyotik stres toleransının artırılmasına katkı sağlar. Sükroz, trehaloz, maltoz ve laktoz gibi disakkaritler, monosakkaritlere kıyasla •OH radikallerine karşı daha aktif olup bu radikallerden daha az hasar görmekte ve serbest radikalleri söndürücü etkileri sayesinde bitki hücrelerinde redoks homeostazının sürdürülmesine yardımcı olup stres faktörlerine karşı koruyucu bir rol üstlenmektedirler (Gangola ve Ramadoss, 2018: 23-25; Ahmad vd., 2020: 57-58).

Fotosentezin ana ürünlerinden biri olan sükroz ise, glikoz ve fruktoz monosakkaritlerinden oluşan doğada yaygın olarak mevcut bir disakkarit çeşididir ve bitkilerde büyüme, gelişme, depolama, sinyal ve strese uyum sağlama ile yakın ilişkili anahtar bir şeker molekülüdür (Keunen vd., 2013: 1245). Bitkilerin çoğunda ana taşınan molekül olan sükroz, bitki yapraklarındaki mezofil hücrelerinin sitozolünde fotosentetik olarak sabitlenmiş karbondan, nişasta rezervlerinden veya lipidlerden sentezlenmektedir (Ciereszko, 2009: 195; Wind vd., 2010: 1610). Sükroz, kök büyümesi gibi bitki gelişiminde yer alan birçok işlemin kontrolü için uzun mesafeli bir sinyal görevi görmekte ve bitkisel karbonhidratların üretim/tüketim dengesine müdahale ederek sükroza-özgü sinyal yolu boyunca nişasta biyosentezini düzenlemektedir. Dahası, stres yanıtına katkıda bulunarak bitkilerde fruktan ve antosiyanin (bitki gelişimi ve stres tepkilerine katılan bir flavonoid sınıfı) biyosentezini indüklemektedir (Ahmad vd., 2020 56; Jeandet vd., 2022: 2).

Şekerlerin düşük konsantrasyonda ekzojen uygulanması, çeşitli olumsuz çevre koşulları altında bitkilerde tohum çimlenmesini teşvik eder, fotosentezi düzenler ve çiçeklenmeyi destekler, ayrıca senesensi geciktirir (Sami vd., 2016: 54). Bu nedenle, glikoz, sükroz ve trehaloz gibi şekerlerin ekzojen uygulamaları, bitkilerde çoğunlukla gelişmiş abiyotik stres toleransı ile ilişkili olup tuzluluğa toleransı artırmaktadır. Arabidopsis fidelerine ekzojen uygulanan %3'lük sükroz ile muamele, lipid peroksidasyonunu azaltıp SOD, CAT ve

POD aktiviteleri, klorofil *a*, *b* ve protein içerikleri, flavonoid sınıfına giren antosiyaninleri ve antosiyanin biyosentezinde görev alan genlerin transkripsiyonunu artırarak gelişmiş tuz toleransı sağlamıştır (Qiu vd., 2014b: 611). Düşük seviyelerde (0,1 ve 0,5 mM) ekzojen glukoz uygulaması ise, buğday fidelerinde tohum çimlenmesinin ve fide gelişiminin inhibisyonunu azaltarak kök uzunluğu ile kök-gövde kuru ağırlıklarını artırmıştır. Ayrıca ekzojen glukoz tarafından gelişmiş K^+ ve K^+/Na^+ oranı, aktive edilmiş antioksidan enzim aktiviteleri ve artan prolin birikimi sağlanmış, dolayısıyla tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) ve malondialdehit (MDA) içeriğinde azalmalar gözlenmiştir. Bu da, ekzojen glukozun buğday fidelerinde hücrel iyon homeostazı ve daha iyi bir antioksidan sistemi ile ilişkili olarak tuz kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu etkiler oluşturduğunu ve tuza direnç sağladığını göstermiştir (Hu vd., 2012: 177). Çilek bitkilerine uygulanan 30 mM ekzojen trehaloz uygulaması da, tuz stresinin neden olduğu pek çok olumsuz etkiyi hafifletmiştir. Artan prolin içeriği ve sürgüne azalan Na^+ aktarımı, bitkilerde iyon homeostazını (özellikle Na^+ kompartımanlaşması) iyileştirip ozmotik korumayı da artırarak daha yüksek fotosentetik kapasite ve daha iyi bir bitki büyümesi sağlamıştır. Ek olarak, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların (karotenoidler, favonoidler ve antosiyaninler dahil) kapasitesindeki bir gelişme ile bağlantılı olarak daha düşük MDA ve süperoksit radikal seviyeleri elde edilmiştir (Samadi vd., 2019: 9).

1.6. Literatür Özeti

Arpa fidelerine 0, 1, 2 ve 5 gün için 200 mM NaCl uygulamasının yapıldığı bir çalışmada, 1 günlük tuz stresi altında arpa fidelerinin köklerinde SOD, CAT, APX, POX ve GR aktivitelerinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. NaCl stresi altındaki arpa kökündeki SOD, CAT, APX, POX ve GR aktivitelerindeki önemli artış, indüklenen izoformların yanı sıra izoformların artan ekspresyonu ile yüksek oranda ilişkilidir. Total SOD aktivitesinin artmasıyla köklerde *SOD3* ve *SOD4*, sürgünlerde *SOD1* ve *SOD5* izoformlarının ekspresyonlarında artış olduğu gözlenmiştir. 1'den 5 güne kadar uygulanan stresin köklerde *CAT1* ekspresyonunda ise sürekli artışa neden olduğu ve köklerde toplam APX aktivitesinin artmasıyla *APX1* ve *APX3* ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir (Kim vd., 2005: 220-221).

Tuz stresine maruz bırakılan bamyada (*Abelmoschus esculentus* L.), artan tuz stresiyile birlikte Na^+ ve Cl^- konsantrasyonlarının arttığı, bununla birlikte çimlenme yüzdesinin, bitki boyunun, kök ve gövde uzunluğunun, fotosentez oranının, stoma iletkenliğinin, kök ve yapraklardaki K^+ konsantrasyonunun ise azaldığı belirlenmiştir (Shahid vd., 2011: 66).

Li ve arkadaşlarının (2015), domates ile yaptıkları çalışmada, 150 mM NaCl stresinin bitki boyunu, yaprak alanını, sürgün ve köklerdeki kuru ağırlığı, net fotosentetik oranı, transpirasyon oranını ve stoma iletkenliğini azalttığı, hücreler arası CO₂ konsantrasyonunu ise artırdığı tespit edilmiştir. Domateste tuz stresinin klorofil *a*, klorofil *b*, karotenoid ve çözünür protein konsantrasyonunu azalttığı ve kök, gövde ve yapraklardaki Na ve Cl konsantrasyonlarını artırıp K, Ca ve Mg seviyelerini azalttığı ifade edilmiştir (Li vd., 2015: 4).

Kanola bitkisine (*Brassica napus* L.) 150 mM NaCl uygulanması sonucunda bitkilerin klorofil içeriğinin, kök ve sürgünlerinin yaş ve kuru ağırlığının azaldığı, lipid peroksidasyonunun ise arttığı tespit edilmiştir. Tuz stresine maruz bırakılan kanolada kök ve sürgünlerdeki katalaz aktivitesinin azaldığı, peroksidaz aktivitesinin sürgünlerde azalıp köklerde arttığı, çözünür fenoliklerin miktarının ise hem kök hem de sürgünde arttığı bildirilmiştir (Hashemi vd., 2010: 249).

Tuz stresine maruz bırakılan ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.), sürgün uzunluğunun ve yaş-kuru ağırlığının, klorofil *a*, klorofil *b* ve total pigmentlerin içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, serbest aminoasit, fenol ve prolin içeriğinin ve SOD, CAT, POX antioksidan enzimlerin aktivitelerinin ise arttığı rapor edilmiştir (Ramadan vd., 2019: 1).

Tuz stresinin toleranslı ve duyarlı buğday genotiplerinde araştırıldığı bir çalışmada da, tuz stresinin bağıl su içeriğini (RWC), klorofil içeriğini (Chl), membran stabilite indeksini (MSI) ve askorbik asit (AA) içeriğini azalttığı hidrojen peroksit ve TBARS (tiyobarbitürik asit reaktif maddeler) içeriğini, SOD, APOX ve GR aktivitelerini artırdığı belirlenmiştir. Strese toleranslı bir genotipte RWC, Chl, MSI ve AA içeriğindeki azalmanın ve H₂O₂ ile TBARS içeriğindeki artışın daha düşük olduğu, SOD ve izozimlerinin, APOX ve GR aktivitelerindeki artışın daha fazla olduğu gözlenmiştir. Strese duyarlı bir genotipte ise AA içeriğindeki azalışın ve H₂O₂ ve TBARS içeriğindeki artışın daha fazla olduğu bunun yanında antioksidan enzimlerin aktivitelerinde az bir artış olduğu saptanmıştır (Sairam vd., 2005: 85).

Soya fasulyesinin farklı konsantrasyonlarda NaCl stresine (0, 50, 100 ve 200 mM) maruz bırakıldığı bir çalışmada, artan tuz seviyesi ile birlikte bitki uzunluğunun ve yaş ağırlığının azaldığı, Na⁺ içeriğinin artıp K⁺, Ca⁺² ve Mg⁺² içeriklerinin azaldığı ifade edilmiştir. Artan NaCl konsantrasyonu ile beraber kontrole göre prolin içeriğinin arttığı, SOD, CAT ve POD aktivitelerinin ise azaldığı tespit edilmiştir (Amirjani, 2010: 350). Maş fasulyesi (*Vigna radiata* L.) ile yapılan bir çalışmada, tuz stresinin MDA, H₂O₂ ve prolin içeriğini artırdığı, yaprak relatif su içeriğini ve klorofil içeriğini ise azalttığı belirlenmiştir. Aynı

zamanda, tuz stresinin askorbat içeriğini, GSH/GSSG oranını, CAT, MDHAR ve DHAR aktivitelerini azalttığı, GSH ve GSSG içeriğini, SOD, APX, GR, GPX ve GST aktivitelerini artırdığı bildirilmiştir (Nahar vd., 2015: 745).

Pervane çiçeğinde (*Catharanthus roseus* (L.) G.Don) tuz stresinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, tuz stresinin kök ve yapraklardaki askorbik asit içeriğini artırdığı, GSH içeriğini ise azalttığı bildirilmiştir. Yüksek seviyelerdeki tuzluluğun kök ve yapraklardaki SOD ve POX aktivitesini ve köklerdeki CAT aktivitesini azalttığı, bunun yanında yapraklardaki CAT aktivitesinde ise anlamlı bir artış olmadığı, kök ve yapraklardaki APX aktivitesinin ise arttığı ifade edilmiştir (Jaleel vd., 2007: 248). Fan ve arkadaşlarının (2013) salatalık ile yaptıkları bir çalışmada, tuz stresinin tohum çimlenmesini inhibe ettiği, kontrole göre MDA içeriğini, protein konsantrasyonunu, SOD ve CAT aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (Fan vd., 2013: 2711). Turp ile yapılan bir çalışmada ise, tuz stresinin kök ve sürgünlerin yaş ve kuru ağırlığını, yaprak klorofil içeriğini, yaprak bağıl su içeriğini ve sodyum hariç mineral içeriğini azaltıp elektrolit sızıntıyı artırdığı rapor edilmiştir (Yildirim vd., 2008: 2069).

Buğdayda yapılan bir çalışmada, tuz stresinin sürgün biyokütlesini, tahıl ağırlığını, K^+ konsantrasyonunu, K^+/Na^+ oranını azalttığı, prolin konsantrasyonunu ve prolin biyosentezinde görev alan *P5CS* ve *P5CR* ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Tavakoli vd., 2016: 712).

Rojas-Tapias ve arkadaşlarının (2012), mısır ile yaptıkları bir çalışmada, tuz konsantrasyonunun artmasıyla kök ve gövde uzunluğunun, kök ve gövde kuru ağırlığının azaldığı, yapraklardaki total polifenol ve prolin içeriğinin arttığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada, tuz seviyesinin artmasıyla Na^+ konsantrasyonunun artıp K^+ konsantrasyonunun ve K^+/Na^+ oranının azaldığı belirlenmiştir (Rojas-Tapias vd., 2012: 269). Wang ve arkadaşlarının (2017), mısıra farklı konsantrasyonlarda (150 ve 300 mM NaCl) tuz stresi uyguladıkları bir başka çalışmada, artan tuz konsantrasyonuyla birlikte bitki boyunun, bitki başına yaprak alanının, bitki başına yaprak yaş ve kuru ağırlığının, relatif yaprak su içeriğinin, net fotosentetik oranın, transpirasyon oranının ve stoma iletkenliğinin azaldığı, hücreler arası CO_2 konsantrasyonunun ve MDA içeriğinin arttığı tespit edilmiştir. Prolin ve çözünür şeker içeriğinin, SOD, POD, CAT ve APX aktivitelerinin 150 mM NaCl konsantrasyonunda kontrole kıyasla arttığı, 300 mM NaCl konsantrasyonunda ise kontrole göre azaldığı bildirilmiştir (Wang vd., 2017: 4-7).

Fasulyede yapılan bir çalışmada, tuz stresinin kök ve sürgün kuru ağırlığını, klorofil *a*, klorofil *b* ve total karotenoid içeriğini, K⁺ konsantrasyonunu, K⁺/Na⁺ oranını azalttığı fakat MDA içeriğini, Na⁺ konsantrasyonunu, CAT, APX ve GR aktivitelerini, askorbat ve total flavonoid içeriklerini artırdığı ifade edilmiştir (Taïbi vd., 2016: 308).

Torreyia grandis cv. Merrillii bitkisine %0,2'lik ve %0,4'lük tuz stresi uygulanması sonucunda, kök ve sürgün kuru kütlesinin, relatif su içeriğinin, klorofil içeriğinin, net fotosentetik oranın, transpirasyon oranının ve stoma iletkenliğinin azaldığı, prolin içeriğinin, elektrolit sızıntı oranının ve MDA içeriğinin arttığı gözlenmiştir. Bununla beraber, %0,2'lik NaCl uygulamasının SOD, CAT ve POD aktivitelerini artırdığı ama %0,4'lük NaCl uygulamasının SOD, CAT ve POD aktivitelerini azalttığı rapor edilmiştir (Li vd., 2014: 4-5).

Soleimani ve arkadaşları (2017), kimyon (*Cuminum cyminum* L.) ile yaptıkları bir çalışmada, kimyona 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl stresi uygulamışlar ve kontrole kıyasla 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarında daha yüksek prolin seviyelerinin biriktiğini gözlemlemişlerdir. Tuz stresinin bitki kuru ağırlığında kademeli bir düşüşe ve sürgün uzunluğunda azalmaya neden olduğunu, bununla birlikte 50, 100 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında bitkilerin SOD, CAT ve APX aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir. Kantitatif RT-PZR analizi sonucunda 50, 100 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarının *Fe-SOD* ve *CAT* genlerinin relatif mRNA seviyelerini artırdığını ancak 200 mM NaCl konsantrasyonunda *Fe-SOD* ve *CAT* genlerinin relatif mRNA seviyelerinde kontrol seviyesine ulaşacak kadar keskin bir düşüş olduğunu belirlemişlerdir (Soleimani vd., 2017: 361).

Khan ve arkadaşlarının (2021) pirinçte yaptıkları bir çalışmada, 70 ve 140 mM NaCl uygulamasının kök ve gövde uzunluğunu, yaş ve kuru ağırlığını, total protein, klorofil *a*, klorofil *b* ve karotenoid içeriğini azalttığı gözlenmiştir. Aynı zamanda, tuz stresinin pirinçte MDA içeriğini, askorbik asit içeriğini, SOD, CAT, POD, APX aktivitelerini ve *OsCATA* ve *OsAPX1* relatif ekspresyonlarını artırdığı tespit edilmiştir (Khan vd., 2021: 6-7).

Yukarıda belirtildiği üzere literatürde tuz stresinin farklı bitki türleri üzerindeki etkilerini ortaya koyan çalışmaların sayısı oldukça fazla olmasına rağmen tuz stresi altında bitkilere glukoz, sükroz gibi çözünür şekerlerin ekzojen uygulamasını konu alan araştırmalar çok daha sınırlı sayıdadır. Örneğin, Hu ve arkadaşları (2012) buğday ile yaptıkları çalışmada, tuz stresi altında buğday fidelerinde büyümenin azaldığını ve tohumların çimlenmesinin önemli ölçüde engellendiğini gözlemlemişlerdir. Ekzojen olarak uygulanan düşük seviyelerdeki glukozun ise tohum çimlenmesindeki ve fide büyümesindeki inhibisyonun

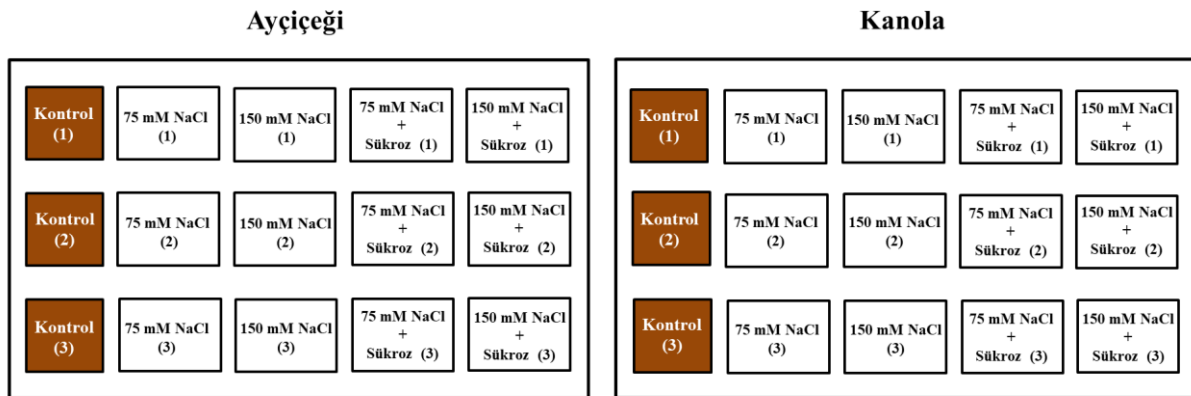
azaltılması üzerinde avantajlı bir etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Tuz stresinin MDA içeriğinde ve su kayıp oranında artışa, yapraklarda bağıl su içeriğinde ve klorofil içeriğinde azalmaya neden olduğunu belirlemişler ve glukoz uygulamasının tuz stresinin bu etkilerini tersine çevirdiğini rapor etmişlerdir. Aynı zamanda, tuz stresi altındaki buğday yapraklarında ekzojen glukozun, prolin akümülyasyonunu, SOD, CAT ve POD aktivitelerini artırdığını ve Na⁺ akümülyasyonunu azaltıp K⁺ konsantrasyonunu artırdığını bildirmişlerdir (Hu vd., 2012: 177). Wang ve arkadaşları (2019) ise, buğday ve çavdar melezi olan tritikale (*× Triticosecale Wittmack*) ile yaptıkları bir çalışmada, tuz stresinin büyümeyi engellediğini, fotosentezi ve biyokütleyi azalttığını belirlemişlerdir. Ekzojen glukoz ve sükroz uygulamasının ise tuz stresinin neden olduğu hasarı azalttığını, fotosentetik kapasiteyi artırdığını, yaş ve kuru kütle akümülyasyonunu daha fazla artırdığını tespit etmişlerdir (Wang vd., 2019: 292).

Güncel literatürde, ayçiçeği ve kanola bitkilerinde tuz stresi ile ilgili yapılan bazı çalışmalar mevcut olmasına rağmen tuz stresinin hem ekofizyolojik hem de moleküler seviyede etkilerinin her iki bitkide birlikte incelendiği herhangi bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Dahası, bu bitkilere uygulanan ekzojen sükroz uygulamasının tuz stresinin neden olduğu etkileri ne derece iyileştirdiğinin araştırılması ise, çalışmamızı literatürdeki diğer çalışmalardan farklı kılarak tümüyle özgün hale getirmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda iki farklı tuz konsantrasyonu (75 mM NaCl ve 150 mM NaCl) ve bu konsantrasyonlardaki tuz ile birlikte uygulanan ekzojen sükrozun (75 mM NaCl+Sükroz ve 150 mM NaCl+Sükroz) iki önemli endüstri bitkisi olan ayçiçeği ve kanola üzerindeki etkileri incelenmiş olup; prolin, SOD, CAT, APX gibi bazı antioksidanların aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle tespit edilmiştir. Bu antioksidanların gen ekspresyon seviyelerinde meydana gelen değişimler ise, kantitatif gerçek zamanlı PZR ile belirlenmiştir.

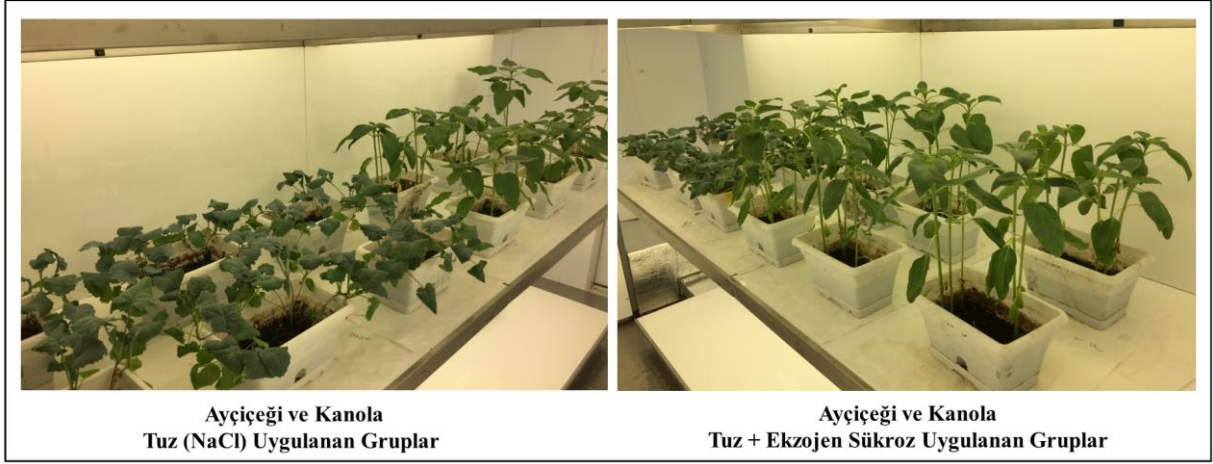
2. MATERYAL METOD

2.1. Bitki Örneklerinin Yetiştirilmesi, Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamaları

Bu çalışmada endüstri bitkileri arasında yer alan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) ve kanola (*Brassica napus* L.), bitki materyalleri olarak kullanılmıştır. Ayçiçeği ve kanolaya ait tohumlar, sterilizasyon için %10'luk NaClO (Tekkim) içerisinde 10 dakika bekletilmiş, ardından 3 kez distile suyla yıkanmıştır. Daha sonra her saksıya 8 adet tohum olacak şekilde ekim yapılmıştır. Bir bitki için kontrol, NaCl ve NaCl ile birlikte sükroz olmak üzere 5 grup (kontrol, 75 mM Tuz, 150 mM Tuz, 75 mM Tuz+Sükroz ve 150 mM Tuz+Sükroz) ve 3 tekrar olacak şekilde toplamda iki bitki türü için 30 adet saksı kullanılmıştır (Şekil 2.1). Tohumlar, 30 gün boyunca iklim kabininde (DigiTech) distile su ile sulanarak yetiştirilmiştir. Sonrasında, bu gruplardan biri kontrol grubu olarak belirlenip yine distile su ile sulanmaya devam edilmiş, diğer gruplar da 75 mM NaCl, 150 mM NaCl, 75 mM NaCl+%3'lük Sükroz ve 150 mM NaCl+%3'lük Sükroz olmak üzere dört farklı çözelti ile sulanmıştır (Şekil 2.2). Bitkilere 7 kez tuz (NaCl) ve tuzla birlikte ekzojen olarak %3'lük sükroz ($C_6H_{12}O_6$) uygulanmış ve 45 günün sonunda da bitki örnekleri toplanmıştır.



Şekil 2.1. Ayçiçeği ve kanolaya ait saksıların deney gruplarına göre şematik gösterimi



Şekil 2.2. Ayçiçeği ve Kanolada 7. uygulama sonunda tuz (NaCl) ve tuzla birlikte uygulanan ekzojen sükroz gruplarına ait saksı görüntüleri

2.2. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi

Deney sonunda, bitki örnekleri saksılarından çıkarılarak topraklarından temizlenmiştir. Toplanan fidelerin kök-gövde uzunlukları (cm) cetvel ile ölçülmüş, kök-gövde yaş ve kuru ağırlıkları (g) ise hassas terazi (RADWAG) ile belirlenmiştir. Yaş ağırlıkları alınan kök ve sürgün örnekleri, 70 °C'ye ayarlı etüvde 72 saat boyunca bekletilerek kurutulmuş ve sonrasında hassas terazi ile örneklerin kök-gövde kuru ağırlık ölçümleri tartılarak tespit edilmiştir. Örneklerin kök-gövde biyokütleleri ve tuzluluk tolerans indeksleri hesaplanmıştır.

2.3. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Bitki örneklerinin klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriğinin belirlenmesi için her bir deney grubuna ait taze yaprak örneği 0,05 g tartılarak %80'lik 15 ml aseton (Merck) ile homojenize edilmiş ve homojenatın absorbans değerleri spektrofotometrede (AgileSpec) 645 nm ve 663 nm dalga boylarında okunmuştur. İki farklı dalga boyundaki absorbans değerleri aşağıda verilen denklemlerde yerine koyularak bitki örneklerinin klorofil *a*, *b* ve toplam klorofil içerikleri mg/ml olarak belirlenmiştir (Porra, 2002: 151).

Klorofil *a*: $[12.7 (D_{663}) - 2.69 (D_{645})] (V/1000W)$

Klorofil *b*: $[22.9 (D_{645}) - 4.68 (D_{663})] (V/1000W)$

Toplam Klorofil: $[20.2 (D_{645}) + 8.02 (D_{663})] (V/1000W)$

D: Klorofil ekstratının belirtilen dalga boyundaki absorbans değeri

V: %80'lik aseton hacmi

W: Ekstre edilen dokunun gr olarak yaş ağırlığı

2.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi için Yapraklardan Protein Ekstraksiyonu

Antioksidan enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi için yapraklardan protein ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 0,1 g yaprak örnekleri, sıvı azot ile toz haline gelinceye kadar ezilmiş ve 2 ml ekstraksiyon tamponu [50 mM K₂HPO₄ (Carlo Erba), 50 mM KH₂PO₄ (Carlo Erba), %1 PVP (Biomatik), 1mM EDTA (VWR Chemicals)] ile homojenize edilmiştir. Bu karışım vorteksle (WiseMix® VM-10) 15 saniye boyunca karıştırılmış ve sonrasında 20000 g'de 20 dk +4 °C'de santrifüj (HERMLE) edilmiştir. Oluşan süpernatant, yeni eppendorf tüpe alınarak enzim aktivitesi tayininde kullanılmak üzere -80 °C'ye (Thermo Scientific) kaldırılmıştır. APX aktivitesini ölçmek için kullanılan ekstraksiyon tamponuna diğer kimyasallara ek olarak ayrıca 5 mM askorbik asit (Tekkim) eklenmiştir (Chaoui vd., 1997: 141).

2.5. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Bitkilerde lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak, malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmektedir. Bitkilerden alınan 0,25 g yaprak örnekleri, 5 ml %0,1'lik trikloroasetik asit (TCA) (Bio Basic) ile homojenize edildikten sonra homojenat 15000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerin berrak kısımlarından 500 µl alınıp üzerine 2 ml %20'lik TCA içerisinde çözülmüş %0,5'lik tiyobarbitürik asit (TBA) (Carlo Erba) eklenmiştir. Oluşan karışım, 95 °C'de 30 dk inkübe edildikten sonra hızlıca buz banyosunda soğutulmuştur. Sonrasında, 10000 rpm'de 10 dk santrifüj yapılmış ve berrak kısımlardan alınarak spektrofotometrede 532 nm ve 600 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür (Hodges vd., 1999: 605; Sairam ve Saxena, 2000: 56). Bu absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine yazılarak malondialdehit (MDA) içerikleri belirlenmiştir.

$$\text{MDA (nmol ml}^{-1}\text{)} = [(A_{532}-A_{600})/155\ 000] \cdot 10^6$$

2.6. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Prolin içeriğinin belirlenmesi için, sıvı azotla ezilen 0,5 g yaprak örneklerine 10 ml %3'lk sulu slfosalisik asit (Merck) eklenerek homojenize edilmiştir. Ardından rnekler, 8000 rcf'de 15 dk boyunca santrifüj edilmiş ve filtreleme kağıdında filtrelenerek süpernatantları alınmıştır. Yeni test tüplerine bu süpernatant kısımlardan 2 ml alınıp üzerine 2 ml asit ninhidrin (ninhidrin, asetik asit ve fosforik asitten oluşan bir çözelti) ve 2 ml glasiyal asetik asit (Merck) eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım 100 C'de 1 saat boyunca inkübe edilmiş ve sonrasında reaksiyonun sonlandırılması için 5 dk buz banyosunda soğutulmuştur. Daha sonra karışıma 4 ml toluen (Emboy) eklenip en az 15 saniye vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Son olarak oluşan karışımın st fazı alınarak 520 nm dalga boyunda absorbans okuması yapılmıştır. Kr olarak saf toluen kullanılmıştır. Prolin konsantrasyonu, standart grafikten elde edilmiştir ve yaş ağırlık bazında hesaplanmıştır. Standart grafiğinin oluşturulması için prolin konsantrasyonu bilinen standartlar kullanılmıştır. 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 g prolin standartları alınarak 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüş ve absorbans değerleri kullanılarak bir grafik oluşturulmuştur. Grafikten elde edilen formül ($y = 0,0379x - 0,0202$) ve aşağıdaki formül kullanılarak örneklerin prolin konsantrasyonu hesaplanmıştır (Bates vd., 1973: 206).

$$[(\mu\text{g prolin/ml} \times \text{ml toluen}) / 115,5 \mu\text{g}/\mu\text{mol}] / [(g \text{ örnek})/5] = \mu\text{mol prolin/g yaş ağırlık}$$

2.7. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.7.1. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Enzim aktiviteleri hesaplanırken protein miktarları kullanıldığı için elde edilen yaprak ekstraktlarının öncelikle protein içerikleri belirlenmiştir. Protein konsantrasyonlarının belirlenmesinde, sığır serum albümini (BSA) standart olarak kullanan Bradford metodu tercih edilmiştir (Bradford, 1976: 249). Protein içeriği belirlenirken 780 l dH₂O zerine 20 l enzim çözeltisi konulmuştur. Bu karışımın üzerine 200 l 5X Bradford (Serva) zeltisi de eklenmiş ve vorteksle karıştırılmıştır. Ardından, son karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra absorbans değerleri spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda üç tekrarlı olarak okunmuştur. Standart grafiği için, 1 mg/ml BSA (Sigma) stoğu kullanılmıştır. BSA stoğundan 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 g protein alınarak absorbans değerleri belirlenmiştir. Standartların absorbans değerleri kullanılarak bir grafik oluşturulmuş ve bu grafikten elde edilen formül ($y = 0,0073x - 0,0053$) sayesinde protein konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin konsantrasyonları hesaplanmıştır.

2.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD aktivitesi, nitro blue tetrazolyumun (NBT) fotoredüksiyonundaki inhibisyonun spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle belirlenmiştir. U/mg protein şeklinde ifade edilen SOD aktivitesinin bir birimi (U), NBT'nin fotokimyasal redüksiyonunda %50 oranında inhibisyon sağlayan SOD enzim miktarı olarak tanımlanır (Alici ve Arabaci, 2016: 3). SOD aktivitesinin belirlenmesi için, 20 µl enzim özütü ve 1 ml SOD tamponu [0,05 mM Na₂HPO₄ (Carlo Erba), 0,033 mM NBT (TCI), 0,0033 mM Riboflavin (Alfa Aesar), 10 mM L-metiyonin (AMRESCO) ve 0,66 mM EDTA (VWR)] 10 dk süre ile 300 µmol m⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğunda beyaz floresan ışık altında bekletilerek absorbans değerleri köre karşı spektrofotometrede (AgileSpec) 560 nm dalga boyunda okunmuş ve % inhibisyon değerlerinin belirlenmesi için kaydedilmiştir. % inhibisyon değerleri ise, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = (\text{Kontrolün Abs.} - \text{Örneğin Abs.}) \times 100 / \text{Kontrolün Abs.}$$

Örnek: Enzim özütü içeren SOD reaksiyon tamponu

Kontrol: Enzim özütü içermeyen SOD reaksiyon tamponu

2.7.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz aktivitesi, hidrojen peroksidin katalaz enziminin yardımıyla su ve oksijene parçalanması sonucu 240 nm dalga boyunda meydana gelen absorbans değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle belirlenmiştir. Öncelikle, 20 µl enzim özütü üzerine 1 ml CAT reaksiyon tamponu [50 mM K₂HPO₄, 50 mM KH₂PO₄ ve 30 mM H₂O₂ (Carlo Erba)] eklenmiş ve tüp içerisinde pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Köre olarak enzim özütü içermeyen CAT reaksiyon tamponu kullanılmış ve örneklerin köre karşı 240 nm dalga boyunda 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınarak absorbans değerlerindeki değişimler kaydedilmiştir (Aebi, 1984: 123-124). Toplam katalaz aktivitesi, aşağıdaki denkleme göre U/µg protein şeklinde hesaplanmıştır.

$$\text{CAT Aktivitesi (U/}\mu\text{g)}: [(\Delta\text{Abs} \times V_{\text{toplamlar}}) / \epsilon \times t \times V_{\text{enzim}} \times l] / \text{TP}$$

ϵ = Ekstinksiyon katsayısı (40 mmol/L.cm)

$V_{\text{toplamlar}}$: Toplam hacim (1,020 ml)

V_{enzim} : Reaksiyona konulan enzim hacmi (0,02 ml)

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre (3 dk)

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg/ml)

2.7.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

APX enzim aktivitesinin belirlenmesi için 20 µl enzim özütü üzerine 1 ml APX reaksiyon tamponu (50 mM K₂HPO₄, 50 mM KH₂PO₄, 250 µM askorbik asit ve 5 mM H₂O₂) eklenmiş ve tüp içerisinde pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Kör olarak enzim özütü içermeyen APX reaksiyon tamponu kullanılmış ve örneklerin köre karşı 290 nm dalga boyunda 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınarak absorbans değerlerindeki değişimler kaydedilmiştir (Chaoui vd., 1997: 141; Murshed vd., 2008: 320). Toplam APX aktivitesi, aşağıdaki denkleme göre U/µg protein şeklinde hesaplanmıştır.

APX Aktivitesi (U/µg): $[(\Delta \text{Abs} \times V_{\text{toplam}}) / \epsilon \times t \times V_{\text{enzim}} \times l] / \text{TP}$

ϵ : Ekstinksiyon katsayısı (2,8 mmol/L.cm)

V_{toplam} : Toplam hacim (1,020 ml)

V_{enzim} : Reaksiyona konulan enzim hacmi (0,02 ml)

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre (3 dk)

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg/ml)

2.8. Antioksidanlara Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi

2.8.1. Total RNA İzolasyonu

Total RNA izolasyonu için iki ayrı kit kullanılmıştır. Kanola için HibriGen Total RNA İzolasyon Kiti kullanılırken, ayçiçeğinde daha etkili bir sonuç için Macherey-Nagel NucleoSpin® TriPrep Total DNA, RNA ve Protein İzolasyon Kiti kullanılmıştır. -80 °C'de muhafaza edilen bitki örnekleri çıkarılarak steril havanda sıvı azotla toz haline gelinceye kadar ezilmiş ve RNA izolasyonunda kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir.

Kanola için HibriGen Total RNA izolasyon kitinin kullanım kılavuzu takip edilerek 100 mg bitki örneğinin üzerine 1ml HT tamponu eklenmiş ve karışım homojen hale gelene kadar vortekste 10 saniye boyunca karıştırılmıştır. 5 dakika buzda inkübasyondan sonra 4 °C'de 12000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatant yeni bir RNaz

bulundurmayan mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Ardından, 200 µl kloroform eklenip homojen hale gelmesi için 15 saniye boyunca vorteks ile karıştırılmış ve 10 dakika buz üzerinde inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında, 4 °C’de 12000 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası iki ayrı faz içeren karışımın renksiz RNA içeren en üst fazı pipet yardımıyla dikkatlice alınarak yeni bir RNaz bulundurmayan boş bir tüpe aktarılmıştır. Alınan renksiz fazın hacmine göre ½ oranında önceden soğutulmuş etanol (%100) eklenmiş ve bu karışım vorteksle iyice karıştırılarak filtreli bir tüpe aktarılmıştır. Daha sonra, 4 °C’de 12000 rpm’de 30 sn santrifüj edilmiş ve filtrenin altındaki tüpte toplanan sıvı atılmıştır. Filtreye 500 µl RY1 eklenmiş ve 4 °C’de 12000 rpm’de 30 sn boyunca santrifüj edilerek tekrar altta kalan sıvı atılmıştır. Ardından filtreye 500 µl RY2 eklenip 1 dk oda sıcaklığında inkübasyon yapılmış ve 4 °C’de 12000 rpm’de 30 sn boyunca santrifüj edilerek yine altta kalan sıvı atılmış ve bu adım bir kez daha tekrarlanmıştır. RY2 ile iki yıkama işleminden sonra filtreli tüp kuruması için 12000 rpm’de 2 dk santrifüj edilmiş ve sonra filtreli tüpün içindeki kolon 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpe yerleştirilmiştir. Son olarak, direkt membran üzerine 50 µl DEPC ile muamele edilmiş su eklenerek 10 dk oda sıcaklığında inkübasyon yapılmış ve 12000 rpm’de 2 dk boyunca santrifüj edilerek RNA’nın bu suyun içerisinde toplanması sağlanmıştır. Nihayetinde tüp içerisinde bulunan saf RNA ise, daha sonra kullanılmak için -80 °C’de saklanmıştır.

Ayçiçeğinde ise, Macherey-Nagel NucleoSpin® TriPrep Total DNA, RNA ve protein izolasyon kitinin protokolü takip edilerek 100 mg bitki örneğinin üzerine 350 µl RP1 ve 3,5 µl β-merkaptoetanol eklenerek vorteks yapılmıştır. Karışım, bir toplama tüpündeki NucleoSpin filtreye (pembe halkalı) alınarak 1 dk 11000 g’de santrifüj edilmiştir. Daha sonra, bu filtre atılarak toplama tüpünde (2 ml) toplanan sıvı üzerine 350 µl %70 etanol eklenmiş ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Elde edilen karışım, bir toplama tüpüne yerleştirilmiş olan NucleoSpin TriPrep kolona (mavi halkalı) alınmış ve 30 sn 11000 g’de santrifüj edilmiş, sonrasında kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Ardından, iki defa tekrarlanmak üzere kolona 500 µl DNA Wash eklenerek 1 dk 11000 g’de santrifüj edilmiş ve kolonun altında kalan sıvı atılmıştır. Kolon 1,5 ml’lik bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildikten sonra, etanol kalıntıları kalmadığından emin olmak için kolonun kapağı açık bırakılarak oda sıcaklığında 3 dakika boyunca kurutulmaya bırakılmıştır. Sonra, kolona 100 µl DNA Elute eklenerek 5 dk inkübasyon yapılmış, ardından 1 dk 11000 g’de santrifüj edilmiştir. Kolonda kalan DNA parçalarından kurtulmak için, kolon üzerine 95 µl rDNase reaksiyon karışımından eklenmiş ve 37 °C’de 15 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda yıkama işlemlerine

geçilerek kolon üzerine 200 µl RA2 tamponundan eklenmiş ve 30 sn 11000 g'de santrifüj edilerek kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Daha sonra, 600 µl RA3 tamponu eklenerek tekrar 30 sn 11000 g'de santrifüj edilmiş ve altta kalan sıvı atılmıştır. Son olarak, 250 µl RA3 tamponu eklenerek 2 dk 11000 g'de santrifüj edilmiştir. RNaz-olmayan bir tüpe (1,5 ml) yerleştirilen kolonun üzerine 60 µl RNase-olmayan H₂O eklenerek 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve 1 dk 11000 g'de santrifüj edilerek saf RNA elde edilmiştir. Elde edilen RNA'lar, uzun süreli kullanım için -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.8.2. Total RNA Miktarının Belirlenmesi

İzole edilen RNA örneklerinden 5 µl alınarak %1'lik 100 ml agaroz jelde 100V'da 40 dk yürütülmüştür. Jelde parlak çift bant şeklinde görünen örnekler cDNA sentezi için uygun bulunarak cDNA'ya çevrilmiştir. Jelde çok silik ve sürüntü halinde görünen örnekler için, RNA izolasyonu tekrarlanmıştır.

2.8.3. cDNA Sentezi

İzole edilen RNA örnekleri, A.B.T. cDNA sentez kiti [A.B.T.TM cDNA Synthesis Kit with RNase Inh. (High Capacity)] kullanılarak cDNA'ya dönüştürülmüştür. Her bir örnek için steril bir 0,2 ml'lik santrifüj PCR tüpüne sırasıyla 3,5 µl RNaz-serbest su, 2 µl 10X Reaksiyon Tamponu, 1 µl dNTP mix, 2 µl Rastgele Hexamer (50 µM), 0,5 µl RNaz İnhibitör, 1 µl Reverse Transkriptaz ve son olarak 10 µl RNA örneği eklenmiş ve ardından toplam hacmi 20 µl olan bu karışım mikrosantrifüj (STARLAB) spinlenmiştir. Daha sonra örnekler, Thermal Cycler'da (Applied Biosystems) 25 °C'de 10 dk, 37 °C'de 120 dk ve 85 °C'de 5 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, örnekler kantitatif gerçek zamanlı PZR'de kullanılmak üzere -20 °C'ye kaldırılmıştır.

2.8.4. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İçin Primer Tasarımı

Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPZR) deneylerinde kullanılacak olan genler için özel primerler tasarlanmıştır. Ayçiçeği ve kanolaya ait primerler ve dizileri aşağıda listelenmiştir (Tablo 2.1 ve 2.2). Liyofilize gelen primerler 15 sn 10000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Her primere üzerinde belirtilen miktar kadar nükleaz-serbest dH₂O eklenmiş ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. İlk önce 100 µM'lık stok solüsyonları hazırlanmış, ardından bu stok solüsyonlardan 10 µM'lık çalışma solüsyonları oluşturulmuştur. Stok ve çalışma solüsyonlarının her ikisi de, daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

Tablo 2.1. Ayçiçeğinde qPZR için kullanılan primerler ve nükleotit dizileri

Primer Adı	Nükleotit Dizisi (5'-3')	T _m (°C)
SOD-Mn (F)	5'-CTGGAAAGAATCTTGCCCCTACTCGT-3'	65
SOD-Mn (R)	5'-CAACCAATTTTTCCATAGAACCAAAATG-3'	59
CAT (F)	5'-CTTCCCGCTTGAATGTGAAG-3'	64
CAT (R)	5'-CCGATTACATAAACCCATCATC-3'	60
APX (F)	5'-TGGCGATGCCTATTGTAGAC-3'	57
APX (R)	5'-TCCTCGCAAAAATCGATAGC-3'	55
P5CS (F)	5'-TGGCAATGGAAGTGAAGGCA-3'	57
P5CS (R)	5'-TCCATCCCACCTCTTCCCAT-3'	59
Aktin (F)	5'-AGGGCGGTCTTTCCAAGTAT-3'	64
Aktin (R)	5'-ACATACATGGCGGGAACATT-3'	63

Tablo 2.2. Kanolada qPZR için kullanılan primerler ve nükleotit dizileri

Primer Adı	Nükleotit Dizisi (5'-3')	T _m (°C)
SOD-Mn (F)	5'-TCAATCCAGACCTTCACGCT-3'	57
SOD-Mn (R)	5'-TTGAACTTGATGGCGCTCTG-3'	57
CAT (F)	5'-AGAGGGTTGTTTCATGCGAGA-3'	57
CAT (R)	5'-TGGTGTA AAACTTGACGGCG-3'	57
APX (F)	5'-ACTAGTTAACTCTGGGGCCA-3'	57
APX (R)	5'-GCTTAGAACAACGTCACATAGC-3'	58
P5CS (F)	5'-GGTCCTCCAAGCGATCCTAA-3'	59
P5CS (R)	5'-GGAATGCCACCATAAGCTGC-3'	59
GAPDH (F)	5'-GCCGCTTCCTTCAACATCAT-3'	57
GAPDH (R)	5'-TCGCAGCTTTCTCGAGTCTA-3'	57

2.8.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı PZR

Elde edilen cDNA'lar, kantitatif gerçek zamanlı PZR için kalıp olarak kullanılmıştır. Kantitatif gerçek zamanlı PZR deneyinden önce, cDNA örneklerinin Nanodrop Spektrofotometre (AgileSpec) ile 260 nm ve 280 nm dalga boyunda saflık ve miktarları belirlenmiş ve konsantrasyonu yüksek olan örnekler, uygun miktarlarda seyreltilmiştir. Daha sonra kantitatif gerçek zamanlı PZR, A.B.T.TM 2X qPCR SYBR-Green MasterMix (without ROX) kiti kullanılarak yapılmıştır. Bileşenler (Tablo 2.3), kitin kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde PZR strip tüplere ilave edilmiş ve PZR reaksiyonu, PZR cihazında (Agilent Technologies) gerçekleştirilmiştir (Tablo 2.4).

Kantitatif gerçek zamanlı PZR reaksiyonu, her bir cDNA örneği için hem P5CS, SOD-Mn, CAT, APX antioksidan genleri hem de normalizatör genler olan Aktin ve GAPDH genlerine ait primerler kullanılarak 3'er tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.3. Kantitatif gerçek zamanlı PZR bileşenleri

Bileşenler	Miktar
cDNA kalıp	1 µl
Primer Forward (F)	0,5 µl
Primer Reverse (R)	0,5 µl
DEPC'li su	3 µl
A.B.T. TM 2X qPCR SYBR-Green MasterMix (without ROX)	5 µl
Total Hacim	10 µl

Tablo 2.4. Kantitatif gerçek zamanlı PZR sıcaklık döngüsü

95 °C	5 dk	1 döngü
95 °C	30 sn	40 döngü
60 °C	1 dk	
95 °C	30 sn	1 döngü
65 °C	30 sn	
95 °C	30 sn	

2.9. İstatiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

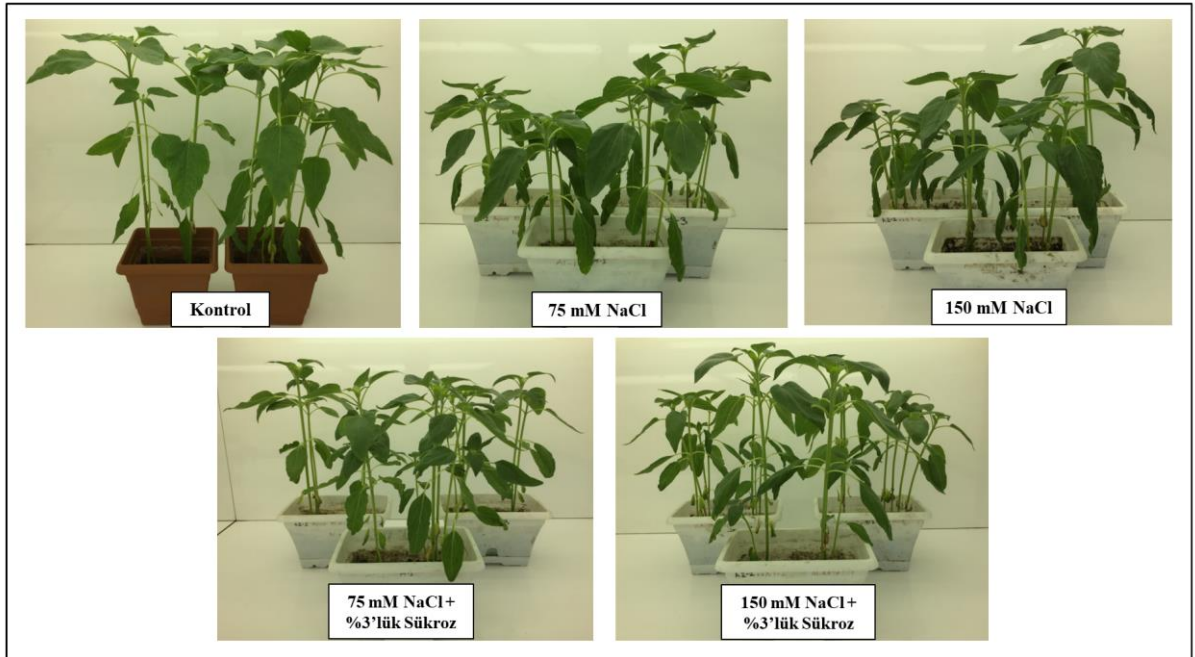
Kontrol grupları, farklı konsantrasyonlarda tuz (NaCl) ve tuzla birlikte ekzojen sükroz uygulanan deney gruplarıyla yapılan her çalışma, 3 bağımsız tekrarla gerçekleştirilmiştir. İstatiksel analizler için, GraphPad programında iki yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) kullanılarak p değeri hesaplanmıştır. Önemli değerler “*” ve “•” işareti ile gösterilirken standart sapmalar “±” işareti ile belirtilmiştir.

3. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

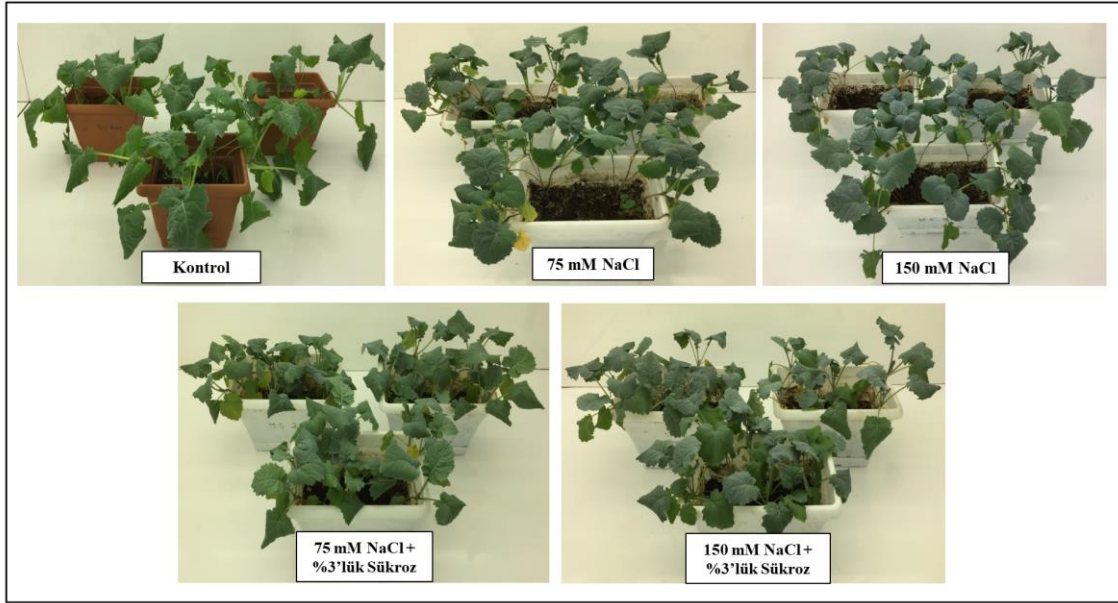
3.1. Sonuçlar

3.1.1. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi

İki farklı tuz konsantrasyonu (75 ve 150 mM NaCl) ve bu tuz konsantrasyonlarıyla birlikte uygulanan ekzojen sükroz takviyesi (75 mM NaCl+Sükroz ve 150 mM NaCl+Sükroz) altında yetiştirilen ayçiçeği ve kanola bitkilerinden 7. uygulama sonunda kök ve yaprak örnekleri toplanmış ve bazı ekolojik parametreler belirlenmiştir. İki farklı tuz konsantrasyonunun ayçiçeği ve kanola bitkilerine ait yaprakların bir kısmında kloroza ve devamında bu yaprakların kurummasına neden olduğu saptanmıştır. Tuz ve sükrozun birlikte uygulandığı gruplarda ise, sadece tuz uygulanan gruplara kıyasla bu olumsuzlukların daha az olduğu ve nispeten iyileştirici etkilerin görüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



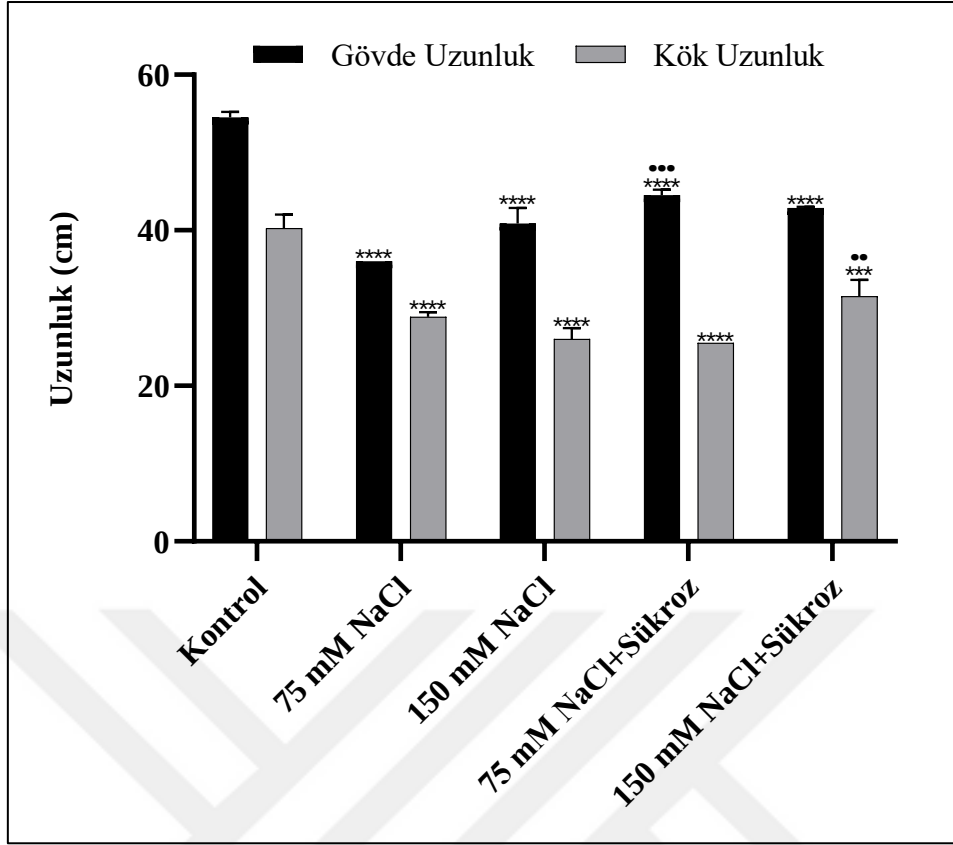
Şekil 3.1. Tuz ve tuz+sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin 7. uygulama sonundaki saksı görüntüleri



Şekil 3.2. Tuz ve tuz+sükroz uygulanan kanola örneklerinin 7. uygulama sonundaki saksı görüntüleri

İki farklı tuz konsantrasyonunda yetiştirilen ayçiçeği fidelerinin kontrole (54,5 cm) göre gövde uzunluğunda önemli bir azalma görülürken, 75 mM NaCl uygulanan örneklerin gövde uzunluğunun (36 cm) 150 mM NaCl uygulanan bitkilerin gövde uzunluğuna (40,9 cm) kıyasla daha kısa olduğu gözlemlenmiştir. Ayçiçeği fidelerinde NaCl+sükroz uygulanan grupların gövde uzunluklarının da (sırasıyla 44,5 cm; 42,9 cm) kontrole göre daha az olduğu, ancak sükroz takviyesinin sadece tuz uygulanan deney gruplarına göre gövde uzunluklarında artış sağladığı belirlenmiştir. Özellikle 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin gövde uzunluğunda (44,5 cm), sadece 75 mM NaCl uygulanan örneklerin gövde uzunluğuna göre (36 cm) önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Artan tuz konsantrasyonuyla birlikte ayçiçeği fidelerinin kök uzunluğunda (sırasıyla 28,9 cm; 26 cm) kontrole (40,3 cm) göre önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir. Sükroz uygulanan grupların kök uzunluğunun (sırasıyla 25,5 cm; 31,5 cm) da kontrole göre oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Sadece tuz uygulanan deney gruplarıyla karşılaştırıldığında, 75 mM NaCl+sükroz grubunun kök uzunluğunun azalırken 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında kök uzunluğunun arttığı kaydedilmiştir (Grafik 3.1).

Ayçiçeğinde tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en uzun gövde (54,5 cm) ve kök (40,3 cm) uzunluğuna kontrol grubunda rastlanmıştır. En kısa gövde uzunluğuna (36 cm) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en kısa kök uzunluğuna (25,5 cm) 75 mM NaCl+sükroz uygulanan grupta rastlanmıştır (Grafik 3.1).



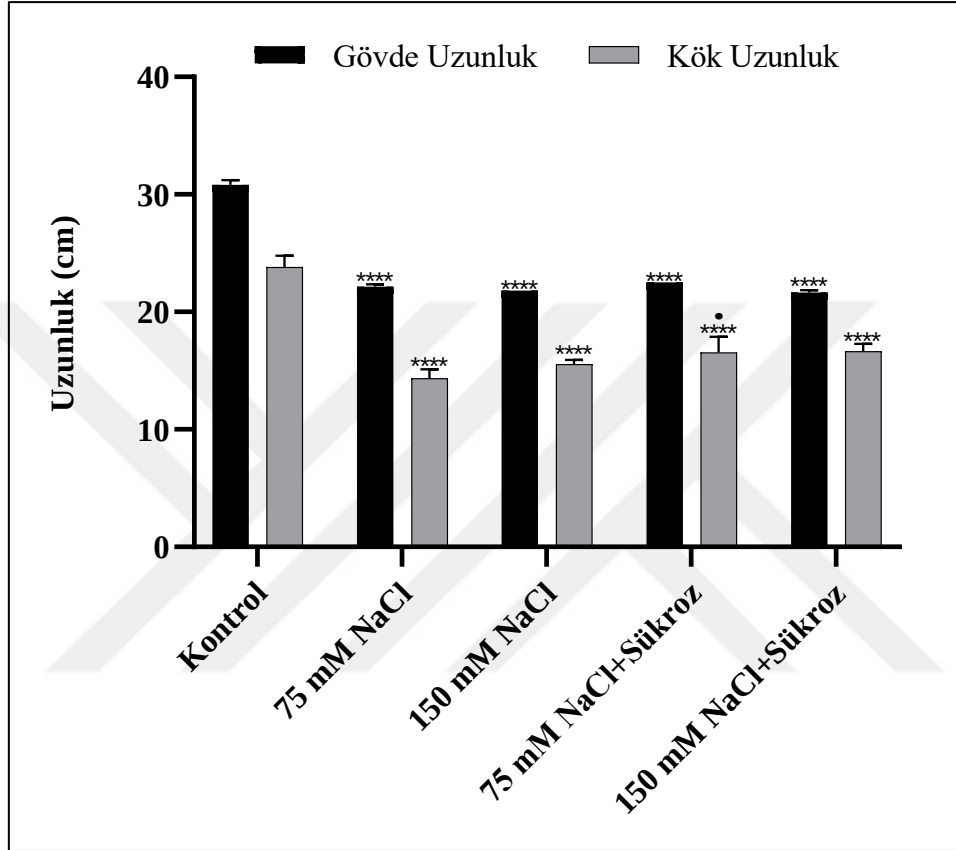
Grafik 3.1. Ayçiçeği örneklerine ait gövde ve kök uzunlukları

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

75 ve 150 mM NaCl uygulanan kanola fideleri, kontrolle (30,8 cm) karşılaştırıldığında her iki NaCl konsantrasyonunda da gövde uzunluğunun (sırasıyla 22,2 cm; 21,8 cm) önemli derecede azaldığı görülmüştür. Benzer şekilde, sükroz uygulanan grupların gövde uzunlukları da (sırasıyla 22,5 cm; 21,7 cm) kontrole göre önemli derecede azalmıştır. NaCl+sükroz uygulanan örneklerin gövde uzunlukları ile sadece tuz uygulanan örneklerin gövde uzunlukları karşılaştırıldığında, sükroz takviyesinin gövde uzunluğu üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. 75 ve 150 mM NaCl uygulanan grupların kontrole (23,8 cm) kıyasla kök uzunluklarında anlamlı bir azalış gözlenmiş, 75 mM NaCl uygulanan bitkilerin kök uzunluğunun (14,4 cm) 150 mM NaCl uygulanan bitkilerin kök uzunluğuna (15,6 cm) kıyasla daha fazla azaldığı saptanmıştır. NaCl+sükroz uygulanan grupların kök uzunlukları da (sırasıyla 16,6 cm; 16,7 cm), kontrole göre önemli derece azalmıştır. 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin kök uzunluğunun sadece 75 mM NaCl uygulanan örneklerin kök uzunluğundan önemli derecede fazla olması, sükroz takviyesinin düşük tuz konsantrasyonunda kök uzunluğunu artırdığını göstermiştir (Grafik 3.2).

Kanolada tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en uzun gövde (30,8 cm) ve kök (23,8 cm) uzunluğuna kontrol grubunda rastlanmıştır. En kısa gövde uzunluğuna (21,7 cm) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanırken, en kısa kök uzunluğuna (14,4 cm) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.2).



Grafik 3.2. Kanola örneklerine ait gövde ve kök uzunlukları

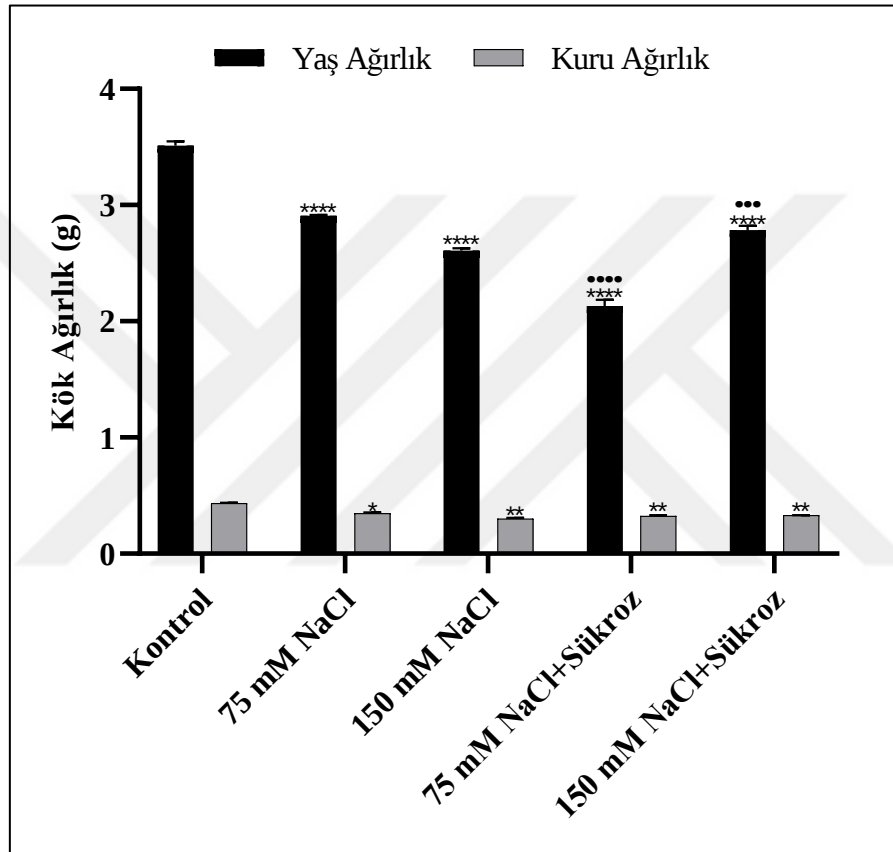
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Ayçiçeği bitkisine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları incelendiğinde, tüm deney gruplarında kök yaş ve kuru ağırlığının kontrole (sırasıyla 3,511 g; 0,435 g) göre önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. 75 ve 150 mM NaCl uygulanan bitki gruplarında, artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak köklerin yaş (sırasıyla 2,908 g; 2,607 g) ve kuru (sırasıyla 0,350 g; 0,303 g) ağırlıklarında önemli bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. NaCl ile birlikte uygulanan sükroz gruplarında ise, 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin kök yaş ve kuru ağırlığının (sırasıyla 2,132 g; 0,326 g) 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin kök yaş ve kuru ağırlığına (sırasıyla 2,786 g; 0,331 g) göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. 75 mM

NaCl+sükroz uygulamasının, sadece NaCl uygulanan gruba göre kök yaş ağırlığını önemli ölçüde azalttığı, 150 mM NaCl+sükroz uygulamasının ise sadece NaCl uygulanan gruba göre kök yaş ağırlığını önemli derecede artırdığı tespit edilmiştir (Grafik 3.3).

Ayçiçeğinde tüm gruplar kıyaslandığında, en yüksek kök yaş (3,511 g) ve kuru ağırlığı (0,435 g) kontrol grubunda gözlenmiştir. En düşük kök yaş ağırlığı (2,132 g) 75 mM NaCl+sükroz grubunda bulunmuş iken, en düşük kök kuru ağırlığına (0,303 g) ise 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.3).



Grafik 3.3. Ayçiçeği örneklerine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları

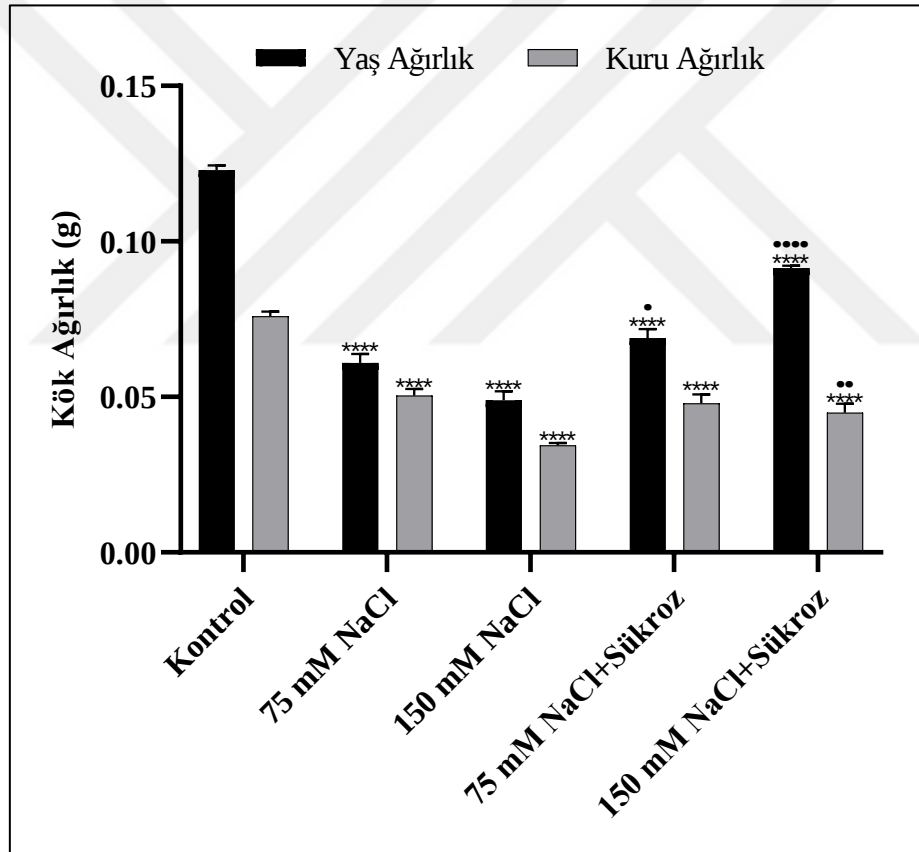
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola bitkisine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları incelendiğinde, 75 ve 150 mM NaCl uygulanan grupların kök yaş ve kuru ağırlığında kontrol grubuna (sırasıyla 0,123 g; 0,076 g) kıyasla önemli derecede bir azalma gözlenmiştir. Artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak 150 mM NaCl uygulanan örneklerin kök yaş (0,049 g) ve kuru ağırlığının (0,035 g), 75 mM NaCl uygulanan örneklerin kök yaş (0,061 g) ve kuru ağırlığına (0,051 g) göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda da örneklerin kök yaş ve kuru

ağırlığında kontrole göre bir azalma olduğu tespit edilmiştir. 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin kök yaş ağırlığında (0,069 g) 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklere (yaş ağırlığı 0,092 g) göre daha fazla ölçüde azalma gözlenmiştir. 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerde ise kök kuru ağırlığı (0,045 g), 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklere (kuru ağırlığı 0,048 g) göre bir azalış göstermiştir. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamaları, sadece NaCl uygulanan örneklere göre köklerin yaş ağırlığını önemli ölçüde artırmıştır. Yine 150 mM NaCl ile kıyaslandığında 150 mM NaCl+sükrozun da, kök kuru ağırlığında önemli derecede bir artış sağladığı görülmüştür (Grafik 3.4).

Kanolada tüm gruplar kıyaslandığında, en yüksek kök yaş (0,123 g) ve kuru ağırlığı (0,076 g) kontrol grubunda bulunmuş iken, en düşük kök yaş (0,049 g) ve kuru ağırlığı (0,035 g) ise 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda gözlenmiştir (Grafik 3.4).



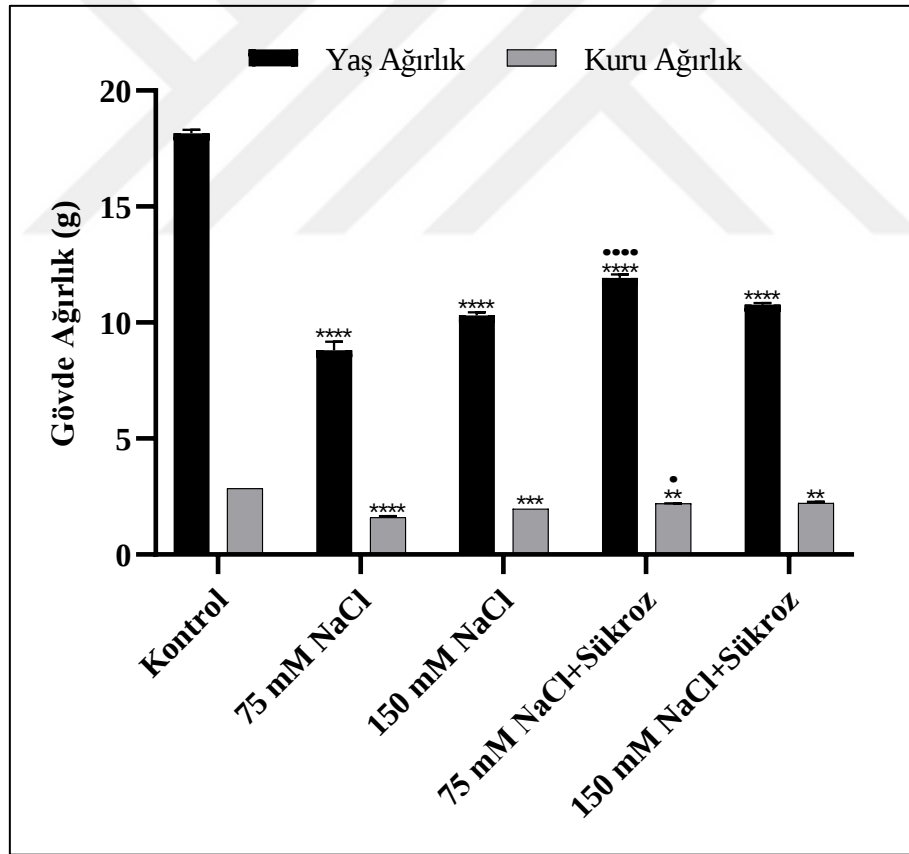
Grafik 3.4. Kanola örneklerine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Ayçiçeği bitkisinde gövde yaş ve kuru ağırlıkları incelendiğinde, tüm deney gruplarının gövde yaş ve kuru ağırlıklarında kontrole (sırasıyla 18,15 g; 2,860 g) göre önemli bir azalma söz konusudur. 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunun gövde yaş (8,802 g) ve kuru ağırlığının (1,606 g) 150 mM NaCl uygulanan gruba (gövde yaş ağırlığı 10,31 g; gövde kuru ağırlığı 1,972 g) göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda, konsantrasyon artışıyla birlikte gövde yaş ağırlığında (sırasıyla 11,93 g; 10,77 g) azalma gözlenmiş; gövde kuru ağırlığında önemli bir değişikliğe (sırasıyla 2,203 g; 2,226 g) rastlanmamıştır. NaCl ve NaCl+sükroz grupları karşılaştırıldığında, 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin hem gövde yaş ağırlığında hem de gövde kuru ağırlığında sadece 75 mM NaCl uygulanan örneklere göre önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.5).

Ayçiçeğinde tüm gruplar karşılaştırıldığında, en yüksek gövde yaş (18,15 g) ve kuru ağırlığına (2,860 g) kontrol grubunda rastlanırken, en düşük gövde yaş (8,802 g) ve kuru ağırlığına (1,606 g) 75 mM NaCl'ye maruz bırakılan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.5).



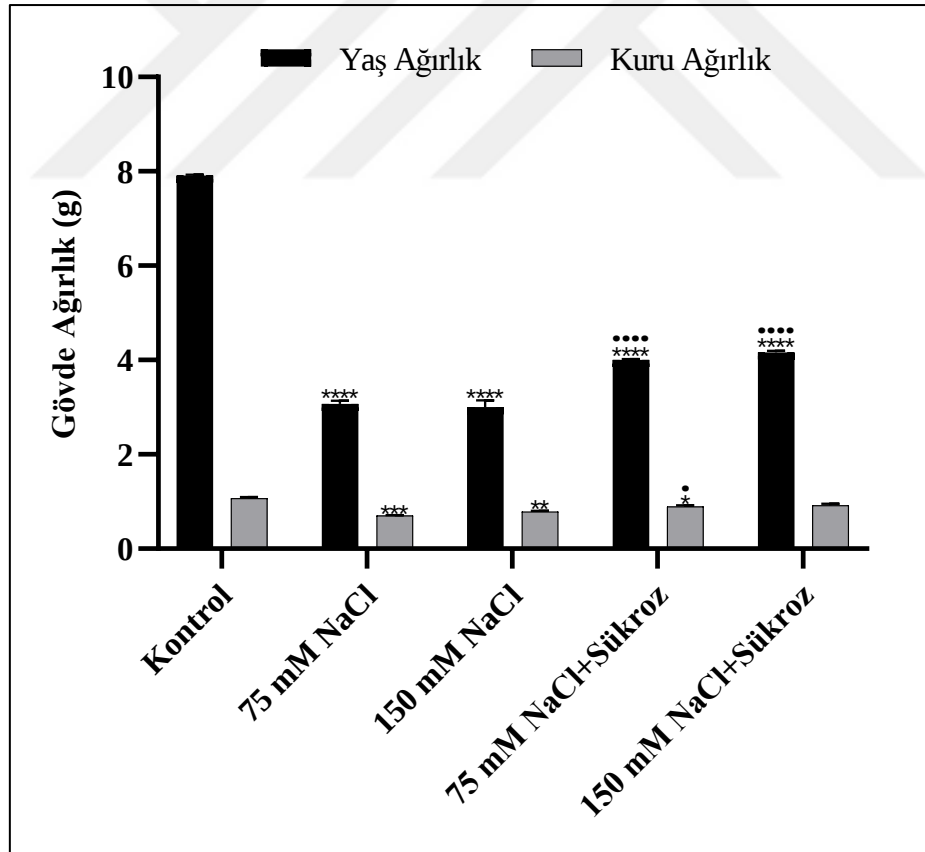
Grafik 3.5. Ayçiçeği örneklerine ait gövde yaş ve kuru ağırlıkları

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola bitkisinde tüm deney gruplarına ait gövde yaş ve kuru ağırlığına bakıldığında kontrole (sırasıyla 7,911 g; 1,071 g) göre bir azalma görülmüştür. 75 ve 150 mM NaCl uygulanan bitki grupları arasında gövde yaş (sırasıyla 3,07 g; 3,007 g) ve kuru ağırlığı (sırasıyla 0,703 g; 0,786 g) açısından çok önemli bir değişikliğe rastlanmamıştır. Benzer şekilde, 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulanan deney grupları arasında da gövde yaş (sırasıyla 4,004 g; 4,163 g) ve kuru ağırlıklarında (sırasıyla 0,899 g; 0,925 g) çok önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulanan deney gruplarıyla sadece 75 ve 150 mM NaCl uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, sükrozun varlığının gövde yaş ağırlığında önemli bir artışa sebep olduğu, özellikle 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin gövde kuru ağırlığında da önemli bir artış sağladığı gözlenmiştir (Grafik 3.6).

Kanolada tüm gruplar karşılaştırıldığında, en yüksek gövde yaş (7,911 g) ve kuru ağırlığına (1,071 g) kontrol grubunda rastlanmıştır. En düşük gövde yaş ağırlığı (3,007 g) 150 mM NaCl grubunda bulunurken, en düşük gövde kuru ağırlığı (0,703 g) 75 mM NaCl grubunda tespit edilmiştir (Grafik 3.6).



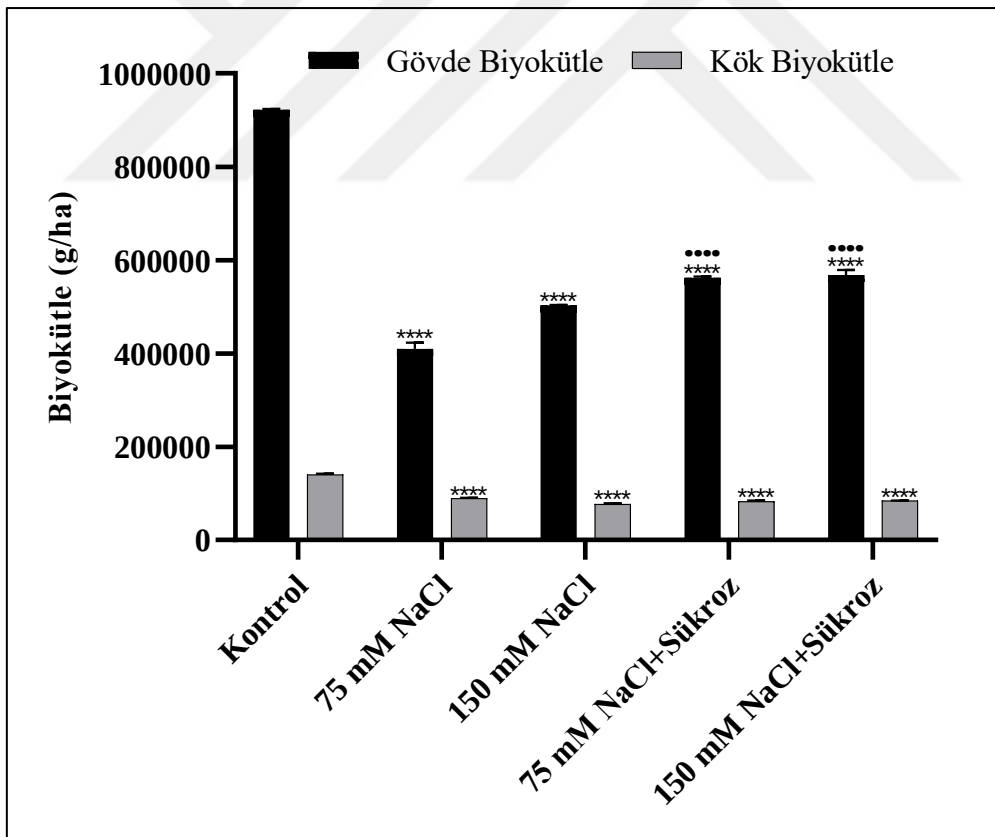
Grafik 3.6. Kanola örneklerine ait gövde yaş ve kuru ağırlıkları

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Ayçiçeği örneklerine ait gövde ve kök biyokütleleri karşılaştırıldığında, tüm deney gruplarının gövde ve kök biyokütlelerinin kontrole (sırasıyla 922371 g/ha; 140141 g/ha) göre azaldığı belirlenmiştir. 75 mM NaCl uygulanan örneklerin gövde biyokütlesi (409688 g/ha) 150 mM NaCl uygulanan örneklere (503099 g/ha) göre daha düşük iken, kök biyokütlesinin (75 mM NaCl'de 89222 g/ha) 150 mM NaCl uygulanan örneklere (77226 g/ha) göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulanan gruplar arasında, gövde (sırasıyla 561932 g/ha, 567895 g/ha) ve kök biyokütleleri (sırasıyla 83036 g/ha, 84311 g/ha) açısından ise önemli bir farka rastlanmamıştır. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının, gövde biyokütlesini sadece NaCl uygulanan örneklere göre önemli derecede artırdığı tespit edilmiştir (Grafik 3.7).

Ayçiçeğinde tüm gruplar kıyaslandığında, en yüksek gövde (922371 g/ha) ve kök biyokütlesinin (140141 g/ha) kontrolde olduğu görülmüştür. En düşük gövde biyokütlesine (409688 g/ha) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük kök biyokütlesine (77226 g/ha) 150 mM NaCl uygulanan grupta rastlanmıştır (Grafik 3.7).



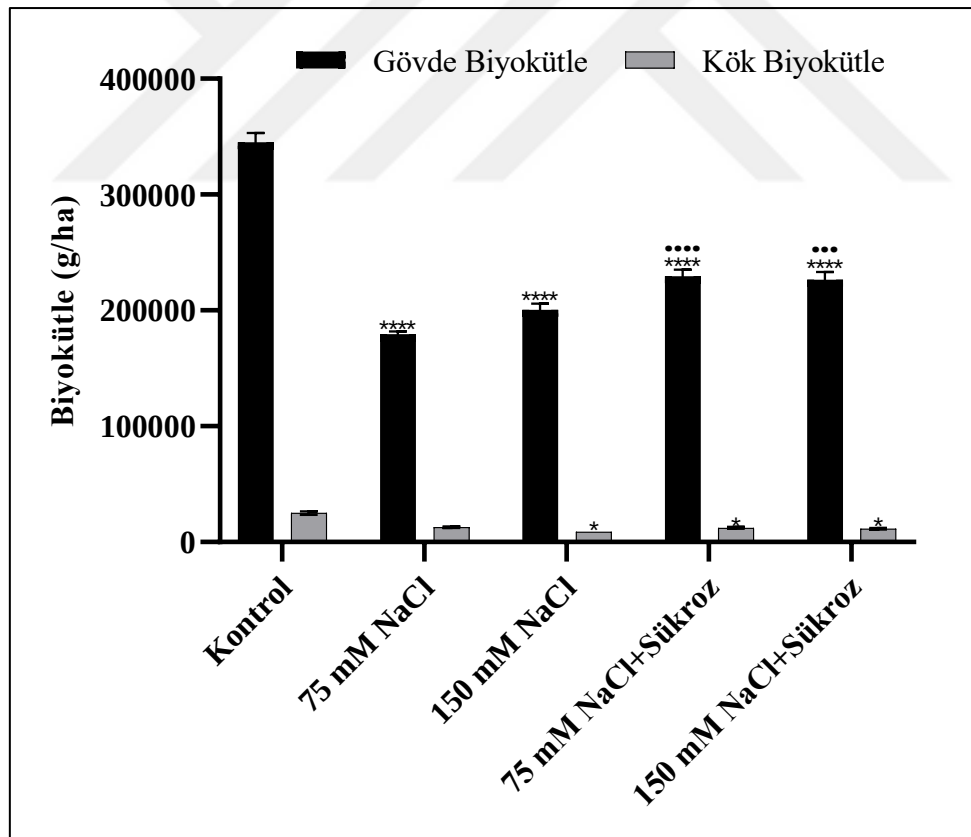
Grafik 3.7. Ayçiçeği örneklerine ait gövde ve kök biyokütleleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola örneklerinin gövde ve kök biyokütleleri karşılaştırıldığında, ayçiçeğinde olduğu gibi kontrol grubunun gövde (345323 g/ha) ve kök biyokütlesinin (25000 g/ha) diğer tüm gruplardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 150 mM NaCl grubunun gövde biyokütlesi (200510 g/ha) 75 mM NaCl grubunun gövde biyokütlesine (179337 g/ha) göre daha yüksek iken, kök biyokütlesinin (150 mM NaCl'de 8865 g/ha) 75 mM NaCl grubuna (12819 g/ha) göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulanan gruplar arasında ise, gövde (sırasıyla 229337 g/ha, 226403 g/ha) ve kök biyokütleleri (sırasıyla 12309 g/ha, 11480 g/ha) açısından önemli bir fark saptanmamıştır. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının, sadece 75 ve 150 mM NaCl uygulanan gruplara göre gövde biyokütlesinde önemli bir artış sağladığı tespit edilmiştir (Grafik 3.8).

Kanolada tüm gruplar kıyaslandığında, en yüksek gövde (345323 g/ha) ve kök biyokütlesinin (25000 g/ha) kontrolde olduğu gözlenmiştir. En düşük gövde biyokütlesine (179337 g/ha) 75 mM NaCl grubunda rastlanırken, en düşük kök biyokütlesine (8865 g/ha) 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.8).

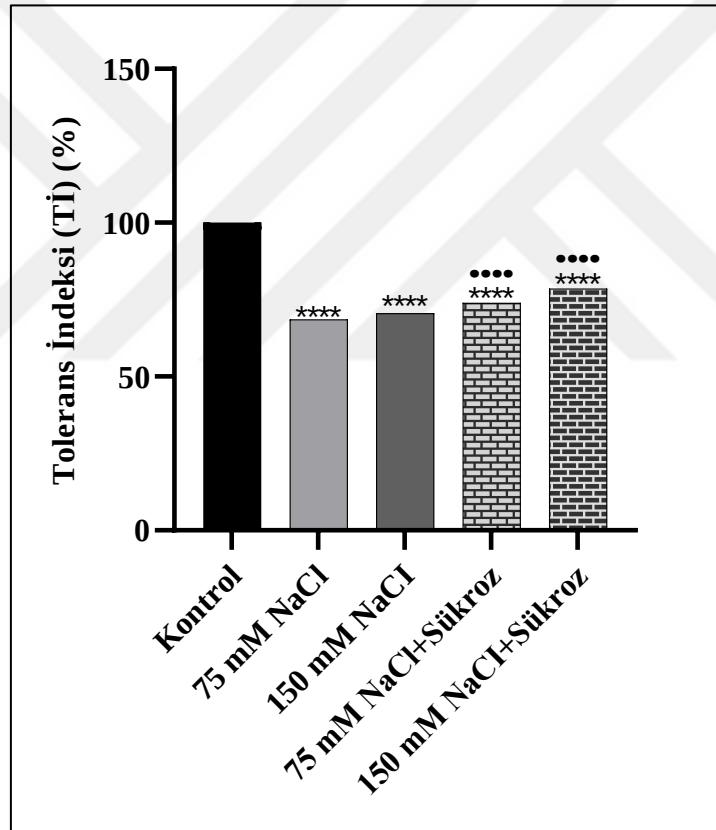


Grafik 3.8. Kanola örneklerine ait gövde ve kök biyokütleleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Ayçiçeğinde bitkisinde deney gruplarının tuz tolerans indeksleri (Tİ) incelendiğinde, kontrole (%100) kıyasla diğer tüm grupların tolerans indeksinin düşük olduğu gözlenmiştir. 150 mM NaCl uygulanan bitki örneklerinin tolerans indeksinin (%70,61) 75 mM NaCl uygulanan örneklere (%68,50) göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tuz+sükroz uygulanan gruplarda ise, 150 mM NaCl+sükroz uygulanan grubun tolerans indeksinin (%78,52) 75 mM NaCl+sükroz uygulanan gruba (%73,88) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 75 ve 150 mM tuz konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun, tuz stresi altında bitki tolerans indeksinde önemli derecede artış sağladığı görülmüştür. Ayçiçeğinde bütün deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek tolerans indeksine (%100) kontrol grubunda rastlanırken, en düşük tolerans indeksine (%68,50) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.9).



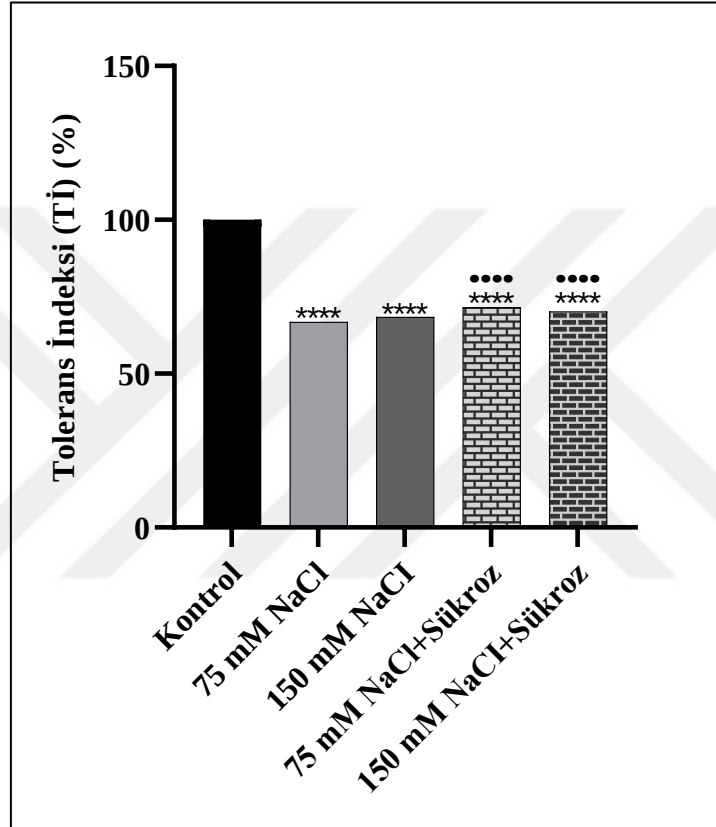
Grafik 3.9. Ayçiçeği örneklerine ait tolerans indeksleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola bitkisinde deney gruplarının tuz tolerans indeksleri (Tİ) karşılaştırıldığında, kontrole kıyasla (%100) diğer tüm grupların tolerans indeksinde bir azalma söz konusudur. 75 ve 150 mM NaCl uygulanan örneklerde, konsantrasyon artışına bağlı olarak tuz tolerans

indeksinin (sırasıyla %66,85; %68,41) arttığı gözlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda ise, artan tuz konsantrasyonuyla birlikte tuz tolerans indeksinde (75 mM NaCl+sükroz için %71,52; 150 mM NaCl+sükroz için %70,15) azalmanın olduğu görülmektedir. NaCl ve NaCl+sükroz grupları karşılaştırıldığında, sükroz takviyesinin tuz tolerans indeksini önemli derecede artırdığı saptanmıştır. Kanolada bütün deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek tolerans indeksine (%100) kontrol grubunda rastlanırken, en düşük tolerans indeksine (%66,85) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.10).



Grafik 3.10. Kanola örneklerine ait tolerans indeksleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

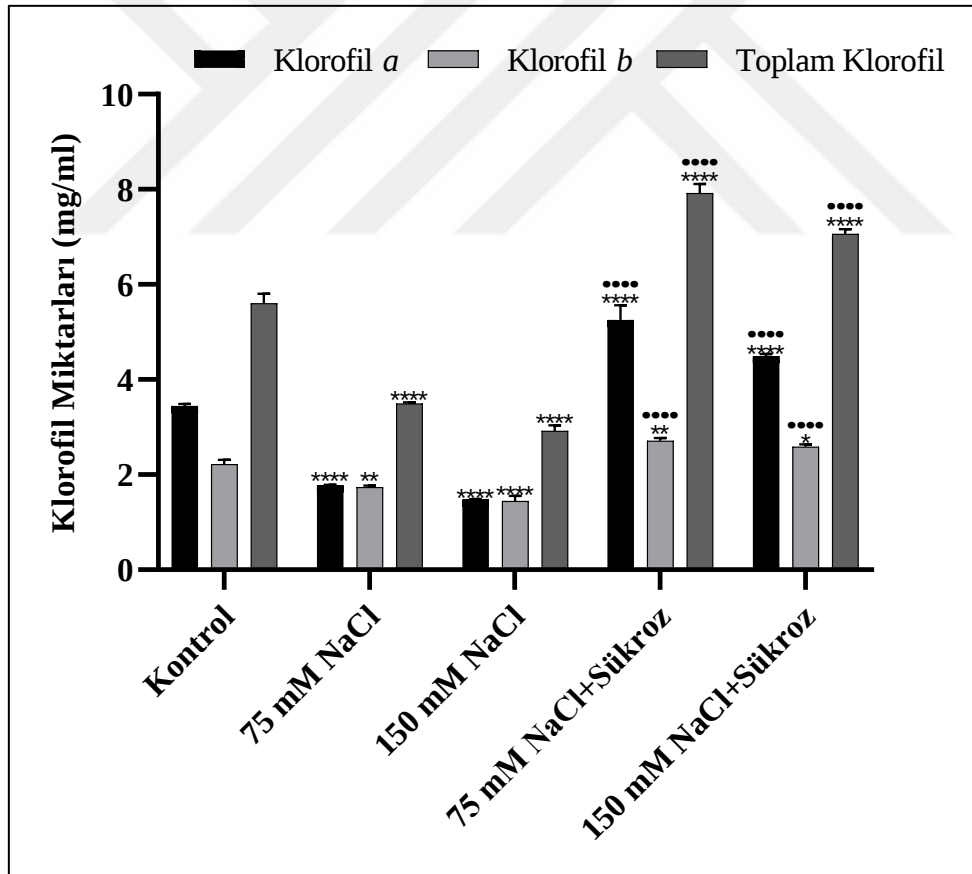
(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.2. Klorofil Miktarlarının Belirlenmesi

Ayçiçeği örneklerine ait klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarları incelendiğinde, her iki tuz uygulamasında da artan konsantrasyonla birlikte kontrole (sırasıyla 3,447 mg/ml; 2,222 mg/ml; 5,606 mg/ml) göre klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarında önemli derecede bir azalma tespit edilmiştir. 150 mM NaCl konsantrasyonunda klorofil *a* (1,480 mg/ml), klorofil *b* (1,443 mg/ml) ve toplam klorofil (2,922 mg/ml)

miktarlarının 75 mM NaCl konsantrasyonuna (sırasıyla 1,777 mg/ml; 1,735 mg/ml; 3,495 mg/ml) göre daha fazla azaldığı belirlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda ise hem kontrole kıyasla hem de sadece NaCl uygulanan gruplara kıyasla klorofil *a*, *b* ve toplam klorofil miktarlarının (75 mM NaCl+sükroz grubunda sırasıyla 5,254 mg/ml; 2,716 mg/ml; 7,925 mg/ml; 150 mM NaCl+sükroz grubunda sırasıyla 4,498 mg/ml; 2,585 mg/ml; 7,061 mg/ml) önemli derecede arttığı gözlenmiştir. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının, sadece tuz uygulanan örneklerle göre klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarında oldukça önemli bir artış sağladığı görülmüştür (Grafik 3.11).

Ayçiçeğinde tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek klorofil *a* (5,254 mg/ml), klorofil *b* (2,716 mg/ml) ve toplam klorofil (7,925 mg/ml) miktarına 75 mM NaCl+sükroz grubunda ulaşılmıştır. En düşük klorofil *a* (1,480 mg/ml), klorofil *b* (1,443 mg/ml) ve toplam klorofil (2,922 mg/ml) miktarına da 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.11).



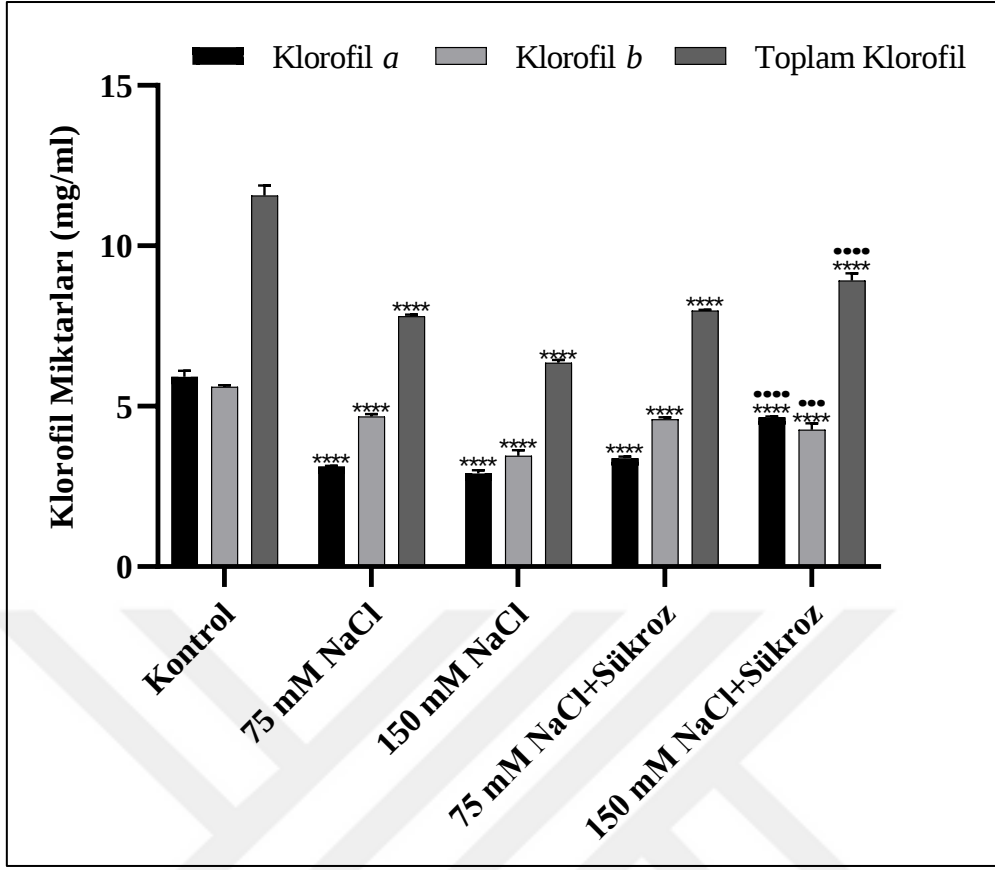
Grafik 3.11. Ayçiçeği örneklerine ait klorofil miktarları

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

Kanola örneklerinin klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarları incelendiğinde, her iki NaCl uygulamasında da klorofil *a*, *b* ve toplam klorofil miktarlarının kontrole (sırasıyla 5,917 mg/ml; 5,612 mg/ml; 11,564 mg/ml) göre önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. 150 mM NaCl uygulanan örneklerin klorofil *a* (2,909 mg/ml), klorofil *b* (3,451 mg/ml) ve toplam klorofil (6,358 mg/ml) miktarlarının 75 mM NaCl uygulanan örneklerle (sırasıyla 3,125 mg/ml; 4,680 mg/ml; 7,803 mg/ml) göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Tuzla birlikte sükroz uygulanan deney gruplarının her ikisinde de kontrole göre klorofil *a*, *b* ve toplam klorofil miktarlarında bir azalma olduğu gözlenmiştir. 75 mM NaCl+sükroz grubunun klorofil *a* (3,387 mg/ml) ve toplam klorofil (7,979 mg/ml) miktarlarının 150 mM NaCl+sükroz grubuna (sırasıyla 4,652 mg/ml; 8,923 mg/ml) göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. 75 ve 150 mM NaCl+sükroz uygulanan grupların klorofil *b* miktarları (sırasıyla 4,595 mg/ml; 4,274 mg/ml) arasında ise çok fazla bir değişime rastlanmamıştır. Özellikle 150 mM NaCl+sükroz uygulamasının, sadece 150 NaCl uygulanan örneklerle göre klorofil *a*, *b* ve toplam klorofil miktarlarında önemli derecede artış sağladığı belirlenmiştir (Grafik 3.12).

Kanolada tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek klorofil *a* (5,917 mg/ml), klorofil *b* (5,612 mg/ml) ve toplam klorofil (11,564 mg/ml) miktarına kontrol grubunda ulaşılmıştır. En düşük klorofil *a* (2,909 mg/ml), klorofil *b* (3,451 mg/ml) ve toplam klorofil (6,358 mg/ml) miktarına da 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.12).



Grafik 3.12. Kanola örneklerine ait klorofil miktarları

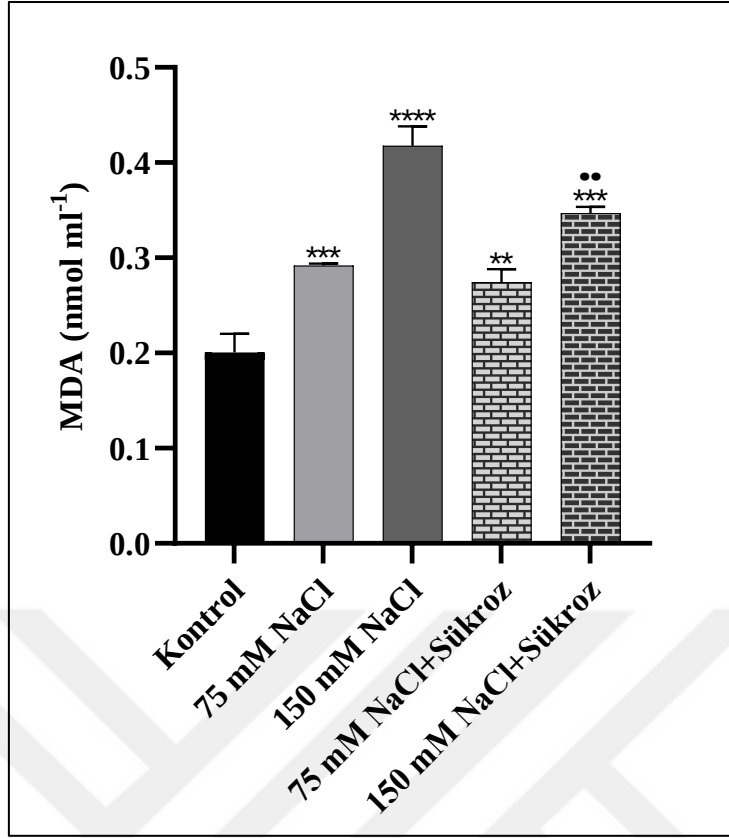
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.3. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Ayçiçeğinde her iki NaCl konsantrasyonunda da kontrole ($0,201 \text{ nmol ml}^{-1}$) kıyasla MDA içeriğinde (sırasıyla $0,292 \text{ nmol ml}^{-1}$; $0,418 \text{ nmol ml}^{-1}$) önemli ölçüde bir artış olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde NaCl+sükroz uygulanan grupların MDA içeriğinde de (sırasıyla $0,274 \text{ nmol ml}^{-1}$; $0,347 \text{ nmol ml}^{-1}$) kontrole kıyasla bir artış olduğu belirlenmiştir. Hem tuz hem de tuz+sükroz uygulamasında konsantrasyon artışına bağlı olarak MDA içeriğinin de düzenli bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sadece tuz uygulaması ile tuz+sükroz uygulaması karşılaştırıldığında ise, $150 \text{ mM NaCl+sükroz}$ uygulanan örneklerin MDA miktarında sadece 150 mM NaCl uygulanan örneklere göre önemli ölçüde bir azalma olduğu görülmüştür (Grafik 3.13).

Ayçiçeğinde tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek MDA içeriğine ($0,418 \text{ nmol ml}^{-1}$) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük MDA içeriğine ($0,201 \text{ nmol ml}^{-1}$) kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.13).



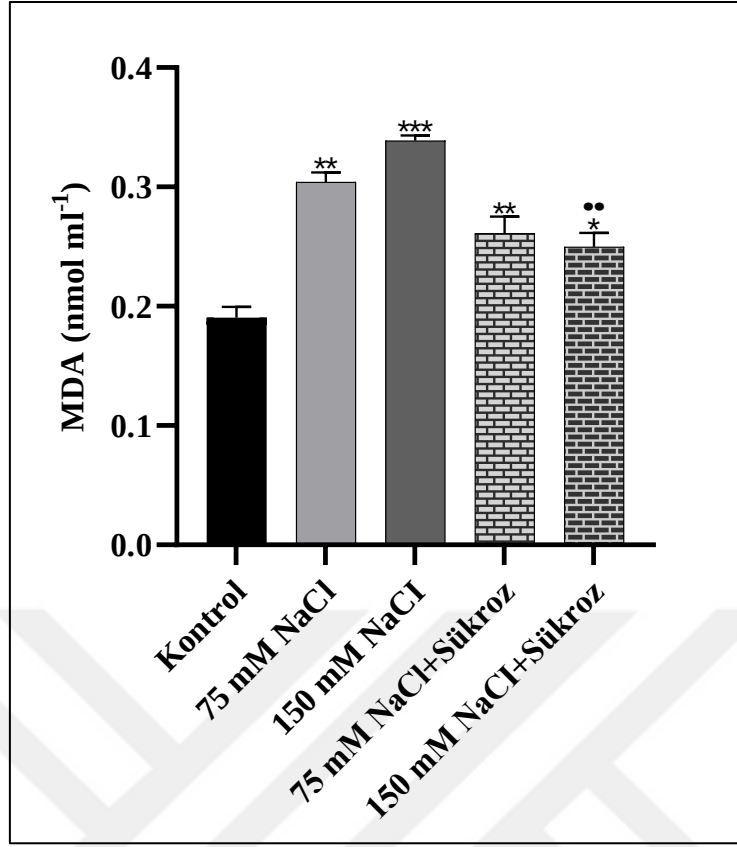
Grafik 3.13. Ayçiçeği örneklerine ait MDA içerikleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola bitkisinde de her iki tuz konsantrasyonunda kontrole (0,190 nmol ml⁻¹) göre MDA içeriğinde önemli bir artış gözlenmiş, artan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak 150 mM NaCl grubunda (0,339 nmol ml⁻¹) 75 mM NaCl grubuna (0,304 nmol ml⁻¹) kıyasla daha fazla artış saptanmıştır. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda da (sırasıyla 0,261 nmol ml⁻¹; 0,250 nmol ml⁻¹), kontrole göre MDA içeriğinde artış olduğu belirlenmiştir. Sadece NaCl uygulamasının aksine NaCl+sükroz uygulamasında artan konsantrasyonla birlikte MDA miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Tuz uygulanan deney grupları ile NaCl+sükroz uygulanan deney grupları karşılaştırıldığında ise, özellikle 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında MDA miktarının (0,250 nmol ml⁻¹) 150 mM NaCl uygulamasına göre (0,339 nmol ml⁻¹) önemli derece azaldığı görülmüştür (Grafik 3.14).

Kanolada tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek MDA içeriğine (0,339 nmol ml⁻¹) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük MDA içeriğine (0,190 nmol ml⁻¹) kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.14).



Grafik 3.14. Kanola örneklerine ait MDA içerikleri

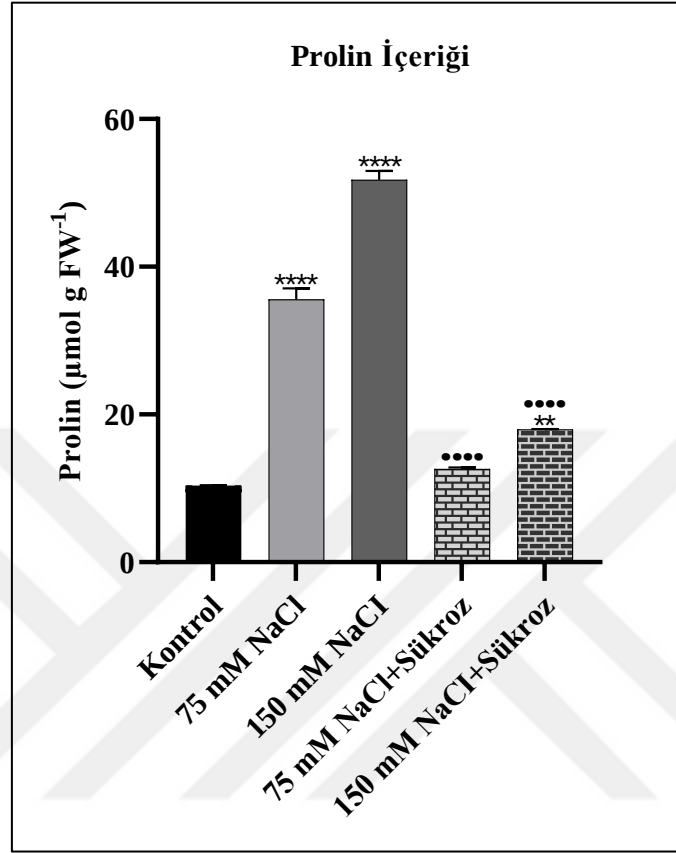
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.4. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Ayçiçeğinde her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole ($10,38 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) kıyasla prolin içeriğinde oldukça ciddi bir artış gözlenmiş, artan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak 150 mM NaCl grubunda ($51,76 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) 75 mM NaCl grubuna ($35,60 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) göre daha fazla artış olduğu saptanmıştır. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda ise, sadece NaCl uygulanan gruplarda olduğu kadar olmasa da kontrole göre prolin içeriğinin arttığı belirlenmiştir. 150 mM NaCl+sükroz örneklerinin prolin içeriği ($18,00 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) 75 mM NaCl+sükroz örneklerine ($12,64 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) göre önemli derecede bir artış göstermiştir. 75 ve 150 mM tuz konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun, sadece tuz uygulanan gruplara kıyasla prolin içeriğinde oldukça keskin bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.15).

Ayçiçeğinde tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek prolin içeriğine ($51,76 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük prolin içeriğine ($10,38 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.15).



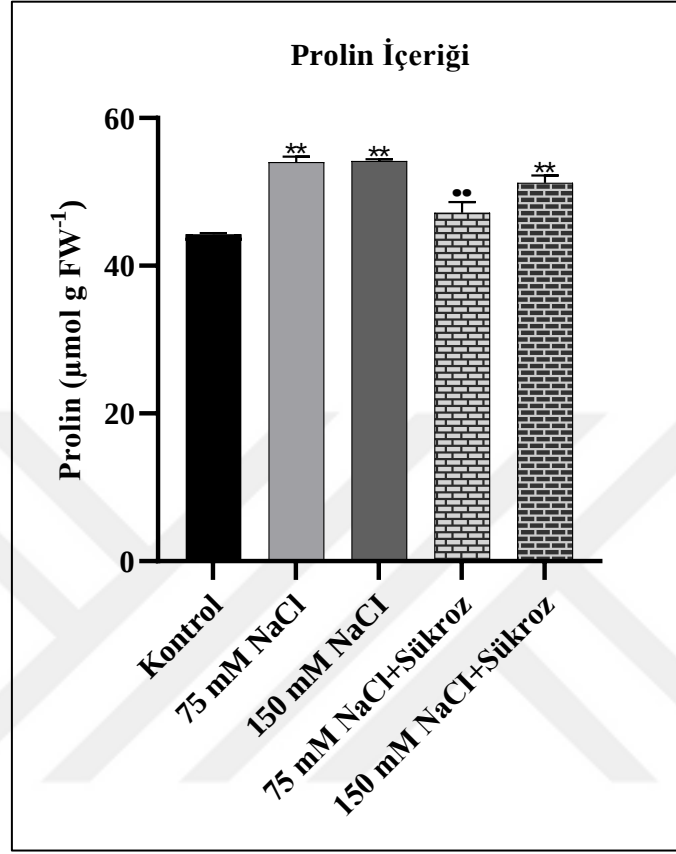
Grafik 3.15. Ayçiçeği örneklerine ait prolin içerikleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

Kanolada her iki tuz konsantrasyonunda kontrole ($44,28 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) kıyasla prolin içeriğinde anlamlı bir artış gözlenirse de bu iki konsantrasyonun prolin içerikleri (75 mM NaCl konsantrasyonunda $54,02 \mu\text{mol gFW}^{-1}$; 150 mM NaCl konsantrasyonunda $54,19 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) arasında önemli derecede bir fark tespit edilmemiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda ise, özellikle 150 mM NaCl+sükroz uygulamasının prolin içeriğinde ($51,24 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) kontrole göre önemli bir artış olduğu saptanmıştır. Sadece tuz uygulaması ile tuz+sükroz uygulaması karşılaştırıldığında, her iki tuz konsantrasyonunda da uygulanan sükrozun, prolin miktarında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Özellikle 75 mM+sükroz uygulamasının prolin içeriği ($47,18 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) 75 mM NaCl uygulamasına göre ($54,02 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) önemli derece bir azalma göstermiştir (Grafik 3.16).

Kanolada tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek prolin içeriğine ($54,19 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük prolin içeriğine ($44,28 \mu\text{mol gFW}^{-1}$) kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.16).



Grafik 3.16. Kanola örneklerine ait prolin içerikleri

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

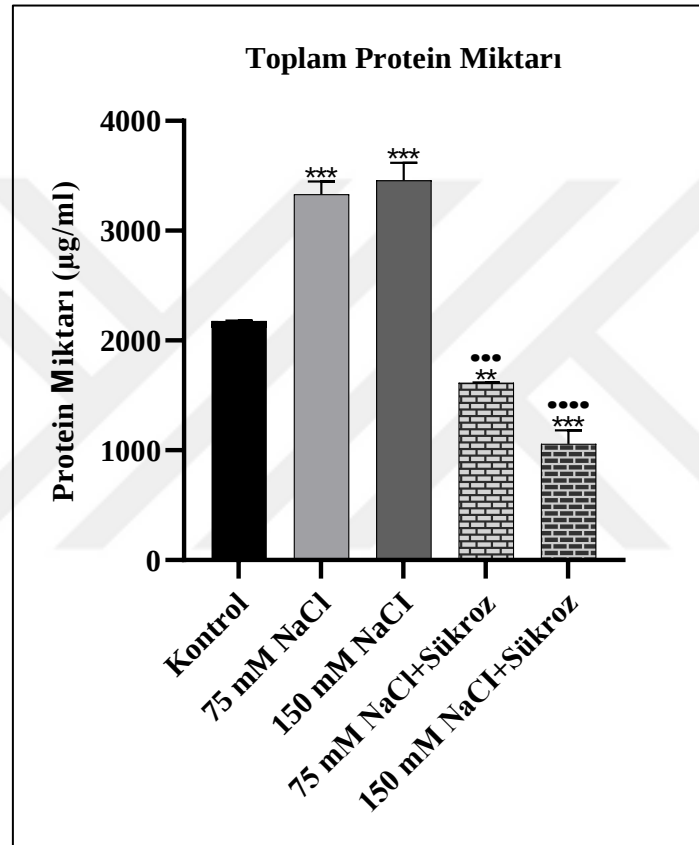
3.1.5. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.1.5.1. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Ayçiçeği örneklerinin toplam protein miktarları incelendiğinde, her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole ($2178 \mu\text{g/ml}$) kıyasla toplam protein miktarında önemli derecede bir artış olduğu ve bu artışın 150 mM NaCl konsantrasyonu uygulanan örneklerde ($3459 \mu\text{g/ml}$) 75 mM NaCl konsantrasyonu uygulanan örneklere ($3333 \mu\text{g/ml}$) göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tuz ile birlikte sükroz uygulanan gruplarda ise, kontrole kıyasla toplam protein miktarının azaldığı ve bu azalmanın 150 mM NaCl+sükroz grubunda ($1057 \mu\text{g/ml}$) 75 mM NaCl+sükroz grubuna ($1615 \mu\text{g/ml}$) göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sadece

tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun toplam protein miktarında oldukça önemli bir azalışa neden olduğu ve bu azalışın 150 mM NaCl+sükroz grubunda daha fazla olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.17).

Ayçiçeğinde tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek toplam protein miktarına (3459 µg/ml) 150 mM NaCl grubunda rastlanırken, en düşük toplam protein miktarına (1057 µg/ml) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.17).



Grafik 3.17. Ayçiçeği örneklerinin toplam protein miktarı

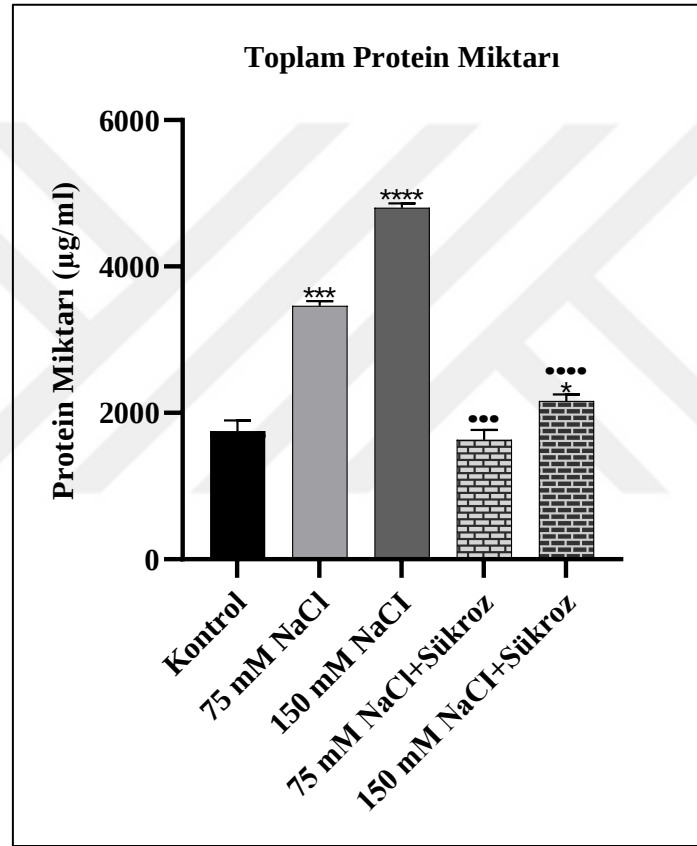
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola örneklerinin toplam protein miktarları incelendiğinde, her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole (1754 µg/ml) kıyasla oldukça önemli bir artış gözlenmiş, artan NaCl konsantrasyonuna paralel olarak 150 mM NaCl grubunda (4800 µg/ml) 75 mM NaCl grubuna (3461 µg/ml) göre daha fazla artış olduğu saptanmıştır. Tuz ve sükrozun birlikte uygulandığı gruplarda ise, toplam protein miktarının 150 mM NaCl+sükroz örneklerinde (2161 µg/ml) kontrole göre arttığı, 75 mM NaCl+sükroz örneklerinde (1632 µg/ml) ise

kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Sadece tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM tuz konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun toplam protein miktarında dikkat çekici bir azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın 150 mM NaCl+sükroz örneklerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.18).

Kanolada tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek toplam protein miktarına (4800 µg/ml) 150 mM NaCl grubunda rastlanırken, en düşük toplam protein miktarına (1632 µg/ml) 75 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.18).



Grafik 3.18. Kanola örneklerinin toplam protein miktarı

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

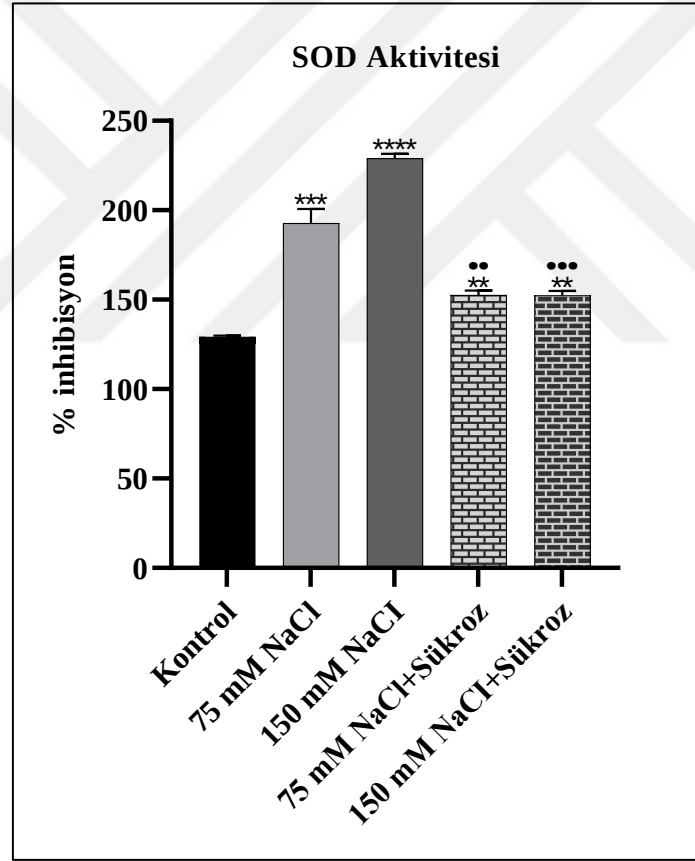
(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Ayçiçeğinde 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında kontrole (%129,3) kıyaslandığında SOD aktivitesinin önemli derecede arttığı belirlenmiş; artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak 150 mM NaCl konsantrasyonunda yetiştirilen bitkilerin SOD

aktivitesinde (%229,2) 75 mM NaCl konsantrasyonundaki örneklere (%192,9) göre daha fazla artış kaydedilmiştir. NaCl+sükroz uygulanan bitki gruplarının SOD aktivitesinin de kontrole kıyasla arttığı, ancak bu iki grubun SOD değerleri (75 mM NaCl+Sükroz grubunda %152,5; 150 mM NaCl+Sükroz grubunda %152,3) arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Yalnızca tuz uygulanan bitki grupları ile tuz+sükroz uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarındaki sükroz uygulamasının sadece NaCl uygulanan örneklere göre SOD aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.19).

Ayçiçeğine ait tüm bitki deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek SOD aktivitesine (%229,2) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük SOD aktivitesine (%129,3) kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.19).



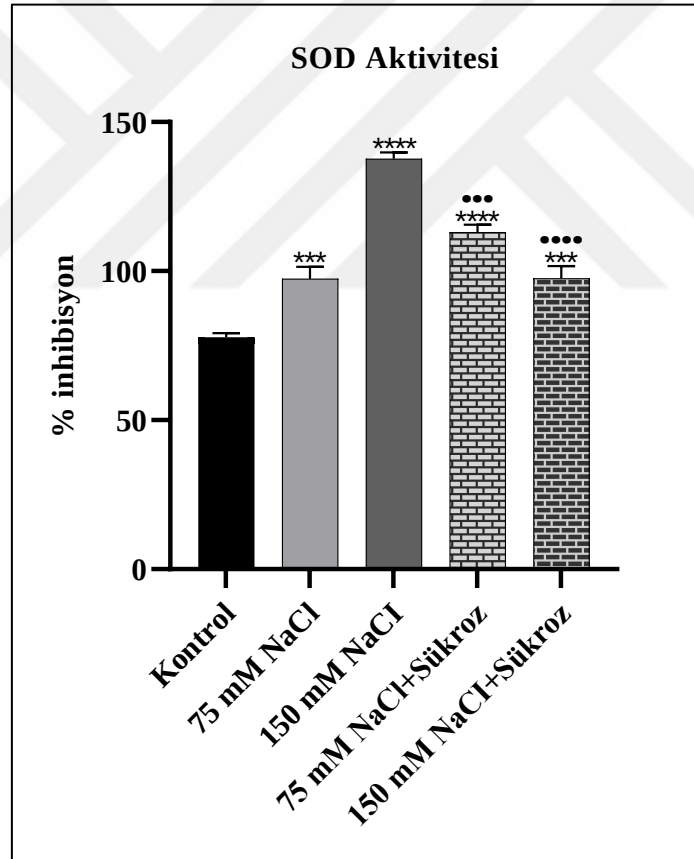
Grafik 3.19. Ayçiçeği yaprak örneklerine ait SOD aktivitesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanolada her iki tuz konsantrasyonunda kontrole (%77,85) kıyasla SOD aktivitesinin arttığı ve artan tuz konsantrasyonuyla birlikte 150 mM NaCl grubunun SOD aktivitesinde (%137,7) 75 mM NaCl grubuna (%97,46) göre daha önemli bir artış olduğu gözlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan bitki örneklerinin SOD aktivitesinin de, kontrole göre arttığı görülmüş ve 75 mM NaCl+sükroz grubunun SOD aktivitesinde (%113,04) 150 mM NaCl+sükroz grubuna (%97,60) kıyasla daha fazla artış olduğu belirlenmiştir. Sadece tuz uygulanan deney grupları ile karşılaştırıldığında, 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükrozun SOD aktivitesini artırdığı, 150 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükrozun ise SOD aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir (Grafik 3.20).

Kanolaya ait tüm bitki deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek SOD aktivitesine (%137,7) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanırken, en düşük SOD aktivitesine (%77,85) kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.20).



Grafik 3.20. Kanola yaprak örneklerine ait SOD aktivitesi

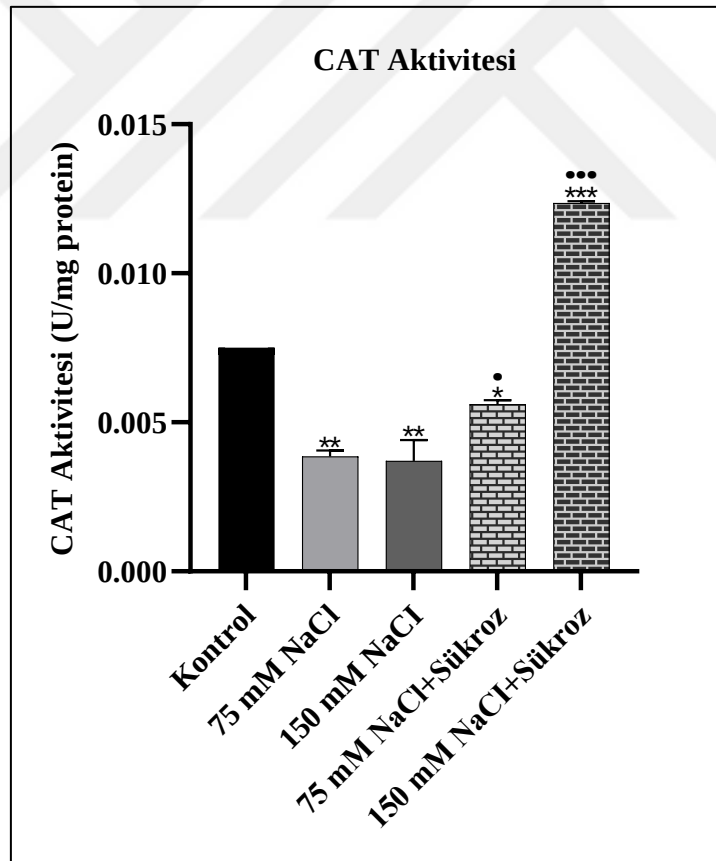
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.5.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Ayçiçeğine ait bitki örneklerinin CAT aktiviteleri incelendiğinde, her iki tuz konsantrasyonunda kontrole (0,0075 U/mg) göre CAT aktivitesinin önemli derecede azaldığı görülmüş, 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarının CAT değerleri (sırasıyla 0,0039 U/mg ve 0,0037 U/mg) arasında ise önemli derecede bir fark tespit edilmemiştir. NaCl+sükroz gruplarına bakıldığında ise, 75 mM NaCl+sükroz grubunun CAT aktivitesinin (0,0056 U/mg) kontrole göre azaldığı, fakat 150 mM NaCl+sükroz grubunun CAT aktivitesinin (0,0124 U/mg) kontrole göre fazlaca arttığı belirlenmiştir. NaCl+sükroz uygulamalarının her ikisinde de, sadece NaCl uygulanan deney gruplarına göre CAT aktivitesinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (Grafik 3.21).

Ayçiçeğinde tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek CAT aktivitesine (0,0124 U/mg) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanırken, en düşük CAT aktivitesine (0,0037 U/mg) 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.21).



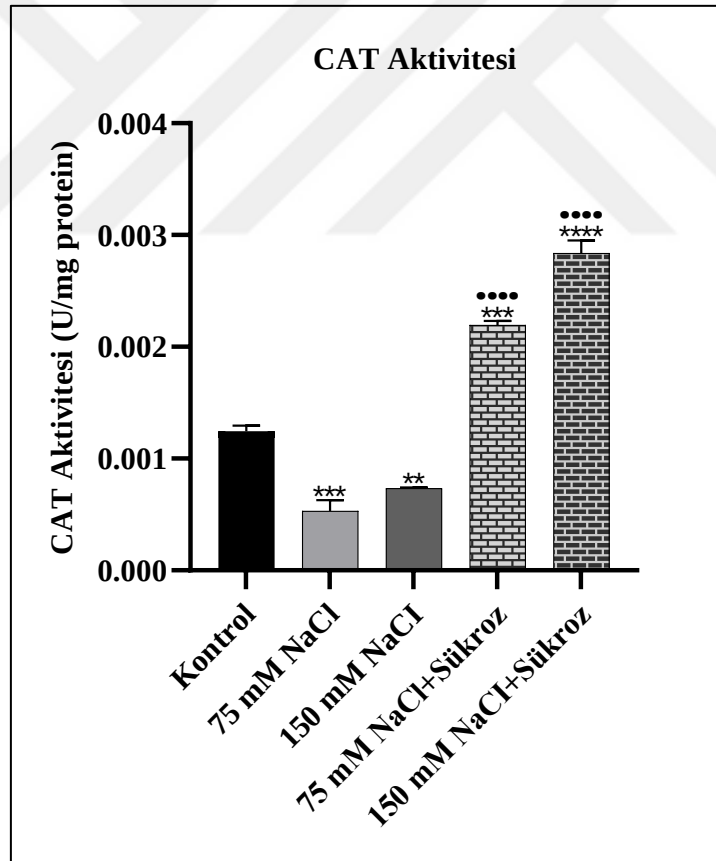
Grafik 3.21. Ayçiçeği yaprak örneklerine ait CAT aktivitesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola bitkisine ait örneklerin CAT aktiviteleri incelendiğinde, her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole (0,0013 U/mg) göre CAT aktivitesinin önemli derecede azaldığı ve 75 mM NaCl konsantrasyonundaki CAT aktivitesinin (0,0005 U/mg) 150 mM NaCl konsantrasyonundakinden (0,0007 U/mg) daha fazla azaldığı tespit edilmiştir. NaCl+sükroz uygulanan bitki gruplarında ise, kontrole göre CAT aktivitesinin anlamlı bir şekilde arttığı ve 150 mM NaCl+sükroz grubunun CAT aktivitesinin (0,0028 U/mg) 75 mM NaCl+sükroz grubuna (0,0022 U/mg) kıyasla daha fazla arttığı belirlenmiştir. Sadece tuz uygulanan bitki grupları ile tuz+sükroz uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun CAT aktivitesinde oldukça dikkat çekici bir etki oluşturarak önemli ölçüde bir artış sağladığı gözlenmiştir (Grafik 3.22).

Kanolada tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek CAT aktivitesine (0,0028 U/mg) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanırken, en düşük CAT aktivitesine (0,0005 U/mg) 75 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.22).



Grafik 3.22. Kanola yaprak örneklerine ait CAT aktivitesi

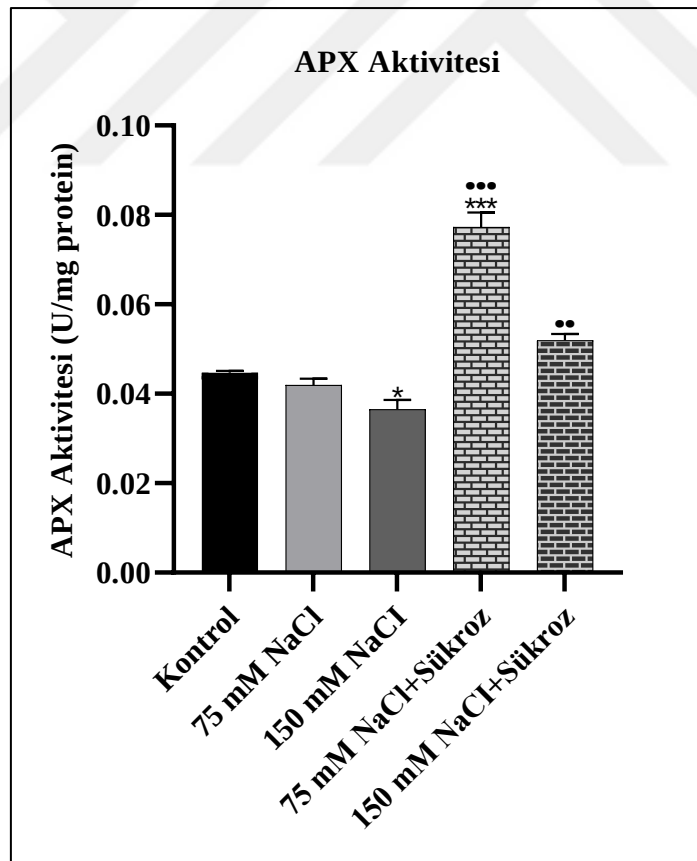
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.5.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

Ayçiçeğine ait bitki örneklerinin APX aktiviteleri incelendiğinde, 75 mM NaCl konsantrasyonundaki örneklerin APX aktivitesinde (0,042 U/mg) kontrole (0,045 U/mg) kıyasla önemli ölçüde bir azalma olmasa da, 150 mM NaCl konsantrasyonundaki örneklerin APX aktivitesinin (0,037 U/mg) ise kontrole göre önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplara bakıldığında, 150 mM NaCl+sükroz grubunda APX aktivitesinin (0,052 U/mg) kontrole göre arttığı, 75 mM NaCl+sükroz grubunda APX aktivitesinin (0,077 U/mg) ise kontrole göre dikkate değer bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. NaCl ve NaCl+sükroz uygulanan deney grupları karşılaştırıldığında, her iki NaCl+sükroz uygulamasının APX aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğu, bu artışın 75 mM NaCl+sükroz grubunda daha yüksek oranda olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.23).

Ayçiçeğinde tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek APX aktivitesine (0,077 U/mg) 75 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanırken, en düşük APX aktivitesine (0,037 U/mg) 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.23).



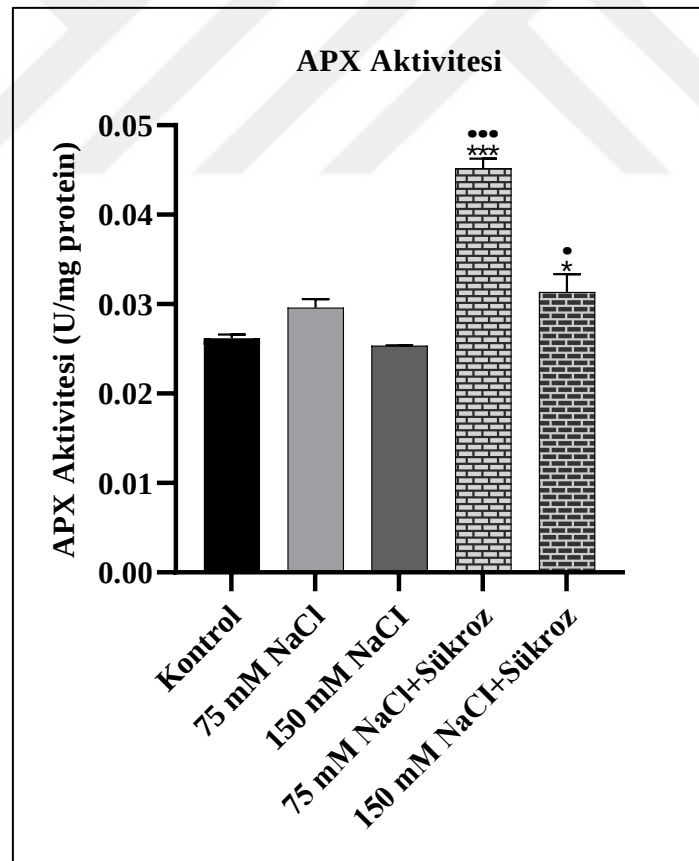
Grafik 3.23. Ayçiçeği yaprak örneklerine ait APX aktivitesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola örneklerinin APX aktiviteleri incelendiğinde, 75 mM NaCl konsantrasyonunda APX aktivitesinin (0,030 U/mg) kontrole (0,026 U/mg) kıyasla önemli ölçüde artmadığı ve 150 mM NaCl konsantrasyonunda APX aktivitesinin (0,025 U/mg) de kontrole göre dikkate değer bir şekilde azalmadığı tespit edilmiştir. NaCl+sükroz uygulanan deney gruplarında ise, APX aktivitesinin kontrole göre önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir. 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin APX aktivitesi (0,045 U/mg) 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin APX aktivisine (0,031 U/mg) kıyasla oldukça önemli bir oranda artış göstermiştir. Her iki NaCl+sükroz uygulamasının, sadece NaCl uygulanan örneklerle kıyaslandığında APX aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğu, bu artışın 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerde daha fazla oranda gerçekleştiği gözlenmiştir (Grafik 3.24).

Kanolada tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek APX aktivitesine (0,045 U/mg) 75 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanırken, en düşük APX aktivitesine (0,025 U/mg) 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.24).



Grafik 3.24. Kanola yaprak örneklerine ait APX aktivitesi

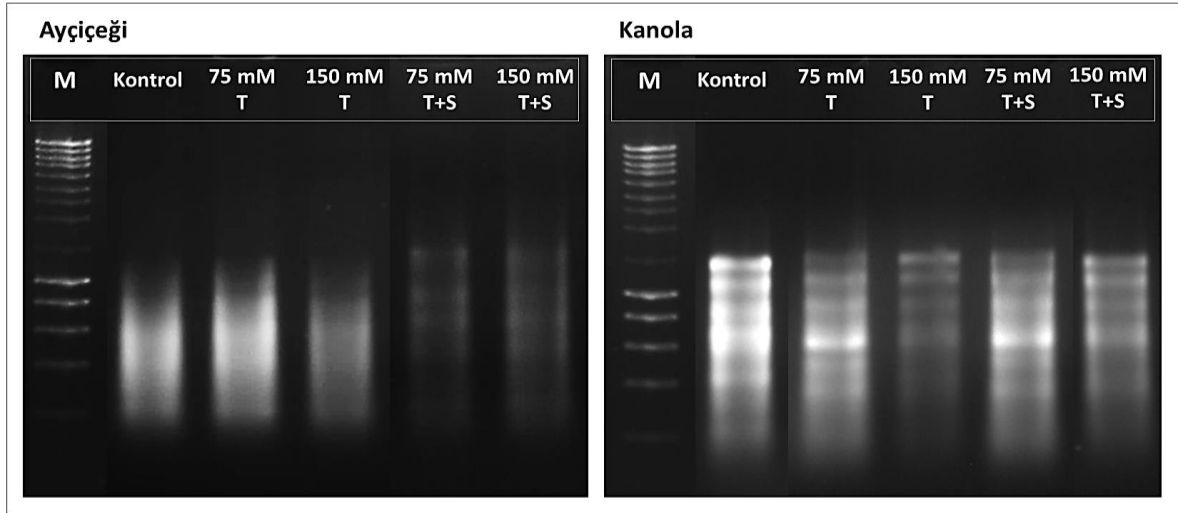
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

3.1.6. Antioksidanlara Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi

3.1.6.1. Total RNA Miktarının Belirlenmesi

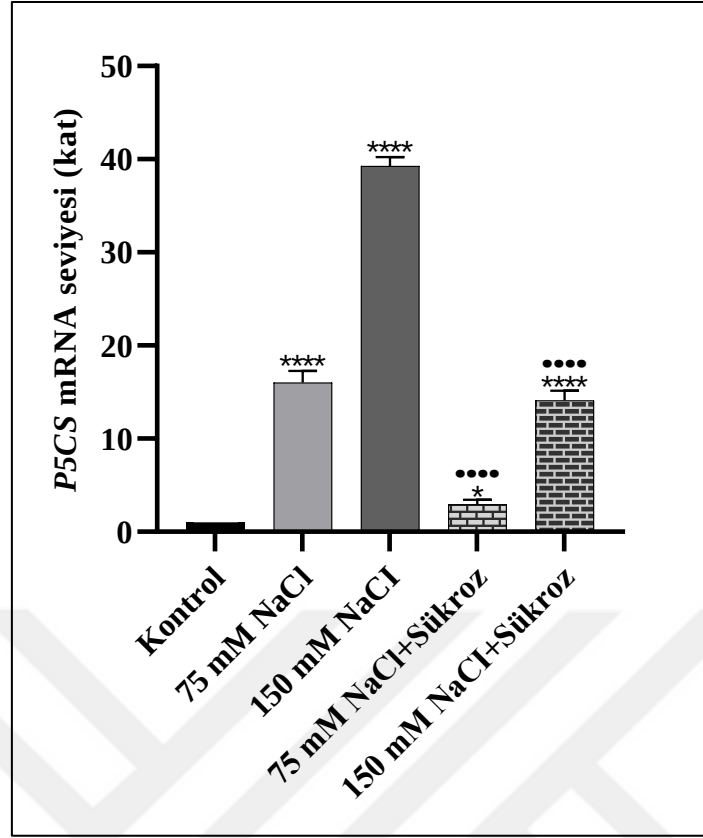
Ayçiçeği ve kanola bitkilerine uygulanan tuz ve tuzla birlikte ekzojen sükroz muamelesinin antioksidanlara ait gen ifadeleri üzerindeki etkisi gerçek zamanlı PZR ile incelenmiştir. İki farklı tuz konsantrasyonunda ve bu konsantrasyonlara ilave olarak verilen ekzojen sükroz takviyesi altında yetiştirilen bitkilerin ve kontrol grubunun yapraklarından RNA'lar izole edilmiş ve agaroz jelde yürütülerek RNA kalitesi ve miktarı tayin edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Ayçiçeği ve kanola yapraklarından izole edilen RNA'ların agaroz jel görüntüleri

3.1.6.2. Yapraklarda *P5CS* mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi

Ayçiçeğine ait bitki örneklerinin yapraklarındaki *P5CS* geninin mRNA seviyelerindeki değişim incelendiğinde, her iki NaCl grubunda da (75 mM NaCl konsantrasyonunda 16,02; 150 mM NaCl konsantrasyonunda 39,27) artan tuz konsantrasyonuyla birlikte kontrole kıyasla *P5CS* gen ifadesinde oldukça önemli bir artış olduğu gözlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda ise, *P5CS* gen ifadesinin kontrole göre arttığı; 150 mM NaCl+sükroz grubunda *P5CS* gen ifadesindeki artışın (14,09) 75 mM NaCl+sükroz grubuna (2,93) kıyasla daha önemli seviyede gerçekleştiği saptanmıştır. Sadece tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının *P5CS* gen ifadesinde önemli derecede bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Ayçiçeğinde tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *P5CS* gen ifadesine (39,27) 150 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.25).

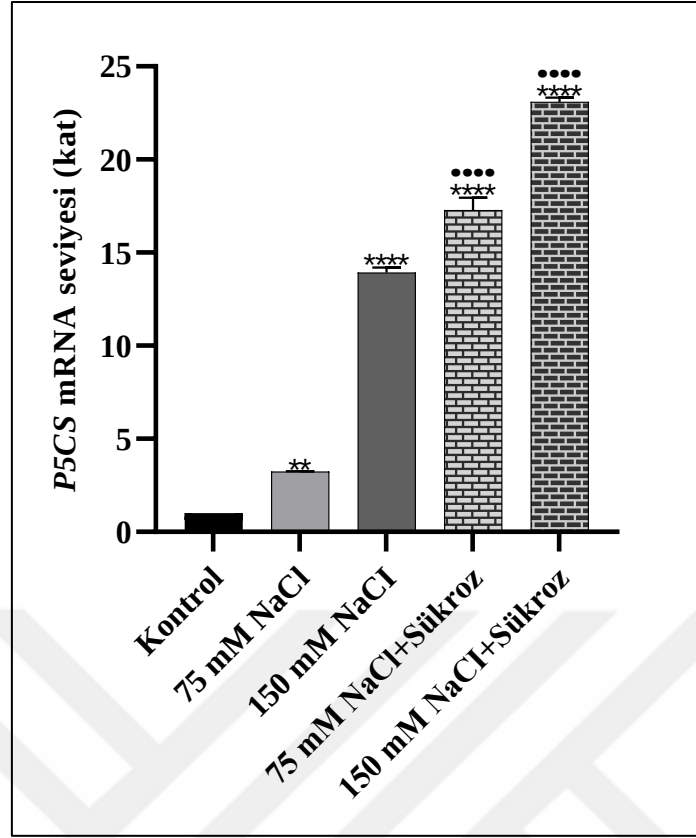


Grafik 3.25. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki *P5CS* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

Kanola bitkisine ait örneklerin yapraklarındaki *P5CS* geninin mRNA seviyelerindeki değişime bakıldığında, kontrole kıyasla artan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak hem sadece NaCl uygulanan (75 mM NaCl için 3,24; 150 mM NaCl için 13,93) hem de NaCl+sükroz uygulanan örneklerin (75 mM NaCl+sükroz için 17,27; 150 mM NaCl+sükroz için 23,10) *P5CS* gen ifadesinde önemli bir artış olduğu gözlenmiştir. Sadece tuz uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında, 75 mM ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının, *P5CS* gen ifadesinde oldukça önemli bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Kanolada tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *P5CS* gen ifadesine (23,10) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.26).



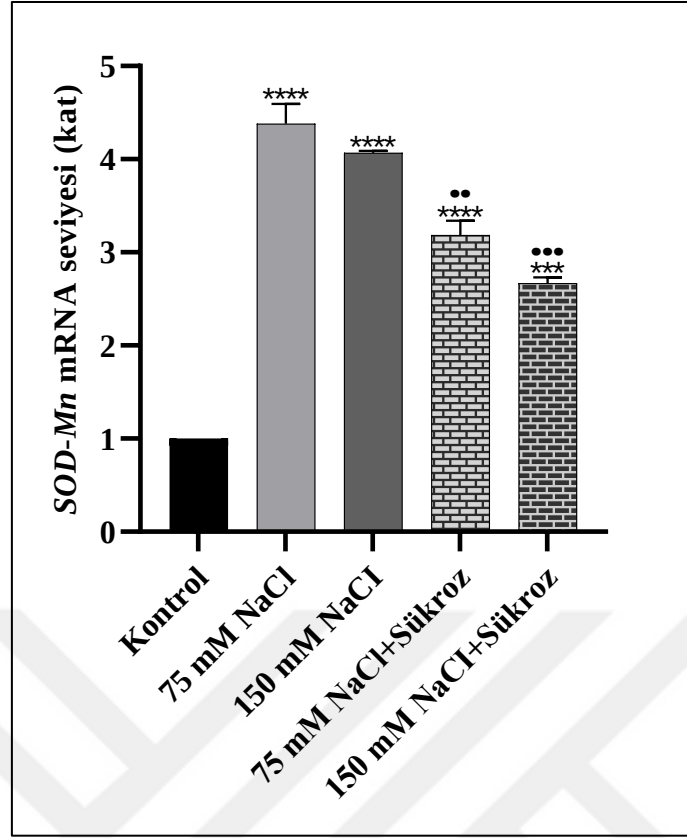
Grafik 3.26. Kanola yaprak örneklerindeki *P5CS* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

3.1.6.3. Yapraklarda *SOD* mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi

Ayçiçeğine ait bitki örneklerinin yapraklarındaki *SOD-Mn* geninin mRNA seviyelerindeki değişim incelendiğinde, her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole göre *SOD-Mn* gen ifadesinde bir artış olduğu gözlenmiş, fakat bu konsantrasyonlardaki gen ifadeleri arasında önemli sayılabilecek bir farklılığa rastlanmamıştır. Bununla birlikte, 75 mM NaCl uygulanan bitkilerin *SOD-Mn* gen ifadesinin (4,38) 150 mM NaCl uygulanan bitkilerin *SOD-Mn* gen ifadesinden (4,07) biraz daha fazla olduğu tespit edilmiştir. NaCl+sükroz uygulanan deney gruplarında da, kontrole göre *SOD-Mn* gen ifadesinin arttığı görülmüş ve 75 mM NaCl+sükroz uygulamasında *SOD-Mn* gen ifadesinin (3,18) 150 mM NaCl+sükroz uygulamasına ait *SOD-Mn* gen ifadesinden (2,67) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Sadece NaCl uygulanan bitki grupları ile NaCl+sükroz uygulanan deney grupları kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının *SOD-Mn* gen ifadesinde bir azalışa neden olduğu saptanmıştır. Ayçiçeğinde tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek *SOD-Mn* gen ifadesine (4,38) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.27).

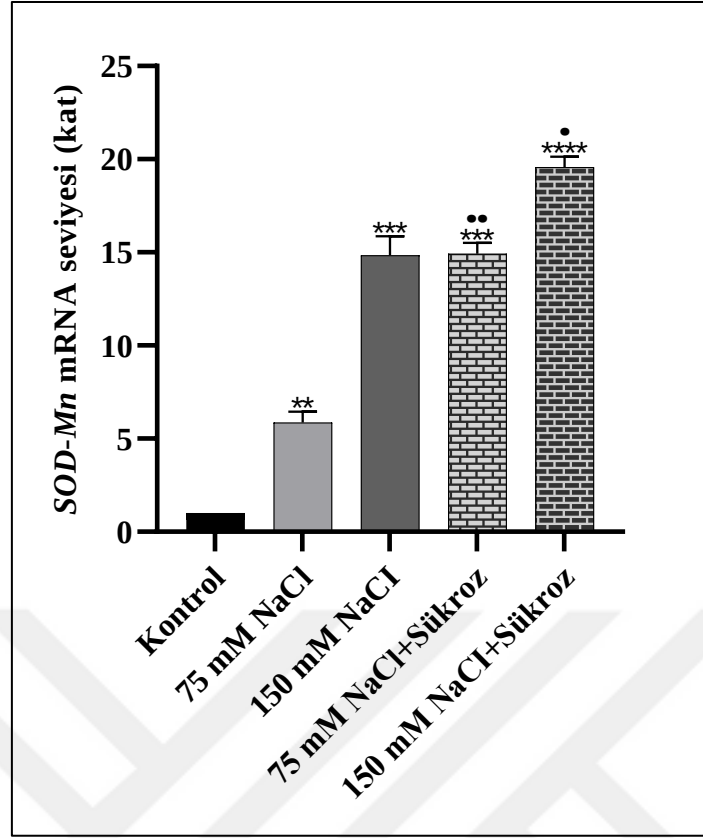


Grafik 3.27. Ayçiçeği yaprak örneklerinde *SOD-Mn* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

Kanola bitkisine ait örneklerin yapraklarındaki *SOD-Mn* geninin mRNA seviyelerindeki değişime bakıldığında, kontrole kıyasla artan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak 75 mM ve 150 mM NaCl uygulamalarında *SOD-Mn* gen ifadesinin (sırasıyla 5,87 kat; 14,84 kat) önemli derecede arttığı belirlenmiştir. NaCl+sükroz uygulanan gruplarda ise, yine kontrole göre *SOD-Mn* gen ifadesinde oldukça anlamlı bir artış gözlemlendiği ve 150 mM NaCl+sükroz grubunda *SOD-Mn* gen ifadesinin (19,57) 75 mM NaCl+sükroz grubuna (14,93) kıyasla daha fazla arttığı tespit edilmiştir. Sadece tuz uygulanan bitki grupları ile tuz+sükroz uygulanan deney grupları kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarının *SOD-Mn* gen ifadesinde önemli bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Kanolada tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek *SOD-Mn* gen ifadesine (19,57) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.28).



Grafik 3.28. Kanola yaprak örneklerindeki *SOD-Mn* mRNA seviyesi

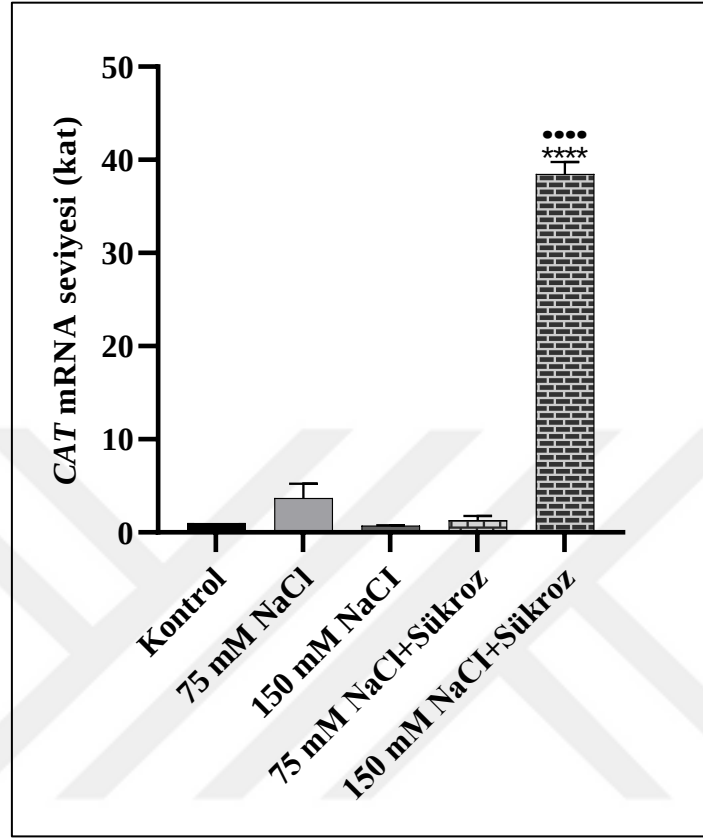
(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

3.1.6.4. Yapraklarda *CAT* mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi

Ayçiçeğine ait bitki örneklerinin yapraklarında *CAT* geninin mRNA seviyelerindeki değişim incelendiğinde, 75 mM NaCl uygulamasında *CAT* gen ifadesinin (3,69) kontrole göre arttığı, 150 mM NaCl'de *CAT* gen ifadesinin (0,75) ise kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir. NaCl+sükroz uygulanan örneklerde, 75 mM NaCl+sükroz uygulamasında *CAT* gen ifadesinin (1,30) kontrole göre biraz arttığı, 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında ise *CAT* gen ifadesinin (38,46) kontrole kıyasla dikkat çeken bir oranda arttığı belirlenmiştir. Tuz ve tuz+sükroz uygulamaları karşılaştırıldığında, 75 mM NaCl+sükroz uygulamasında *CAT* gen ifadesinin 75 mM NaCl uygulamasına göre azaldığı, 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında ise *CAT* gen ifadesinin 150 mM NaCl uygulamasına göre oldukça önemli bir ölçüde arttığı tespit edilmiştir (Grafik 3.29).

Ayçiçeğinde tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek *CAT* gen ifadesine (38,46) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanırken, en düşük *CAT* gen ifadesine (0,75) 150 mM NaCl grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.29).



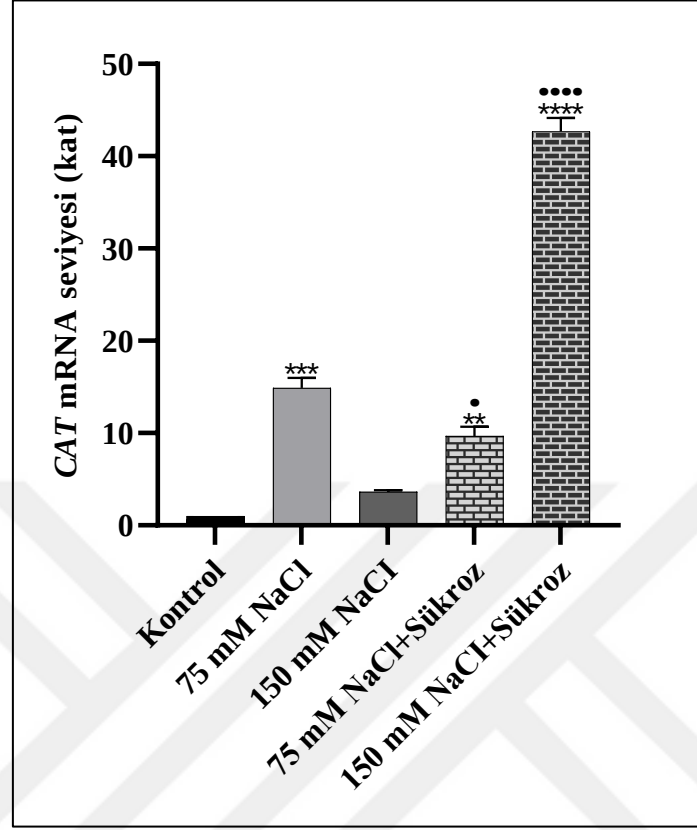
Grafik 3.29. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki *CAT* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001; ****, •••• p<0,0001)

Kanola bitkisine ait yaprak örneklerinde *CAT* geninin mRNA seviyelerindeki değişime bakıldığında, her iki tuz konsantrasyonunda kontrole göre *CAT* gen ifadesinin arttığı ve 75 mM NaCl konsantrasyonundaki *CAT* gen ifadesinin (14,90) 150 mM NaCl konsantrasyonundaki *CAT* gen ifadesinden (3,65) daha fazla artış gösterdiği tespit edilmiştir. NaCl+sükroz deney gruplarının *CAT* gen ifadesinin de kontrole göre önemli derecede arttığı; ve 150 mM NaCl+sükroz grubundaki artışın (42,68) 75 mM NaCl+sükroz grubuna (9,71) kıyasla oldukça yüksek bir oranda gerçekleştiği gözlenmiştir. Tuz uygulamaları ile tuz+sükroz uygulamaları karşılaştırıldığında, 75 mM NaCl+sükroz uygulamasında *CAT* gen ifadesinin 75 mM NaCl uygulamasına göre önemli derecede azaldığı, 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında ise *CAT* gen ifadesinin 150 mM NaCl uygulamasına göre dikkate değer bir şekilde arttığı kaydedilmiştir (Grafik 3.30).

Kanolada tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek *CAT* gen ifadesine (42,68) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.30).



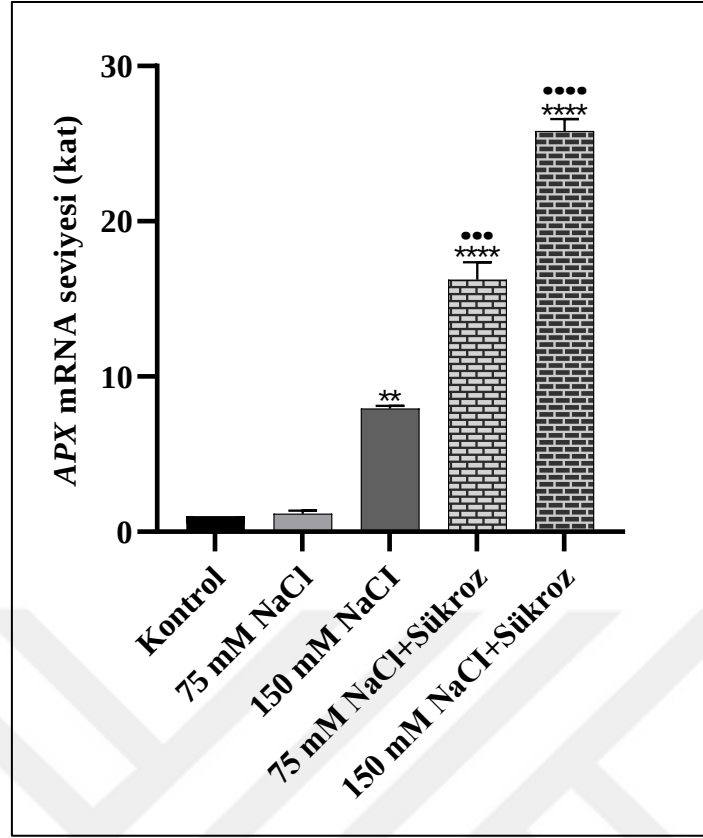
Grafik 3.30. Kanola yaprak örneklerindeki *CAT* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

3.1.6.5. Yapraklarda *APX* mRNA Seviyesindeki Değişimin Belirlenmesi

Ayçiçeğine ait yapraklarda *APX* geninin mRNA seviyelerindeki değişim incelendiğinde, 75 mM NaCl konsantrasyonunda *APX* gen ifadesinin (1,17) kontrole göre az bir miktar arttığı, 150 mM NaCl konsantrasyonunda *APX* gen ifadesinin (7,95) ise kontrole kıyasla anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir. NaCl+sükroz uygulanan deney gruplarında kontrole göre *APX* gen ifadesinin önemli derecede arttığı; 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerde *APX* gen ifadesinin (25,82) 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerle (16,24) göre daha fazla artış gösterdiği belirlenmiştir. Sadece tuz uygulanan gruplar ile tuz+sükroz uygulanan örnekler kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin *APX* gen ifadesinde önemli derecede bir artış olduğu gözlenmiştir. Ayçiçeğinde tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *APX* gen ifadesine (25,82) 150 mM NaCl+sükroz grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.31).

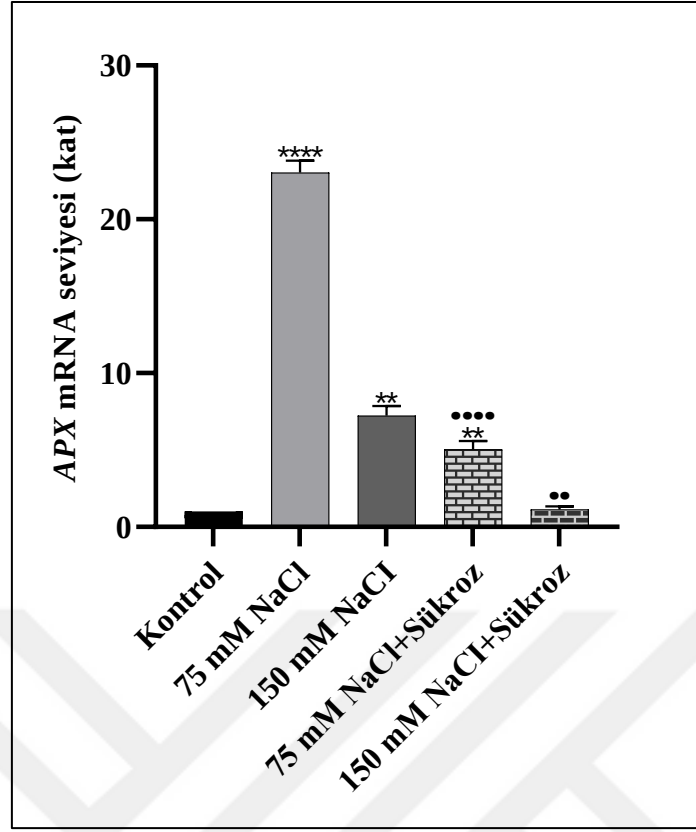


Grafik 3.31. Ayçiçeği yaprak örneklerindeki *APX* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

Kanola yaprak örneklerindeki *APX* geninin mRNA seviyelerine bakıldığında, her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole kıyasla *APX* gen ifadesinde önemli bir artış olduğu gözlenmiştir. 75 mM NaCl uygulanan örneklerin *APX* gen ifadesinde (23,03) 150 mM NaCl uygulanan örneklerin *APX* gen ifadesine (7,25) göre oldukça önemli bir artış olduğu saptanmıştır. NaCl+sükroz gruplarında; 75 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin *APX* gen ifadesinde (5,04) kontrole göre önemli bir artış olduğu belirlenmiş, 150 mM NaCl+sükroz uygulanan örneklerin *APX* gen ifadesindeki artışın ise (1,13) kontrole kıyaslandığında önemli olmadığı tespit edilmiştir. Sadece tuz uygulanan gruplar ile tuz+sükroz uygulanan deney grupları kıyaslandığında, 75 mM ve 150 mM NaCl+sükroz uygulamalarında *APX* gen ifadesinin önemli derecede azaldığı kaydedilmiştir. Kanolada tüm deney grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *APX* gen ifadesine (23,03) 75 mM NaCl uygulanan bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.32).



Grafik 3.32. Kanola yaprak örneklerindeki *APX* mRNA seviyesi

(* kontrolle uygulama grupları arasında, • tuz ile tuz+sükroz grupları arasında)

(*, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$; ****, •••• $p < 0,0001$)

3.2. Tartışma

Abiyotik stresler arasında, tuzluluk stresi bitkilerin büyüme, gelişim ve verimliliğini azaltarak dünya çapında sulanan arazilerin en az %20'sini tehdit eden önemli bir stres faktörüdür (Tuteja, 2007: 420). Bitkiler, bu stresle mücadele edebilmek için morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde çeşitli mekanizmalar geliştirerek tuzluluğa adaptasyon sağlarlar (Muchate vd., 2016: 374). Tuz stresi altında bitkilere verilen çeşitli ekzojen uygulamalar, bitkilerde stresin olumsuz etkilerinin hafifletilmesi ve bitki toleransının artırılmasında oldukça etkili rol oynamaktadır. Çalışmamızda ekzojen şekilde kullanılan sükroz, çiçek indüksiyonu, sürgün dallanması, vasküler farklılaşma ve tohum gelişimi gibi birçok metabolik ve gelişimsel sürecin düzenlenmesi için transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel seviyelerde etkin rol oynayan önemli bir sinyal molekülüdür. Kuraklık ve tuzluluk gibi streslere maruz kalan bitkilerde, ozmotik dengenin korunması ve protein ile membran yapılarının stabilizasyonuna yardımcı olması amacıyla çeşitli seviyelerde sükroz birikimi sağlanır (Lunn, 2016: 1).

3.2.1. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri

Tuz stresi, bitkilerin morfolojilerini ve büyümelerini etkileyerek yaprakların sararması ve klorozuna, tohum çimlenmesinin ve kök gelişiminin inhibisyonuna, biyokütlenin düşüşüne ve nihayetinde bitki büyüme ve gelişiminin azalmasına neden olmaktadır. Çeşitli ekzojen takviyeler, bitkilerde tuzluluğun yol açtığı hasarların hafifletilmesini sağlayarak bitki büyüme parametrelerinde çoğunlukla iyileştirici etki oluşturmaktadır (Muchate vd., 2016: 372). 0 ile 240 mM NaCl arasında değişen farklı tuz dozlarına maruz bırakılan fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkisinde gövde ve kök uzunluklarının artan tuzluluk seviyesiyle çoğunlukla azalış gösterdiği gözlenmiştir (Çamlıca ve Yaldız, 2017: 72). Sekiz farklı pirinç çeşidinde uygulanan 5, 10 ve 15 dS m⁻¹ tuz stresinin de artan tuzlulukla gövde ve kök uzunluklarında azalmaya yol açtığı görülmüştür (Ologundudu vd., 2014: 240). Farklı tuz konsantrasyonları (0, 25, 50, 100 ve 200 mM NaCl) uygulanan salatalık (*Cucumis sativus*) ve domates (*Solanum lycopersicum*) bitkilerinin gövde ve kök uzunluklarının da artan tuz seviyesiyle düştüğü tespit edilmiştir (Abdel-Farid vd., 2020: 5). Literatürdeki çoğu araştırmanın belirttiği gibi çalışmamızda da iki farklı konsantrasyonda NaCl uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin morfolojisinde hafif toksisite semptomları görüldüğü ve gövde uzunluklarının kontrole göre azaldığı gözlenmiştir. 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarına maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin kontrole göre gövde uzunluklarının azaldığı ($p<0,0001$) ve bu azalışın nispeten düşük tuz konsantrasyonundaki örneklerde yüksek tuz konsantrasyonundaki örneklerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.1). Kanola fidelerinde de 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında gövde uzunluklarının kontrole göre azaldığı ($p<0,0001$), fakat iki tuz konsantrasyonundaki değerler arasında çok belirgin bir farka rastlanmadığı saptanmıştır (Grafik 3.2). İki farklı konsantrasyonlarda uygulanan tuz stresinin ayçiçeği ve kanola bitkilerinde kök uzunluğunu da önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Ayçiçeğinde her iki tuz grubunda da artan NaCl konsantrasyonu ile kontrole göre kök uzunluğu azalırken ($p<0,0001$), kanolada 75 mM NaCl uygulanan örneklerin kök uzunluğunun 150 mM NaCl uygulananlara göre daha fazla azaldığı ($p<0,0001$) tespit edilmiştir (Grafik 3.1 ve 3.2). Tuz stresi altında bitkilerin gövde ve kök uzunluklarında yaşanan bu azalmalar, tuzluluktan olumsuz etkilenen hücre bölünmesi ve hücre uzamasına bağlı olabilmektedir. Tuzluluk koşullarında, transpirasyon akışıyla yapraklara ulaşan tuz iyonları, bitkilerde büyümenin sınırlandırılmasıyla sonuçlanan yaprak alanının azalmasına, nekroza ve yaprakların sarararak dökülmesine yol açabilir (Abdel-Farid vd., 2020: 12).

75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin gövde ($p<0,0001$) ve kök uzunluklarının (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,001$) kontrole göre önemli derecede azaldığı ve 75 mM NaCl+sükroz grubuna ait kök uzunluğunun 150 mM NaCl+sükroz grubuna kıyasla daha anlamlı şekilde azaldığı gözlemlenmiştir (Grafik 3.1). Kanolada da ekzojen sükroz uygulanan grupların gövde ($p<0,0001$) ve kök ($p<0,0001$) uzunluklarının kontrole göre azaldığı belirlenmiş, fakat sükroz uygulanan gruplar arasında gövde ve kök değerleri açısından istatistiksel önemli bir farka rastlanmamıştır (Grafik 3.2). İki farklı tuz konsantrasyonunda ayçiçeğine verilen %3'lük ekzojen sükroz takviyesinin, kontrol kadar olmasa da ayçiçeği fidelerinin gövde uzunluğunda artış sağladığı görülmüş ve özellikle 75 mM NaCl'de uygulanan sükrozun tuzluluk koşullarında gövde uzunluğunda önemli derecede bir artış ($p<0,001$) sağladığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 75 mM NaCl'de uygulanan sükrozun tuz stresi altında ayçiçeğinde kök uzunluğunu azaltırken, 150 mM NaCl'de uygulanan sükrozun kök uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p<0,01$) sağladığı gözlenmiştir (Grafik 3.1). Kanola fidelerine uygulanan ekzojen sükrozun ise tuz stresi altında gövde uzunluğunda bir değişikliğe neden olmadığı, ancak kök uzunluğunu artırdığı belirlenmiştir. Yalnızca tuz uygulanan kanola örnekleriyle kıyaslandığında, özellikle 75 mM NaCl'de uygulanan sükrozun kök uzunluğunu anlamlı bir şekilde ($p<0,05$) artırdığı saptanmıştır (Grafik 3.2). Literatürdeki benzer çalışmalara bakıldığında, 150 mM tuz stresi altındaki buğday fidelerine ekzojen olarak uygulanan 2 mM jasmonik asidin, yalnızca tuz uygulanan gruba göre bitki boyu ve kök uzunluğunu artırdığı gözlenmiştir (Qiu vd., 2014a: 207). 50 mM NaCl koşullarında yetiştirilen iki acı biber genotipine uygulanan çeşitli konsantrasyonlarda prolinin (0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ve 1.2 mM) fidelerin gövde ve kök uzunluklarını artırdığı ve uygulanan prolin konsantrasyonları arasında 0.8 mM prolin uygulamasının, gövde ve kök uzunluklarında en etkili artışı sağladığı belirlenmiştir (Butt vd., 2016: 45). İki pirinç çeşidinde yapılan bir çalışmada da, 200 mM NaCl stresinin fidelerin gövde ve kök uzunluklarını azalttığı, fakat polisakkaritlerden olan β -glukanın (2, 3, 4 ve 5 mg L⁻¹) ekzojen şekilde uygulanmasının yalnızca tuzla muamele edilen örneklere göre bitkilerin kök ve gövde uzunluklarını anlamlı bir şekilde artırdığı tespit edilmiştir. 4 mg L⁻¹ ekzojen polisakkarit (β -glukan) uygulamasının, tuz stresi altında pirinç fidelerinin kök ve gövde uzunluklarında en yüksek artışı sağladığı bildirilmiştir (Alhasnawi vd., 2016: 355). Yine 100 mM NaCl koşullarında iki pirinç çeşidine verilen ekzojen kalsiyum takviyesinin (10 mM CaCl₂) de, fidelerin gövde ve kök uzunluklarında etkili bir şekilde artış sağlayarak bitki büyüme performansını iyileştirdiği rapor edilmiştir (Roy vd., 2019: 616). Literatürde yer alan bu sonuçlar çalışmamızı desteklemektedir.

75 ve 150 mM NaCl uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinde artan tuz konsantrasyonuyla birlikte köklerin yaş ($p<0,0001$) ve kuru ağırlığında (ayçiçeğinde sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$ iken, kanolada $p<0,0001$) kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (Grafik 3.3 ve 3.4). İki farklı tuz konsantrasyonu uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinde kontrole göre gövde yaş ve kuru ağırlıklarında da önemli derecede azalma gözlenmiştir. 75 mM tuz uygulanan ayçiçeği fidelerinde gövde yaş ($p<0,0001$) ve kuru ağırlığının ($p<0,0001$) 150 mM tuz uygulanan örneklerle (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,001$) göre daha fazla azaldığı görülmüştür (Grafik 3.5). 75 mM ve 150 mM NaCl uygulanan kanola örneklerine ait gövde yaş ağırlıkları arasında önemli bir değişikliğe rastlanmazken, 75 mM tuz örneklerine ait gövde kuru ağırlığının ($p<0,001$) 150 mM tuz örneklerine ($p<0,01$) kıyasla daha fazla azaldığı belirlenmiştir (Grafik 3.6). Sonuçlarımıza benzer şekilde, nane (*Mentha piperita* L.) ile yapılan bir çalışmada, 50 mM ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarının kontrole kıyasla gövde ve köklere ait yaş ve kuru ağırlıklarda önemli bir azalışa neden olduğu tespit edilmiştir (Khorasaninejad vd., 2010: 1404). *Brassica* (*Brassica napus* ve *Brassica juncea*) türlerinde yapılan bir başka çalışmada, 100 mM ve 200 mM tuz stresinin kontrole göre gövde yaş ve kuru ağırlığı ile kök yaş ve kuru ağırlığını artan tuz seviyesiyle kademeli olarak azalttığı ifade edilmiştir (Shah vd., 2011: 336). Altı farklı pirinç (*Oryza sativa* L.) çeşidinde de, 5 dS m⁻¹ ve 10 dS m⁻¹ tuz stresinin tüm pirinç çeşitlerinde fidelerin yaş ve kuru ağırlıklarını kontrole göre önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Minh vd., 2016: 4).

İki farklı tuz konsantrasyonunda ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin kök yaş ağırlıklarının kontrole göre azaldığı ($p<0,0001$) ve bu azalmanın düşük tuz konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubunda daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ekzojen sükroz gruplarının kök kuru ağırlıklarının ise hem ayçiçeği ($p<0,01$) hem de kanolada ($p<0,0001$) kontrole göre önemli derecelerde azaldığı kaydedilmiştir (Grafik 3.3 ve 3.4). Ayçiçeğinde ve kanolada ekzojen sükroz uygulanan grupların gövde yaş ($p<0,0001$) ve kuru (ayçiçeğinde her iki sükroz grubu için $p<0,01$ iken, kanolada 75 mM tuzda uygulanan sükroz grubu için $p<0,05$) ağırlıklarının ise genel olarak kontrole göre önemli derecede azaldığı görülürken, gövde yaş ve kuru ağırlık değerlerinin bu gruplar arasında çok fazla bir oranda değişmediği tespit edilmiştir (Grafik 3.5 ve 3.6).

75 mM ve 150 mM NaCl konsantrasyonunda ayçiçeği fidelerine uygulanan ekzojen sükroz takviyesi tuz stresi altında kök kuru ağırlığında herhangi bir farklılık oluşturmazken, 75 mM tuzda uygulanan sükroz kök yaş ağırlığında anlamlı bir azalmaya ($p<0,0001$) ve 150 mM NaCl'de uygulanan sükroz da kök yaş ağırlığında önemli bir artışa ($p<0,001$) neden

olmuştur (Grafik 3.3). 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan ekzojen sükrozun kanola fidelerinde ise tuz stresi altında kök yaş ağırlığını önemli ölçüde artırdığı (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,0001$) gözlemlenmiştir. Ek olarak, 150 mM NaCl'de uygulanan sükrozun kanola köklerinin kuru ağırlığında da artış ($p<0,01$) sağladığı belirlenmiştir (Grafik 3.4). Nihayetinde, ekzojen sükroz uygulamasının özellikle tuz stresi altındaki kanola bitkisinde kök uzaması ve kök ağırlığını olumlu etkileyerek kök gelişimini iyileştirdiği anlaşılmıştır.

Ayçiçeğinde 75 mM NaCl'de uygulanan %3'lük sükrozun, yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında gövde yaş ($p<0,0001$) ve kuru ağırlığında ($p<0,05$) anlamlı bir artışa neden olduğu, 150 mM NaCl'de uygulanan sükrozun da önemli bir değişikliğe yol açmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.5). 75 mM ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun kanola fidelerinde ise, gövde yaş ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa ($p<0,0001$) sebep olduğu gözlenmiştir. Kanola bitkilerine ait gövde kuru ağırlığında da 75 mM tuz konsantrasyonunda uygulanan sükrozun anlamlı bir artış sağladığı belirlenmiştir ($p<0,05$) (Grafik 3.6). Çalışmamızda hem ayçiçeği hem de kanola örneklerinde ekzojen sükroz takviyesinin, tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltarak fidelerin gövde ağırlıklarını olumlu etkilediği görülmüştür.

Literatürde çalışmamızın sonuçları ile paralellik gösteren araştırmalar mevcuttur. Örneğin çeşitli tuz konsantrasyonları (50, 100 ve 150 mM NaCl) altında mısır (*Zea mays* L.) fidelerine uygulanan ekzojen salisilik asidin, tuzun yol açtığı zararlı etkileri hafifleterek gövde ve köklere ait yaş ve kuru ağırlıklarda artışa sebep olduğu ifade edilmiştir (Khodary, 2004: 6). 100 mM tuz stresi altında domates fidelerine verilen salisilik asidin yaprak ön uygulamasının da, köke ait yaş ve kuru ağırlık ile gövdeye ait yaş ve kuru ağırlığı arttırarak büyümeyi iyileştirdiği rapor edilmiştir (Souri ve Tohidloo, 2019: 3). İki kanola (*Brassica napus* L.) çeşidiyle yapılan bir çalışmada ise, 120 mM NaCl stresinin gövde ve köklere ait yaş ve kuru ağırlıkları azalttığı ve değişen konsantrasyonlarda (0.1, 0.5, 1 ve 5 mM) ekzojen olarak uygulanan glisin betain ve prolin takviyesinin ise tuz stresi altında iki kanola çeşidinde de büyüme performansını iyileştirdiği tespit edilmiştir. Tuzluluk koşullarında ekzojen glisin betain uygulamasının her iki çeşidin gövde kuru ağırlığını ve kök yaş-kuru ağırlıklarını, ekzojen prolin uygulamasının da her iki çeşidin gövde ve kök kuru ağırlıklarını önemli ölçüde artırdığı belirlenmiş olup en iyi performansın, glisin betainin ve prolinin yüksek konsantrasyonlarında (1 mM veya 5 mM) sağlandığı ifade edilmiştir (Wahid ve Jamil, 2009: 1313). Başka bir çalışmada ise, 100 mM NaCl stresinin marul (*Lactuca sativa* L.) bitkilerinde gövde yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı gibi

parametrelerde önemli bir şekilde azalmaya yol açtığı, fakat tuz stresi altında 100 mg/L ekzojen kitosan uygulamasının ise bu parametreleri iyileştirerek artırdığı gözlenmiştir (Zhang vd., 2021: 6).

Genellikle, bitkilerdeki yüksek biyokütle üretimi, fotosentetik hızla ilişkili olup bu hız da, stoma iletkenliğine ve yaprak fotosentetik pigmentlerinin miktarına bağlıdır. Tuzluluk gibi stres faktörleri ise, yaprak klorofil içeriklerinin azalmasına neden olarak fotosentetik hızın düşmesine ve böylece biyokütle üretiminin azalmasına yol açmaktadır (Kaya vd., 2013a: 238). Çalışmamızda iki farklı tuz konsantrasyonuna maruz bırakılan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin her ikisinde de kontrole göre gövde ($p<0,0001$) ve kök (ayçiçeğinde $p<0,0001$; kanolada 150 mM NaCl grubu için $p<0,05$) biyokütlelerinin azaldığı belirlenmiştir. 75 mM NaCl uygulanan ayçiçeği ve kanola örneklerinin gövde biyokütlesi 150 mM NaCl uygulanan örneklerle kıyasla azalırken, kök biyokütlesinde 150 mM NaCl uygulanan örneklerin daha fazla azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.7 ve 3.8). Kao ve arkadaşlarının üç farklı soya çeşidinde (*Glycine soja*, *Glycine tomentella* ve *Glycine tabacina*) yaptıkları bir çalışmada 17, 51 ve 85 mM NaCl stresinin bitkilerin gövde ve kök biyokütlelerinde çoğunlukla önemli derecede azalmaya yol açtığı ifade edilmiştir (Kao vd., 2006: 122). Yoncada (*Medicago sativa* L.) yapılan bir çalışmada da, artan tuz stresi seviyesiyle (18,3 dS m⁻¹ ve 24,5 dS m⁻¹) bitkilerin kök ve gövde biyokütlelerinin azaldığı bildirilmiştir (Cornacchione ve Suarez, 2017: 144). Buğday fidelerinde ise, 70 ve 100 mM NaCl stresinin gövde biyokütlesini sırasıyla %26 ve %33 oranında azaltırken, kök biyokütlesini de sırasıyla %35 ve %70 oranında azalttığı belirtilmiştir (Sienkiewicz-Cholewa vd., 2018: 4).

Ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola örneklerinin gövde ($p<0,0001$) ve kök (ayçiçeği için $p<0,0001$ iken, kanola için $p<0,05$) biyokütleleri kontrole göre azalmış olup, bu gruplar arasında iki farklı konsantrasyondaki gövde ve kök biyokütleleri açısından önemli bir fark tespit edilmemiştir (Grafik 3.7 ve 3.8).

İki farklı tuz konsantrasyonunda uygulanan %3'lük ekzojen sükroz takviyesinin tuz stresi altında ayçiçeği ve kanola bitkilerinde gövde biyokütlesini anlamlı bir şekilde artırırken (ayçiçeğinde her iki grup için $p<0,0001$ iken, kanolada 75 mM NaCl+Sükroz için $p<0,0001$; 150 mM NaCl+Sükroz için $p<0,001$), kök biyokütlesinde ise önemli bir değişiklik oluşturmadığı gözlenmiştir. Özellikle 75 mM NaCl'de uygulanan sükrozun ayçiçeği ve kanola bitkilerinin gövde biyokütlesinde oldukça yüksek bir artış sağladığı görülmüştür (Grafik 3.7 ve 3.8). Yapılan bir çalışmada, düşük konsantrasyonlarda (1-5 µM) uygulanan ekzojen selenyumun 100 mM NaCl stresi altında yetişen kuzukulağı (*Rumex patientia* x *R.*

tianshanicus) fidelerinde biyokütle artışına yol açtığı tespit edilmiştir (Kong vd., 2005: 158). Yine 100 mM NaCl stresine maruz kalan mısır (*Zea mays* L.) bitkilerinin de kök ve gövdeye ait kuru biyokütlelerinin kontrole göre azaldığı, fakat ekzojen mannitol (15 mM ve 30 mM) veya tiyoüre (3,5 ve 7 mM) uygulamasının biyokütle üretiminde tuz stresinden kaynaklanan düşüşü önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Mannitol ve tiyoürenin ekzojen uygulamaları, biyokütleyi neredeyse eşit oranda artırmış olup bu artışın mannitol ve tiyoürenin sırasıyla C ve N kaynağı olarak hareket etmiş olmalarından veya hücrel osmotik ayarlamadaki rollerinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Kaya vd., 2013a: 238).

Bitkilerin herhangi bir abiyotik faktöre olan tolerans indeksleri; stres koşullarında bitkilerin stres direncini yansıtan bir gösterge olarak değerlendirilmekte ve o bitki türünün ekolojik hoşgörölülüğü hakkında bir fikir vermektedir. İki farklı mısır (*Zea mays* L.) çeşidinde yapılan bir çalışmada, artan tuzluluk seviyesiyle 100, 125 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında tolerans indeksinin azaldığı gözlenmiştir (Saddiqe vd., 2016: 1369). Yine bazı mısır genotiplerinde yapılan bir başka çalışmada, tuzluluk seviyelerinin artmasıyla tuz tolerans indeksinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Tuz tolerans indeks değeri, sırasıyla 4 dS m⁻¹'de %98,88, 6 dS m⁻¹'de %94,18, 8 dS m⁻¹'de %87,07, 10 dS m⁻¹'de %79,67 ve 12 dS m⁻¹'de %40,29 olarak kaydedilmiştir (Konuskan vd., 2017: 1671). Çalışmamızda da tuz stresi uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin tolerans indekslerinin kontrole göre azaldığı (p<0,0001) ve özellikle en düşük tuz tolerans indeksinin iki bitkide de 75 mM NaCl konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. Ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola örneklerinin tolerans indekslerinin kontrole göre düşük olduğu (p<0,0001) görülse de, iki bitkiye uygulanan ekzojen sükroz takviyesinin sadece tuz uygulanan gruplara göre tuz tolerans indeksini artırdığı (p<0,0001) gözlenmiştir. Sükroz takviyesi, tolerans indeksini ayçiçeği ve kanolada düşük tuz konsantrasyonunda neredeyse benzer oranda artırırken, yüksek tuz konsantrasyonunda ayçiçeğinde kanolaya kıyasla daha fazla artırmıştır. İki bitkiye uygulanan ekzojen sükrozun, en yüksek artışı ayçiçeğinde 150 mM NaCl konsantrasyonunda sağladığı kaydedilmiştir. Sonuç olarak, ayçiçeği ve kanolaya ait bütün deney grupları kıyaslandığında kanola örneklerinin ayçiçeği örneklerine kıyasla daha düşük tolerans indekslerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.9 ve 3.10). Literatürde ekzojen takviyelerin bitkilerin tolerans indeksini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada, 125 mM ve 250 mM NaCl koşullarında yetiştirilen sorgum bitkilerinde artan tuz seviyesine paralel olarak tuz tolerans indeksinin azaldığı, fakat bu bitkilere verilen ekzojen glisin betain takviyesinin tuz stresi altında tuz tolerans indeksini artırdığı ifade edilmiştir

(Ibrahim, 2004: 310). Maş fasulyesinde (*Vigna radiata*) yapılan bir çalışmada ise, ekzojen nitrik oksit (NO) takviyesinin 100 mM tuz stresi altında bitki boyu, kök uzunluğu, sürgün ve kök taze ağırlığı gibi çeşitli büyüme parametrelerine bağlı stres tolerans indeklerinde artış sağladığı belirtilmiştir (Salahuddin vd., 2017: 850).

3.2.2. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Klorofil Miktarları Üzerine Etkileri

Bitki yapraklarının içerdiği klorofil miktarında meydana gelen azalma, kloroplastlarda tuz stresinin sebep olduğu oksidatif hasarla ilişkilendirilmektedir. Bu durum, CO₂ asimilasyon oranında azalmayla ve stoma dışı fotosentez kısıtlanmasıyla sonuçlanmaktadır (Ji vd., 2022: 16). Tuz stresi altında, bitkilerin klorofil miktarında görülen azalma seviyeleri yaygın bir olgu olup çalışmamızda da iki farklı tuz konsantrasyonu uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre klorofil *a* ($p<0,0001$), klorofil *b* (her iki bitkide de $p<0,0001$ olup sadece 75 mM NaCl uygulanan ayçiçeği için $p<0,01$) ve toplam klorofil ($p<0,0001$) miktarlarının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.11 ve 3.12). Tuz stresi altında klorofil miktarlarındaki azalma, klorofil pigmentlerinin yıkımıyla, klorofil sentezinin azalmasıyla ve pigment protein kompleksinin kararsızlığıyla açıklanabilir. Sekiz farklı nohut genotipinde yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki tuz stresinin (25, 50, 75 ve 100 mM) tüm genotiplerde toplam klorofil miktarını kontrole göre azalttığı belirlenmiştir (Rasool vd., 2013: 1046). 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan pervane çiçeğinin (*Catharanthus roseus* (L.) G.Don) artan tuz konsantrasyonu ile klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriklerinin kontrole göre azaldığı rapor edilmiştir (Jaleel vd., 2008: 81).

İki farklı tuz konsantrasyonunda ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin klorofil *a* ($p<0,0001$), klorofil *b* (75 mM NaCl+Sükroz için $p<0,01$; 150 mM NaCl+Sükroz için $p<0,05$) ve toplam klorofil ($p<0,0001$) miktarlarının kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Ayçiçeği örneklerine ait klorofil verilerinde en önemli sonuç, özellikle 75 mM NaCl+sükroz örneklerinde klorofil *a* ve toplam klorofil miktarlarında dikkate değer bir artışın olmasıdır (Grafik 3.11). Öte yandan, ayçiçeği örneklerinin aksine ekzojen sükroz uygulanan kanola örneklerinin ise klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarının kontrole göre önemli derecede azaldığı ($p<0,0001$) belirlenmiştir (Grafik 3.12).

Ayçiçeği ve kanola bitkilerinde uygulanan ekzojen sükroz takviyesi, bitkilerde önemli değişikliklerle sonuçlanmıştır. Ayçiçeğinde 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükroz, sadece tuz uygulanan gruplara göre klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil

miktarlarında oldukça önemli bir artış ($p<0,0001$) sağlamıştır (Grafik 3.11). Kanolada ise yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında 75 mM NaCl'de uygulanan sükroz klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarında herhangi bir değişikliğe neden olmazken, 150 mM NaCl'de uygulanan sükroz klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarında önemli ölçüde bir artışa (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,001$ ve $p<0,0001$) yol açmıştır (Grafik 3.12). Ekzojen sükroz takviyesi, hem ayçiçeğinin hem de kanolanın tuz stresi altında azalan klorofil içerikleri üzerinde iyileştirici bir etki göstermiştir. Literatürde farklı ozmoprotektanlarla yapılan araştırmalar, sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Çalışmamızla benzer bulguların elde edildiği bir araştırmada, 342 mM NaCl konsantrasyonunun biri tuza duyarlı diğeri tuza toleranslı olan iki pirinç çeşidinde klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriklerini azalttığı ve tuza duyarlı çeşide uygulanan farklı konsantrasyonlarda (29,2; 58,4 ve 116,8 mM) ekzojen sükrozun ise tuz stresi altında klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriklerini artırdığı ifade edilmiştir. 58,4 mM sükroz ön uygulamasının, tuzla muamele edilen pirinç fidelerine ait klorofil içeriklerinde en fazla iyileşmeyi sağladığı bildirilmiştir (Siringam vd., 2012: 54). Başka bir çalışmada da, 150 mM NaCl konsantrasyonunun ayçiçeğinde klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriklerini azalttığı ve ekzojen olarak uygulanan farklı ozmoprotektanların (salisilik asit, askorbik asit ve prolin) tuz stresi altında klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriklerini artırdığı tespit edilmiştir. Uygulanan ozmoprotektanlar içerisinde klorofil miktarlarında en fazla artışa yol açanın prolin olduğu kaydedilmiştir (Noreen vd., 2019: 1320). Domates ile yapılan diğeri bir çalışmada da, 200 mM tuz konsantrasyonunun klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriklerini azalttığı, tuz stresi altında farklı konsantrasyonlarda (1, 2, 3, 5 ve 10 mM) uygulanan ekzojen trehalozun ise en yüksek konsantrasyonu hariç genellikle klorofil içeriklerini artırdığı belirlenmiştir. En yüksek klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriği 2 mM trehaloz uygulamasında elde edilmiştir (Feng vd., 2019: 454).

3.2.3. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri

Bitkilerde membran lipid peroksidasyonunun ürünlerinden biri olan MDA, stres koşulları altında bitki hasarının seviyesini gösteren önemli bir indekstir. MDA, tilakoid zarın yapısına zarar vererek ve klorofil degradasyonuna yol açarak bitkilerde fotosentezi etkileyebilmektedir (Ji vd., 2022: 16). Tuz stresi altında bitkilerde genellikle MDA içeriğinin arttığı görülmektedir. Çalışmamızda da, 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarına maruz bırakılan ayçiçeği (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$) ve kanola (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,001$) bitkilerinin MDA içeriğinin kontrole göre artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak arttığı

belirlenmiştir (Grafik 3.13 ve 3.14). İki salatalık çeşidiyle yapılan bir çalışmada, her iki çeşitte de tuz stresinin MDA içeriğini kontrole göre artırdığı tespit edilmiştir (Khoshgoftarmanesh vd., 2014: 647). Yapılan başka bir çalışmada, farklı sürelerde (6, 12, 18 ve 24 gün) ve farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 200 ve 300 mM NaCl) tuz stresine maruz bırakılan Teksas cevizinde (*Juglans microcarpa* L.) MDA içeriğinin artan tuz konsantrasyonuyla kontrole göre arttığı gözlenmiştir. Düşük tuz konsantrasyonunda (50-100 mM NaCl) bitkilerdeki MDA içeriği daha yavaş artarken, tuz konsantrasyonu arttığında ve stres süresi uzadığında MDA içeriğinde önemli ölçüde artış olduğu rapor edilmiştir. Düşük tuz konsantrasyonlarında MDA içeriğindeki artışın yavaş olmasının sebebinin, düşük tuzluluk seviyelerinin antioksidan enzimlerin aktivitelerini destekleyerek hücre membran sistemindeki hasarı azaltmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (Ji vd., 2022: 7).

75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin MDA içeriklerinde artan tuz konsantrasyonuyla birlikte kontrole göre bir artış (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,001$) olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.13). Ekzojen sükroz uygulanan kanola örneklerinin MDA içeriklerinin de kontrole göre arttığı gözlenmiş, fakat bu artışın 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubunda ($p<0,01$) 150 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubuna ($p<0,05$) kıyasla daha fazla olduğu kaydedilmiştir (Grafik 3.14).

Ayçiçeği ve kanola bitkilerine uygulanan ekzojen sükroz takviyesinin tuz stresi altında bitkilerin MDA içeriklerini azaltarak membran hasarına karşı koruyucu bir etki oluşturduğu gözlenmiştir. Ayçiçeğinde ve kanolada 75 mM NaCl'de uygulanan sükrozun yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında MDA içeriğinde çok önemli bir değişikliğe neden olmadığı, sadece az bir miktar azalış sağladığı belirlenmiştir. 150 mM NaCl+sükroz uygulamasının hem ayçiçeği hem de kanolada sadece 150 mM NaCl uygulamasına göre MDA içeriğini önemli ölçüde azalttığı ($p<0,01$) tespit edilmiştir (Grafik 3.13 ve 3.14). MDA içeriğindeki bu azalma, ekzojen sükroz uygulaması altında antioksidan enzimlerin artan aktivitesiyle açıklanabilir. Buğday ile yapılan bir çalışmada, 150 mM tuz konsantrasyonunun MDA içeriğini kontrole göre artırdığı, oligosakkaritlerden olan oligokitosanın ön uygulamasının ise tuz stresi altındaki fidelerin MDA içeriğini azalttığı bildirilmiştir. Oligokitosan ön uygulamasının, tuz stresinin neden olduğu membran hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (Ma vd., 2012: 398). Karpuz (*Citrullus lanatus*) ile yapılan bir çalışmada, 150 mM NaCl konsantrasyonunun MDA içeriğini kontrole göre artırdığı, tuz stresi altında ekzojen trehaloz uygulamasının ise MDA içeriğini yalnız tuz

stresine maruz bırakılan örnekler göre azalttığı rapor edilmiştir (Yuan vd., 2022: 6). Kinoa (*Chenopodium quinoa* L.) bitkisinde yapılan bir çalışmada ise, farklı tuz konsantrasyonlarının (300, 450 ve 600 mM NaCl) MDA içeriğini kontrole göre artırdığı, fakat 10 mM ekzojen myo-inositol uygulamasının tuz stresi altında MDA içeriğini, elektrolit sızıntısını ve ROS üretimini azaltarak bitkilerin oksidatif hasarını hafiflettiği ifade edilmiştir (Al-Mushhin vd., 2021: 8).

3.2.4. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Prolin İçeriği Üzerine Etkileri

Prolin, stres koşullarında bir karbon ve nitrojen kaynağı olarak hareket etmesinin yanında serbest radikallerin temizlenmesini sağlamakta ve plazma zarı ile bazı makromoleküllerin dengeleyicisi olarak faaliyet göstermektedir. Prolinin sentezi genellikle biyosentezinde yer alan genlerin aktivasyonu ile ilişkili olup tuz stresi altında bitkilerde ozmotik dengenin korunması amacıyla çoğunlukla artan prolin birikimi söz konusudur (Fariduddin vd., 2013: 7852). Çalışmamızda da, 75 ve 150 mM NaCl stresine maruz bırakılan ayçiçeği örneklerinin kontrole göre artan NaCl seviyesiyle prolin içeriklerinin ciddi bir oranda arttığı ($p<0,0001$) gözlenmiştir (Grafik 3.15). Kanolada ise ayçiçeğindeki gibi yüksek bir artış olmasa da her iki tuz konsantrasyonunda da kontrole göre prolin içeriklerinin arttığı ($p<0,01$), fakat bu iki konsantrasyona ait prolin içeriklerinin benzer miktarda olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.16). Stresli koşullar altında genel olarak prolin, glisin betain ve şekerler gibi çözünenler birikmektedir. Tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerde prolinin birikmesi, antioksidan enzimlerin düşük aktivitesinden kaynaklanabilmektedir. İki farklı kanola çeşidiyle yapılan bir çalışmada, her iki çeşitte de artan tuz konsantrasyonu ile kontrole göre yaprak ve kök prolin içeriğinin arttığı gözlenmiştir (Nazarbeygi vd., 2011: 72). İki fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) genotipiyle yapılan bir çalışmada ise, her iki genotipte de artan tuz seviyesiyle kontrole kıyasla prolin içeriğinin arttığı belirlenmiştir (Heidari, 2012: 382). 150 mM NaCl stresine maruz bırakılan iki salatalık (*Cucumis sativus* L.) çeşidinde de, prolin seviyesinin tuzluluk koşullarında arttığı ifade edilmiştir (Fariduddin vd., 2013: 7851).

İki farklı tuz konsantrasyonlarında ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola örneklerinin prolin içeriklerinde artan tuz konsantrasyonu ile birlikte kontrole göre bir artış olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen artışların 150 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubunda (her iki bitki için $p<0,01$) istatistiksel olarak bir anlam ifade ettiği görülmüştür (Grafik 3.15 ve 3.16).

Çalışmamızda, ayçiçeğinde 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrözün yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında prolin içeriğinde önemli derecede bir azalmaya ($p<0,0001$) neden olduğu kaydedilmiştir (Grafik 3.15). Kanolada ise 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrözün yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında prolin içeriğini azalttığı ve bu azalışın 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükröz grubunda anlamlı düzeyde ($p<0,01$) gerçekleştiği tespit edilmiştir (Grafik 3.16). Ekzojen sükröz takviyesi yapılan bitkilerin, sadece tuz stresine maruz bırakılan bitkilere göre prolin içeriklerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni, sükrözün ozmoprotektif etkisinin bitkilerin stres koşulları altında prolin gibi diğer ozmolitleri biriktirme ihtiyacını azaltması olabilir. Çalışmamıza paralel olarak, Abdallah ve arkadaşları (2016), iki pirinç çeşidinde tuz stresinin kontrole kıyasla prolin içeriğini artırdığını, tuz stresi altındaki ekzojen trehaloz uygulamasının ise prolin içeriğini kontrole göre artırıp sadece tuz stresi uygulanan gruplara göre prolin içeriğini azalttığını belirlemişlerdir. Bu azalışın, trehalozun da prolin gibi ozmoprotektan rol üstlenmesinden kaynaklı olabileceğini ifade etmişlerdir (Abdallah vd., 2016: 280). Mısırdaki yapılan bir çalışmada ise, tuz stresinin kontrole göre serbest prolin içeriğini artırdığı gözlenmiştir. Bununla beraber, tuz stresiyile birlikte ekzojen silikon uygulamasının da kontrole kıyasla serbest prolin içeriğini artırdığı ama yalnızca tuz stresi uygulanan örneklerle göre serbest prolin içeriğini azalttığı bildirilmiştir (Moussa, 2006: 296). Çemen otunda (*Trigonella foenum-graceum* L.) yapılan diğer bir çalışmada da, 50 ve 100 mg L⁻¹ NaCl stresinin artan tuz seviyesiyle kontrole göre prolin içeriğini artırdığı ve tuz stresi altında 10⁻⁶ M giberellik asit (GA₃) uygulamasının ise, stres uygulanan örneklerle kıyasla prolin içeriğini azalttığı tespit edilmiştir. Ekzojen olarak uygulanan giberellik asidin, stres altında muhtemelen lipid peroksidasyonunu inhibe ederek prolin içeriğini azalttığı düşünülmektedir (Mukarram vd., 2021: 110).

3.2.5. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükröz Uygulamasının Toplam Protein İçeriği Üzerine Etkileri

Protein, tuzluluk koşulları altında bitkilerde en sık biriken ozmotik düzenleyici olarak kabul edilmektedir (Iqbal vd., 2021: 412). Çalışmamızda, 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarına maruz bırakılan ayçiçeği bitkilerinde kontrole göre toplam protein miktarlarının önemli ölçüde arttığı ($p<0,001$) ve bu artışın 150 mM NaCl konsantrasyonunda biraz daha fazla olduğu belirlenmiştir (Grafik 3.17). İki farklı tuz konsantrasyonu uygulanan kanola bitkilerinin toplam protein miktarlarının da artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak kontrole göre ciddi oranda arttığı (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$) tespit edilmiştir (Grafik 3.18).

Tuz stresi altında ayçiçeği ve kanolada toplam protein miktarının artmasının sebebi, strese duyarlı proteinlerin sentezi olabilir. Bu proteinler ROS detoksifikasyonunda yer almakta ve böylece strese adaptasyonda rol oynamaktadır. Strese duyarlı proteinler, tuz stresi altında *de novo* sentezlenebilir veya zaten yapısal olarak düşük konsantrasyonlarda mevcut olup stres maruziyetinde konsantrasyonları artabilir (Ejaz vd., 2012: 637). Tuz stresi altında bitkilerin toplam protein miktarındaki artış için önerilen bir diğer olası sebep ise tuzluluğun, inorganik nitrojenin proteine fiksasyonunu teşvik etmesi ve böylece protein sentezini desteklemesidir (Shah vd., 2007: 102). Çalışmamızla benzer bulguların elde edildiği bir araştırmada, farklı konsantrasyonlarda uygulanan tuz stresinin ıspanak fidelerinde kontrole göre toplam protein içeriğini artırdığı tespit edilmiştir (Bano vd., 2021: 117). Bakla (*Vicia faba* L.) ile yapılan bir çalışmada da, tuz stresi uygulamasından 10 gün sonra artan tuz konsantrasyonuyla toplam protein içeriğinin kontrole göre arttığı belirlenmiştir (Qados, 2011: 13). Stevia bitkisi (*Stevia rebaudiana* Bertoni) ile yapılan başka bir çalışmada da, 50 ve 150 mM NaCl konsantrasyonunun toplam protein içeriğini kontrole kıyasla artırdığı rapor edilmiştir (Gerami vd., 2020: 970). Diğer taraftan, üç farklı pirinç çeşidinde yapılan bir çalışmada ise, her üç çeşitte de artan tuz konsantrasyonuyla toplam protein içeriğinin kontrole göre azaldığı kaydedilmiştir (Jamil vd., 2012: 11). Bitkinin türü ve çeşidi, tuz konsantrasyonu ve maruziyet süresi gibi parametrelere bağlı olarak bitkilerde toplam protein içeriği değişkenlik gösterebilmektedir.

Ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği bitkilerinin kontrole göre toplam protein miktarlarının azaldığı ve bu azalışın da 150 mM NaCl'de uygulanan sükroz grubunda ($p<0,001$) 75 mM NaCl'de uygulanan sükroz grubuna ($p<0,01$) kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.17). Öte yandan, 150 mM NaCl konsantrasyonunda ekzojen sükroz uygulanan kanola bitkilerinin toplam protein miktarının kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$), 75 mM NaCl konsantrasyonunda ekzojen sükroz uygulanan kanola bitkilerinin ise toplam protein miktarının kontrole kıyasla önemli bir değişiklik olmasa da çok az bir miktar azaldığı saptanmıştır (Grafik 3.18). Literatürde genellikle ekzojen uygulamaların tuzluluk koşulları altında farklı bitki türlerinde toplam protein miktarını arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Börülce (*Vigna unguiculata* L.) ile yapılan bir çalışmada, tuz stresi altında glisin betain uygulamasının toplam protein içeriğini sadece tuz uygulanan bitkilere göre artırdığı rapor edilmiştir (Manaf, 2016: 45). Çilek ile yapılan bir çalışmada ise, ekzojen trehaloz uygulamasının yalnızca tuz stresi uygulanan örneklerle kıyasla toplam protein içeriğini artırdığı tespit edilmiştir (Samadi vd., 2019: 5). Literatürde birçok araştırmada ifade

edildiğinin aksine, çalışmamızda ayçiçeği ve kanola bitkilerine uygulanan ekzojen sükroz takviyesinin tuzluluk koşullarında bitkilerin toplam protein miktarlarını önemli ölçülerde azalttığı kaydedilmiştir. Ayçiçeğinde ve kanolada 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında toplam protein miktarında oldukça önemli bir azalmaya (her iki bitkide de iki konsantrasyon için sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$) neden olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.17 ve 3.18). Tuz stresi altındaki ayçiçeği ve kanolada ekzojen sükrozun, prolin gibi ozmoprotektan davranış sergileyerek prolin içeriğinin azalmasına ve böylece prolin gibi serbest amino asitlerin üretimini azaltarak toplam protein miktarında azalışa yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Elde ettiğimiz bulgularla oldukça uyumlu çalışmalar da vardır. Örneğin, salatalık ile yapılan bir çalışmada, artan tuz konsantrasyonu ile toplam çözünür protein içeriğinin arttığı, tuz stresi altındaki örneklerle ekzojen glutamik asit uygulamasının ise sadece tuz uygulanan örneklerle göre toplam protein içeriğini azalttığı belirlenmiştir (Iqbal vd., 2021: 414). Başka bir çalışmada da, 100 mM NaCl stresinin şeker kamışında toplam çözünür protein içeriğini kontrole göre artırdığı, ekzojen askorbik asit uygulamasının ise yalnızca tuz stresi uygulanan örneklerle göre toplam çözünür protein içeriğini azalttığı tespit edilmiştir. Ekzojen askorbik asit uygulamasının toplam protein içeriğini arttıramamasının nedeni, belirli protein ve enzimlerdeki değişikliklerin toplam çözünür protein miktarını net olarak yansıtamamasıyla açıklanmıştır (Ejaz vd., 2012: 637).

3.2.6. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Bitkilerin tuzluluğa tolerans yanıtları, antioksidan tepkileriyle ilişkilidir ve genellikle, tuz stresine tolerans gösteren bitki türleri, stres koşulları altında antioksidan enzim aktivitelerini artırıp antioksidan molekülleri biriktirerek kapasitelerini artırmaktadır. Böylece bitkiler, tuzluluğun neden olduğu oksidatif strese karşı kendilerini koruyabilmektedir (Hediye Sekmen vd., 2007: 406). Sükroz gibi çeşitli ekzojen uygulamalar da bitkilerin antioksidan kapasitelerinde artışı indükleyerek tuzluluğa karşı tolerans geliştirilmesine katkı sağlamaktadır (Xu vd., 2013: 220).

Tuz stresinin konsantrasyonu ve maruziyet süresi, bitki türü ve çeşidi gibi faktörlere bağlı olarak tuzluluk, bitkilerin antioksidan enzimleri üzerinde farklı etkiler oluşturabilmektedir. Fasulye ile yapılan bir çalışmada, artan tuz konsantrasyonu ile yaprak ve köklerdeki SOD, CAT ve APX aktivitesinin kontrole göre arttığı belirlenmiştir (Farhangi-Abri ve Torabian, 2017: 68). Marul ile yapılan bir çalışmada, 100 mM tuz

konsantrasyonunun kontrole göre SOD aktivitesini değiştirmediği, CAT aktivitesini artırdiği, POD aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir (Zhang vd., 2021: 10). Domates ile yapılan bir çalışmada ise, tuz stresinin SOD ve CAT aktivitelerini kontrole göre azalttığı, APX aktivitesini ise kontrole göre biraz artırdiği rapor edilmiştir (Al-aghabary vd., 2005: 2109). Çalışmamızda 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarına maruz bırakılan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin SOD aktivitelerinde artan konsantrasyonla birlikte (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$) kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.19 ve 3.20). İki farklı tuz konsantrasyonunda ayçiçeği ve kanola bitkilerine ait CAT aktivitesinin ise kontrole göre önemli derecede azaldığı (75 mM NaCl konsantrasyonunda ayçiçeği için $p<0,01$ iken kanola için $p<0,001$; 150 mM NaCl konsantrasyonunda her iki bitki için $p<0,01$) görülmüştür (Grafik 3.21 ve 3.22). Tuz stresine maruz bırakılan ayçiçeği bitkilerinin 75 mM NaCl konsantrasyonundaki APX aktivitesinin kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir şekilde azaldığı, 150 mM NaCl konsantrasyonundaki APX aktivitesinin ise kontrole göre önemli derecede azaldığı kaydedilmiştir ($p<0,05$) (Grafik 3.23). Öte yandan kanola örneklerinde her iki tuz konsantrasyonunda APX aktivitesinin kontrole göre anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.24). Tuz stresi altında ayçiçeği ve kanolada SOD aktivitesi kontrole göre artarken, CAT ve APX aktivitelerinde artış gözlenmemiştir. Bu durum, her iki bitkide de tuz stresi altında SOD enziminin, ROS detoksifikasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. SOD enzimi, efektif bir şekilde süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştürebilmektedir. SOD aktivitesi sonucunda oluşan hidrojen peroksit, kloroplastlar, nükleik asitler ve proteinler için oldukça zararlı olup CAT ve APX gibi H_2O_2 detoksifiye edici enzimler tarafından elimine edilmelidir. Fakat hidrojen peroksidi detoksifiye eden CAT ve APX enzimlerinin aktivitelerinde beklenen artışın gerçekleşmemesi sonucu, ayçiçeği ve kanolada tuz stresinin neden olduğu hidrojen peroksit tamamen detoksifiye edilemeyerek birikimi meydana gelebilmekte ve bu durum da tuz stresi altında artan MDA içeriğiyle sonuçlanmaktadır (Oueslati vd., 2010: 294). Tuza toleranslı *Plantago maritima* ve tuza duyarlı *Plantago media* ile yapılan bir çalışmada, 100 mM tuz konsantrasyonunun *P.maritima* bitkisinde SOD aktivitesini kontrole göre artırıp CAT ve APX aktivitesini azalttığı, *P.media* bitkisinde SOD ve CAT aktivitesini azaltıp APX aktivitesini kontrole göre artırdığı belirlenmiştir. Bunun yanında, 200 mM tuz konsantrasyonunun ise *P.maritima* bitkisinde SOD, CAT ve APX aktivitesini kontrole göre artırdığı, *P.media* bitkisinde SOD ve CAT aktivitesini kontrole kıyasla azaltıp APX aktivitesini değiştirmediği rapor edilmiştir (Hediye Sekmen vd., 2007: 404). Fasulye ile yapılan bir çalışmada, tuz stresinin fasulyenin nodüllerinde SOD ve POX aktivitesini artırıp, CAT ve APX aktivitesini

azalttığı kaydedilmiştir (Jebara vd., 2005: 933). Biri tuza toleranslı diğeri tuza duyarlı olan iki mısır genotipinde yapılan bir çalışmada, tuz stresinin her iki genotipin yapraklarında da SOD aktivitesini artırdığı ve köklerinde SOD aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Tuza toleranslı genotipin yapraklarındaki SOD aktivitesi artışının ve tuza duyarlı genotipin köklerindeki SOD aktivitesi azalışının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden, tuza toleranslı genotipin daha iyi süperoksit radikali temizleme yeteneğine sahip olduğu öne sürülmüştür. Tuzluluk stresinin, tuza toleranslı genotipin yaprak ve köklerindeki APX ve GPX aktivitesini ya artırdığı ya da etkilemediği, CAT aktivitesini ise yapraklarda etkilemeyip köklerde azalttığı tespit edilmiştir. Tuza duyarlı mısır genotipinde ise, tuz stresi altında APX ve GPX aktivitesinin köklerde azaldığı, CAT aktivitesinin ise hem yaprak hem de köklerde azaldığı rapor edilmiştir (de Azevedo Neto vd., 2006: 93). Tuza duyarlı çayır salkım otu (*Poa pratensis* L.) ve orta derecede tuza toleranslı kamışsı yumak (*Festuca arundinacea* Schreb.) ile yapılan bir çalışmada, tuz stresi altında her iki bitkinin de sürgünlerinde genel olarak SOD aktivitesinin kontrole göre arttığı, CAT aktivitesinin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. APX aktivitesinin ise kamışsı yumakta değişmediği, çayır salkım otunda artan tuz konsantrasyonu ile kontrole göre azaldığı kaydedilmiştir (Xu vd., 2013: 218).

Çalışmamızda ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin SOD aktivitesinin kontrole göre arttığı ($p<0,01$) görülmüş, fakat iki farklı tuz konsantrasyonunda uygulanan ekzojen sükroz gruplarının SOD aktiviteleri arasında önemli bir farka rastlanmamıştır (Grafik 3.19). Ekzojen sükroz uygulanan kanola örneklerinin SOD aktivitesinin de kontrole göre arttığı belirlenmiş ve 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubuna ait SOD aktivitesinin ($p<0,0001$) 150 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubundan ($p<0,001$) daha fazla arttığı gözlenmiştir (Grafik 3.20). Ayçiçeğinin CAT aktivitesine bakıldığında, 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubuna ait CAT aktivitesinin kontrole göre azaldığı ($p<0,05$), fakat 150 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükroz grubuna ait CAT aktivitesinin ise kontrole göre önemli derecede arttığı ($p<0,001$) gözlenmiştir. 150 mM NaCl+sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin en yüksek CAT aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Grafik 3.21). 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında ekzojen sükroz uygulanan kanola örneklerinin CAT aktivitesinin de kontrole göre anlamlı bir artış gösterdiği (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$), ayçiçeği örneklerinde olduğu gibi en yüksek CAT aktivitesinin 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.22). Ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin APX aktivitelerinin benzerlik gösterdiği, iki bitki türünde de 75 mM NaCl+sükroz uygulamasında

APX aktivitesinin kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı ($p<0,001$) saptanmıştır. 150 mM NaCl+sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola örneklerine ait APX aktivitesinin de kontrole göre arttığı (kanola için $p<0,05$) belirlenmiştir. Her iki bitkide en yüksek APX aktivitesinin ise 75 mM NaCl+sükroz gruplarına ait olduğu kaydedilmiştir (Grafik 3.23 ve 3.24).

75 ve 150 mM tuz konsantrasyonlarında ayçiçeği örneklerine uygulanan ekzojen sükroz takviyesinin, sadece tuz uygulanan örneklerle kıyaslandığında SOD aktivitesinde önemli bir düşüşe (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,001$) neden olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.19). Kanolada ise tuz stresi altında 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükrozun SOD aktivitesini artırdığı ($p<0,001$), 150 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan sükrozun ise SOD aktivitesini azalttığı ($p<0,0001$) tespit edilmiştir (Grafik 3.20). Ayçiçeği ve kanolada her iki tuz+sükroz uygulamasının, sadece tuz uygulanan deney grupları ile karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğu belirlenmiştir (ayçiçeği için sırasıyla $p<0,05$; $p<0,001$; kanola için $p<0,0001$) (Grafik 3.21 ve 3.22). Her iki tuz konsantrasyonunda da ayçiçeği ve kanola bitkilerine verilen sükrozun tuz stresi altında APX aktivitesini arttırdığı, fakat bu artışın 75 mM NaCl+sükroz grubunda ($p<0,001$) daha fazla oranda olduğu kaydedilmiştir (150 mM NaCl+sükroz grubunda ayçiçeği için $p<0,01$; kanola için $p<0,05$) (Grafik 3.23 ve 3.24). Yalnızca tuz stresine maruz bırakılan ayçiçeği ve kanolada, SOD aktivitesinin artması, CAT ve APX aktivitelerinin ise artmamış olması, ROS detoksifikasyonunun etkin bir şekilde yapılamamasıyla sonuçlanabilir. Tuz stresi altında MDA içeriğindeki artışlar da bu ifadeyi destekler niteliktedir. Tuz stresi altında ekzojen sükroz uygulaması ise, yalnızca tuz stresi uygulanan örneklere göre genel olarak SOD aktivitesini azaltmış olsa da CAT ve APX aktivitelerinde artışa yol açmıştır. Antioksidan savunma sisteminin birkaç bileşeninin aktivasyonu sayesinde bitkilerde stres toleransının geliştirilmesi sağlanabilmektedir. Ekzojen sükroz uygulamasının MDA içeriğini azaltması, ROS detoksifikasyonunun daha etkin bir şekilde yapılabildiğini göstermekte ve CAT ile APX enzimlerinin tuzluluğa toleransta kritik bir rol oynadığını düşündürmektedir (Hoque vd., 2007: 558). Literatürde farklı sonuçların elde edildiği araştırmalar bulunmaktadır. Tütüne ait süspansiyon kültür hücreleriyle yapılan bir çalışmada, tuz stresi altında ekzojen prolin uygulamasının, yalnızca tuz stresine maruz bırakılan örneklere göre SOD aktivitesini değiştirmede, CAT ve POD aktivitesini ciddi oranda artırdığı belirlenmiştir. Tuz stresi altında uygulanan ekzojen betainin ise, sadece tuz stresine maruz bırakılan örneklere kıyasla SOD ve POD aktivitesini önemli derecede değiştirmeyip CAT aktivitesini anlamlı oranda artırdığı tespit edilmiştir. Prolinin ve betainin, antioksidan enzimlerin aktivitelerini yukarı

regüle ederek ROS'u temizlediği ve böylece tuz stresinin sebep olduğu zararlı etkileri azalttığı sonucuna varılmıştır (Hoque vd., 2007: 557). *Arabidopsis* fideleriyle yapılan bir çalışmada, 250 mM NaCl konsantrasyonunun SOD ve POD aktivitesini kontrole göre artırdığı, CAT ve APX aktivitesini kontrole göre azalttığı belirlenmiştir. Tuz stresi altında 1 mM ekzojen trehaloz uygulamasının, sadece tuz stresi uygulanan örneklerle göre SOD ve POD aktivitesini artırdığı, CAT aktivitesini biraz artırdığı ve APX aktivitesini azalttığı saptanmıştır. Tuz stresi altında 1 mM ekzojen sükroz takviyesinin ise yalnızca tuz stresi uygulanan örneklerle kıyasla SOD ve APX aktivitesini artırdığı, CAT aktivitesini biraz artırdığı ve POD aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Yang vd., 2014: 9). Bakla (*Vicia faba*) ile yapılan bir çalışmada da, tuz stresi altında ekzojen askorbik asit uygulamasının sadece tuz stresi uygulanan gruplara göre SOD, CAT, APX ve GR aktivitelerini genel olarak artırdığı kaydedilmiştir (Younis vd., 2010: 46). Soya fasulyesi ile yapılan bir çalışmada ise, 150 mM tuz stresi altında ekzojen glisin betain uygulamasının sadece tuz stresi uygulanan örneklerle göre SOD, CAT ve APX aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Ekzojen glisin betain takviyesinin, soya fasulyesinde enzim aktivitesini artırarak tuz toleransını geliştirebileceği ifade edilmiştir (Malekzadeh, 2015: 228).

3.2.7. Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerinde Tuz ve Ekzojen Sükroz Uygulamasının *P5CS*, *SOD*, *CAT* ve *APX* Gen İfadeleri Üzerine Etkileri

Stres durumunda seviyeleri artan ROS ile başa çıkmak ve redoks homeostazını sürdürmek amacıyla bitkiler etkin bir antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir. Bu savunma sürecinde antioksidanların yanı sıra antioksidanları kodlayan genlerin mRNA seviyesinde düzenlenmesi de, ROS detoksifikasyonunda göz ardı edilemeyecek temel bir husus olarak öne çıkmaktadır (Menezes-Benavente vd., 2004: 324).

Tuz stresi, ayçiçeği ve kanola bitkilerinin *P5CS* gen ifadeleri üzerinde benzer etki oluşturmuş; her iki tuz konsantrasyonunda da *P5CS* gen ifadesinin kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak ayçiçeği ve kanola bitkilerinin *P5CS* gen ifadesinin daha fazla artış gösterdiği (75 mM NaCl'de ayçiçeği için $p<0,0001$; kanola için $p<0,01$; 150 mM NaCl'de her iki bitki için $p<0,0001$) tespit edilmiştir (Grafik 3.25 ve 3.26). Ayçiçeğinde 75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında *SOD-Mn* gen ifadesinin kontrole göre arttığı ($p<0,0001$), 75 mM NaCl örneklerinde *SOD-Mn* gen ifadesinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.27). Kanolada da her iki tuz konsantrasyonunda *SOD-Mn* gen ifadesinin kontrole göre arttığı (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,001$) ve tuz konsantrasyonu artışına paralel olarak *SOD-Mn* gen ifadesindeki artışın da daha fazla olduğu

tespit edilmiştir (Grafik 3.28). Ayçiçeği örneklerinin *CAT* gen ifadesinde her iki tuz konsantrasyonunda kontrole göre önemli bir değişiklik olmasa da, *CAT* gen ifadesinin 75 mM NaCl örneklerinde daha yüksek olduğu görülmüştür (Grafik 3.29). Kanola örneklerinde 75 mM NaCl konsantrasyonunda *CAT* gen ifadesinin kontrole kıyasla önemli derecede arttığı ($p<0,001$), 150 mM NaCl konsantrasyonunda ise önemli ölçüde değişmediği belirlenmiştir (Grafik 3.30). Ayçiçeğinde 75 mM NaCl konsantrasyonunda *APX* gen ifadesinin kontrole göre önemli bir değişiklik göstermediği, 150 mM NaCl konsantrasyonundaki *APX* gen ifadesinin ise kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,01$) tespit edilmiştir (Grafik 3.31). Her iki tuz konsantrasyonunda kanola örneklerinin *APX* gen ifadesinde de kontrole göre önemli bir artış gözlenmiş olup, 75 mM NaCl konsantrasyonunda *APX* gen ifadesinin ($p<0,0001$) 150 mM NaCl konsantrasyonundaki *APX* gen ifadesinden ($p<0,01$) çok daha fazla oranda arttığı kaydedilmiştir (Grafik 3.32). Kanola ile yapılan bir çalışmada, 150 mM tuz stresinin *CuZnSOD2*, *CAT1* ve *APX* gen ekspresyonlarını kontrole göre artırdığı bildirilmiştir (ElSayed vd., 2022: 3681). Pirinç ile yapılan bir çalışmada, 130 mM NaCl stresinin *Mn-SOD*, sitozolik *APX*, stromal *APX*, *CatB* ve *P5CS* gen ekspresyonlarını kontrole göre artırdığı, tilakoide bağlı *APX*, *CatA* ve *CatC* gen ekspresyonlarını kontrole kıyasla azalttığı rapor edilmiştir (Kim vd., 2007: 49). Biri tuza toleranslı diğeri tuza duyarlı olan iki pirinç genotipiyle yapılan bir çalışmada, tuz stresi altında toleranslı genotipte *OsSOD3Cu/Zn*, *OsSODA1-Mn*, *OsCATA*, *OsCATB* ve *OsAPX2* genlerinin ekspresyonlarının, duyarlı genotipte ise *OsSOD4-Cu/Zn*, *OsSOD3-Cu/Zn*, *OsSOD-Fe*, *OsSODCc1-Cu/Zn*, *OsCATA*, *OsCATC*, *OsAPX2* ve *OsAPX3* genlerinin ekspresyonlarının pozitif olarak düzenlendiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, her iki pirinç genotipinde de tuz stresi altında transkript miktarındaki artışın SOD aktivitesinde artışa neden olduğu, ancak *CAT* ve *APX* aktivitesinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Vighi vd., 2017: 548). Pirinç ile yapılan bir diğer çalışmada ise, farklı sürelerde uygulanan 136 mM NaCl stresinin *OsSOD4-Cu/Zn*, *OsSOD3-CU/Zn*, *OsSOD2-Cu/Zn*, *OsSOD-Cu/Zn* ve *OsSODCc1-Cu/Zn* gen ifadelerini kontrole göre artırdığı belirlenmiş ve bu genlerin SOD aktivitesinin artmasına katkıda bulunmuş olabileceği ifade edilmiştir. Tuzluluk koşullarında *OsAPX1*, *OsAPX2*, *OsAPX3*, *OsAPX4*, *OsAPX5*, *OsAPX7* ve *OsAPX8* gen ifadelerinin genel olarak kontrole göre arttığı, *OsAPX6* gen ifadesinin ise değişmediği tespit edilmiştir. Tuz stresi koşullarında *OsCATA*, *OsCATB* ve *OsCATC* gen ifadelerinin ise kontrole göre arttığı gözlenmiştir (Rossatto vd., 2017: 871). Tütün ile yapılan bir çalışmada, 150 mM NaCl stresinin yaprak ve kök prolin içeriğini ve yapraklardaki *P5CS* gen ifadesini kontrole göre artırdığı belirlenmiştir. Bunun yanında, *P5CS* geninin tuz stresiyle indüklenebildiği ve tuz stresine maruz kalan bitkilerde prolin birikimini

düzenlediği ifade edilmiştir (Razavizadeh vd., 2009: 1654). Bir kaktüs çeşidiyle (*Opuntia streptacantha*) yapılan çalışmada da, farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 250 ve 350 mM NaCl) 9 ve 11 günlük uygulanan tuz stresinin, *Osp5cs* gen ekspresyonunu kontrole göre artırdığı tespit edilmiştir (Silva-Ortega vd., 2008: 87).

Ayçiçeği ve kanola örneklerinde her iki NaCl+sükroz uygulamasında konsantrasyon artışına paralel olarak *P5CS* gen ifadesinin kontrole göre arttığı (ayçiçeği için sırasıyla $p<0,05$; $p<0,0001$; kanola için $p<0,0001$) gözlenmiştir (Grafik 3.25 ve 3.26). Tuzluluk koşullarında ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin *SOD-Mn* ifadelerinin kontrole göre arttığı gözlenmiştir. Ayçiçeğinde 75 mM NaCl konsantrasyonunda uygulanan ekzojen sükroz grubunun *SOD-Mn* gen ifadesi ($p<0,0001$) 150 mM NaCl'de uygulanan ekzojen sükroz grubuna ($p<0,001$) kıyasla daha fazla artarken, kanolada ise tuz konsantrasyonunun artmasıyla sükroz gruplarının *SOD-Mn* gen ifadesinin (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$) daha yüksek oranda artış gösterdiği kaydedilmiştir (Grafik 3.27 ve 3.28). Çalışmanın en dikkat çeken sonuçlarından biri de her iki bitki türünde *CAT* gen ifadesinde tespit edilmiştir Ayçiçeğinde 75 mM NaCl'de uygulanan ekzojen sükroz grubunda *CAT* gen ifadesi kontrole göre önemli bir değişiklik göstermezken, kanolada bu gruba ait *CAT* gen ifadesinin önemli derecede artış gösterdiği ($p<0,01$) belirlenmiştir. Ayçiçeği ve kanola bitkilerinin 150 mM NaCl+sükroz gruplarına ait *CAT* gen ifadelerinin de kontrole göre çok fazla bir oranda arttığı ($p<0,0001$) saptanmıştır (Grafik 3.29 ve 3.30). Her iki tuz konsantrasyonunda ekzojen sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinin *APX* gen ifadesinin, kontrole göre dikkate değer bir şekilde arttığı ($p<0,0001$) ve bu artışın 150 mM NaCl+sükroz uygulamasında çok daha fazla olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.31). Kanolada ise 75 mM NaCl+sükroz örneklerinde *APX* gen ifadesinin kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdiği ($p<0,01$), 150 mM NaCl+sükroz örneklerinin *APX* gen ifadesinde ise kontrole kıyasla önemli ölçüde bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (Grafik 3.32).

75 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan sükrozun yalnızca tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında ayçiçeğinde *P5CS* ($p<0,0001$) ve *SOD-Mn* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,001$) gen ifadelerinde önemli bir azalışa, kanolada ise *P5CS* ($p<0,0001$) ve *SOD-Mn* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,05$) gen ifadelerinde önemli bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.25, 3.26, 3.27 ve 3.28). Ekzojen sükroz takviyesinin, tuzluluk koşullarında ayçiçeği ve kanola bitkilerinin *CAT* gen ifadeleri üzerinde ise benzer bir etki oluşturduğu gözlenmiştir. Her iki bitkide de tuz stresi altında 75 mM NaCl+sükroz uygulaması *CAT* gen ifadesini azaltırken (kanola için $p<0,05$), 150 mM NaCl+sükroz uygulaması *CAT* gen ifadesini oldukça

ciddi bir şekilde artırmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.29 ve 3.30). 75 mM ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında uygulanan ekzojen sükroz takviyesinin, tuz uygulanan gruplarla kıyaslandığında iki bitkinin *APX* gen ifadeleri üzerinde ters etkiye neden olduğu anlaşılmış ve ayçiçeğinde *APX* gen ifadesini önemli derecede artırırken (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,0001$), kanolada *APX* gen ifadesini önemli ölçüde azalttığı (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,01$) saptanmıştır (Grafik 3.31 ve 3.32). Bir pirinç çeşidiyle yapılan bir çalışmada, 100 mM tuz stresi altında ekzojen brassinostreoid uygulamasının sadece tuz stresi uygulanan örneklerle göre *Cu/Zn-SOD*, *APX*, *CAT* ve *GR* gen ifadelerini artırdığı, *Fe-SOD* ve *Mn-SOD* gen ifadelerini ise azalttığı belirlenmiştir (Sharma vd., 2013: 21). Pirinç ile yapılan bir diğer çalışmada, 6 gün için 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan bitkilere ekzojen trehaloz uygulamasının yalnızca tuz stresi uygulanan örneklerle göre *Cu/ZnSOD*, *CytAPX* ve *P5CR* gen ifadelerini artırdığı, *MnSOD*, *CatC* ve *P5CS* gen ifadelerini değiştirmediği gözlenmiştir. 6 günlük 100 mM tuz stresi altında ekzojen prolin uygulamasının ise, sadece tuz stresine maruz bırakılan örneklerle göre *Cu/ZnSOD*, *P5CS* ve *P5CR* gen ifadelerini artırdığı, *MnSOD* ve *CytAPX* gen ifadelerini azalttığı, *CatC* gen ifadesini ise değiştirmediği rapor edilmiştir (Nounjan vd., 2012: 599-601). Buğday ile yapılan bir çalışmada, tuzluluk koşullarında uygulanan ekzojen jasmonik asidin, sadece tuz stresine maruz bırakılan örneklerle kıyasla *SOD*, *CAT*, *POD* ve *APX* gen ekspresyonlarını artırdığı tespit edilmiştir (Qiu vd., 2014a: 206). Domates ile yapılan bir çalışmada, 5 günlük 150 mM NaCl stresine maruz bırakılan örneklerle ekzojen 10 mM trehaloz takviyesinin, sadece tuz stresine maruz bırakılan örneklerle göre *SlCu/Zn-SOD*, *SlFe-SOD*, *SlMn-SOD*, *SlPOD* ve *SlCAT* gen ekspresyonlarını artırdığı kaydedilmiştir (Yang vd., 2022: 11). İngiliz çimi (*Lolium perenne* L.) ile yapılan bir çalışmada, 250 mM NaCl stresi altında 0,25 mM ekzojen salisik asit uygulamasının sadece tuz stresi uygulanan örneklerle göre *CytCu/ZnSOD*, *FeSOD*, *CAT* ve *APX* gen ekspresyonlarını artırdığı, *MnSOD* gen ekspresyonunu azalttığı, *ChlCu/ZnSOD* gen ekspresyonunu ise değiştirmediği gözlenmiştir (Wang vd., 2022: 9-10). Yonca ile yapılan bir çalışmada, 15 gün için 200 mM tuz stresine maruz bırakılan bitkilere önceden uygulanan ekzojen melatoninin hem kontrole hem de yalnızca tuz stresine maruz bırakılan örneklerle göre *Cu/Zn-SOD*, *CAT* ve *APX* gen ifadelerini artırdığı belirlenmiştir (Cen vd., 2020: 10).

Çalışmamızda antioksidanların transkript seviyelerinin ve aktivitelerinin bazı istisinalar dışında çoğunlukla uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Ayrıca literatürde yer alan bazı sonuçlara göre gen ekspresyonu ile enzim aktivitesi arasında korelasyon bulunmaması da beklenebilen bir durumdur. Çünkü gen ekspresyonu bir gen ailesinin

yalnızca bir izoenzimiyle nitelendirilirken, enzim aktiviteleri genel olarak böyle bir ailenin eksprese edilen tüm üyelerini içermektedir. Bunun yanında, enzim aktiviteleri bir dizi geri bildirim düzenlemesinden de etkilenebildiği için gen ifadeleri ile aktiviteler arasında iyi bir korelasyona rastlanmayabilir (Qiu vd., 2014a: 208). Örneğin kanolada 150 mM NaCl stresinde ekzojen sükroz uygulamasının sadece 150 mM NaCl stresi uygulanan örneklerle göre SOD aktivitesini azalttığı, *SOD-Mn* gen ifadesini ise artırdığı görülmüştür. Antioksidan gen ifadesinde görülen artışın aynı antioksidanın aktivitesinde görülmemesi, sentezi gerçekleşen antioksidan mRNA transkriptlerinin tamamının translasyonla proteine çevrilmemiş olmasından kaynaklanabilir. Tam tersi olarak, kanolada 75 mM NaCl stresi altında ekzojen sükroz takviyesinin sadece 75 mM tuz stresi uygulanan örneklerle göre CAT aktivitesini artırdığı ama *CAT* gen ifadesini azalttığı gözlenmiştir. Antioksidan aktivitesinde görülen artışın aynı antioksidanın gen ifadesinde görülmemesi ise antioksidan aktivitesinin, transkripsiyonel modülasyon yerine antioksidan proteinlerinin, substrat bağlanmasının ve devir (turnover) kinetiklerinin modülasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Wu ve Lee, 2008: 358).

3.3. Öneriler

Toprak tuzluluğu, başlı başına bir abiyotik stres olmakla birlikte küresel ısınmanın neden olduğu sekonder etkiler arasında da yer almaktadır. Tuzluluk stresi ile birlikte oluşan ozmotik, iyonik ve oksidatif stresler, bitkilerde büyüme, gelişme, fotosentez, protein ve lipid metabolizması gibi önemli süreçlerde bazı olumsuzlukları beraberinde getirmektedir. Bitkiler bu zararlı etkileri hafifletip strese adapte olmak ve yaşamlarını sürdürebilmek amacıyla çeşitli ekolojik, fizyolojik ve moleküler mekanizmalar geliştirmişlerdir. Ozmoprotektanlar, ekstrem ekolojik koşullarda bitkiler tarafından salgılanan ve bitkilerin yaşamlarını devam ettirebilmelerine olanak sağlayan, düşük moleküler ağırlığa sahip, toksik özellik göstermeyen bileşiklerdir. Ozmoprotektanlardan olan şekerler de, homeostazın sağlanmasında, hücrel organizasyonların sürdürülmesinde, fotosentezin optimum şekilde meydana gelmesinde ve stres koşullarında reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda önemli bir rol üstlenmektedir. Şekerlerin düşük konsantrasyonlarda ekzojen uygulamaları ise, bitkilerde tuza toleransın geliştirilmesi veya artırılmasında büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda, iki farklı konsantrasyonda tuzun (75 ve 150 mM NaCl) ve bu konsantrasyonlarla birlikte uygulanan %3'lük ekzojen sükrozun ayçiçeği ve kanola bitkilerinde ekolojik büyüme parametreleri, prolin içerikleri, antioksidan enzim aktiviteleri ve gen ifade seviyeleri üzerindeki etkileri incelenerek belirlenmiştir. Literatürdeki birçok

çalışmada olduğu gibi iki farklı tuz konsantrasyonu uygulanan ayçiçeği ve kanola bitkilerinin de morfolojik özelliklerinde olumsuz etkiler görüldüğü; gövde ve kök uzunluklarının kontrole göre azaldığı kaydedilmiştir. Ayrıca, gövde ve köklere ait yaş ve kuru ağırlıkların da kontrole göre düştüğü tespit edilmiştir. Tuzla birlikte ekzojen sükroz uygulamasının ise, tuz stresi altında bitkilerin büyüme parametrelerini çoğunlukla olumlu şekilde etkilediği gözlenmiştir. Ayçiçeği ve kanolada, artan tuz konsantrasyonu ile klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarının kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Klorofil miktarlarındaki bu azalma, tuz stresi altında klorofil pigmentlerinin yıkımı, klorofil sentezinin azalması ve pigment protein kompleksinin kararsızlığından kaynaklanabilmektedir. Tuz stresi altında ekzojen sükroz uygulamasının, sadece tuz stresi uygulanan örnekler ile karşılaştırıldığında genel olarak klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil miktarlarını artırarak iyileştirici bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. İki farklı konsantrasyonda uygulanan tuz stresinin, ayçiçeği ve kanola bitkilerinin MDA içeriklerini kontrole göre artırdığı, tuz stresi altında ekzojen sükroz takviyesinin ise yalnızca tuz stresi uygulanan örnekler ile karşılaştırıldığında MDA içeriklerini azalttığı belirlenmiştir. Tuzluluk koşullarında uygulanan ekzojen sükrozun, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak MDA içeriğini azalttığı ve membran hasarına karşı koruyucu bir etki oluşturduğu gözlenmiştir.

Tuz stresinin, ayçiçeği ve kanolada prolin içeriğini kontrole göre artırdığı saptanmıştır. Tuzluluk koşullarında genellikle prolin birikimi tetiklenmektedir ve bu durum düşük antioksidan enzim aktivitesinden kaynaklı olabilmektedir. Tuz stresi altında ekzojen sükroz takviyesinin ise sadece tuz stresi uygulanan örnekler ile karşılaştırıldığında prolin içeriğini azalttığı belirlenmiştir. Ekzojen sükroz takviyesinin prolin içeriğini azaltması, sükrozun ozmoprotektif etki göstererek ayçiçeği ve kanolada tuz stresi altında prolin gibi diğer ozmolitleri biriktirme ihtiyacını azaltmasıyla açıklanabilir.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan tuz stresinin, ayçiçeği ve kanolada toplam protein miktarını artıran tuz konsantrasyonu ile birlikte kontrole göre artırdığı tespit edilmiştir. Tuzluluk koşullarında toplam protein miktarındaki artış, strese duyarlı proteinlerin senteziyle ya da tuzluluğun inorganik nitrojenin proteine fiksasyonunu teşvikleyip protein sentezini desteklemesiyle açıklanabilir. Tuzluluk koşullarında ekzojen sükroz uygulamasının, sadece tuz stresi uygulanan örnekler ile karşılaştırıldığında toplam protein miktarını azalttığı gözlenmiştir. Bu durum, ekzojen sükrozun proline benzer ozmoprotektif etki göstererek prolin içeriğinde azalışa ve böylece prolin gibi serbest aminoasitlerin üretimini azaltarak toplam protein miktarında düşüşe yol açmasıyla açıklanabilir.

Tuz stresinin ayçiçeği ve kanolada kontrole göre SOD aktivitesini artırdığı, CAT aktivitesini azalttığı ve APX aktivitesini genel olarak değıştirmedeği belirlenmiştir. Tuzluluk koşullarında SOD aktivitesinin artıp CAT ve APX aktivitesinin artmaması, SOD aktivitesi sonucunda oluşan ve hücrel bileşenler için zararlı olan hidrojen peroksidin CAT ve APX gibi hidrojen peroksit detoksifiye eden enzimler tarafından tamamen elimine edilememesine ve birikmesine yol açmaktadır. Tuz stresi altında ekzojen sükroz uygulamasının ise, SOD aktivitesini azaltırken (kanolada 75 mM NaCl+sükroz uygulaması hariç), CAT ve APX aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir. Tuz+sükroz uygulanan örneklerde MDA içeriğinin azalması, CAT ve APX aktivitesindeki bu artışın ROS detoksifikasyonunda yeterli olabileceğini göstermektedir.

Ayçiçeği ve kanolada antioksidanların transkript seviyelerinin ve aktivitelerinin çoğunlukla uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir, fakat gen ekspresyonu ile enzim aktivitesinin korelasyon içinde olmadığı durumlar da söz konusudur. Enzim aktivitesi ile gen ifadesi arasındaki bu uyumsuzluk, mRNA transkriptlerinin kısmen translayonel inhibisyonu veya bazı transkripsiyonel olmayan modülasyonlardan kaynaklanabilmektedir. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan tuz stresinin, iki bitkide genellikle kontrole göre *P5CS*, *SOD-Mn* ve *APX* gen ifadelerini artırdığı, *CAT* gen ifadesinde ise anlamlı bir değışikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Tuzluluk koşullarında ekzojen sükroz uygulamasının ise, antioksidan gen ifadelerini ayçiçeğinde farklı şekilde etkilerken, kanolada çoğunlukla artırdığı gözlenmiştir. Genel olarak, sükroz uygulanan ayçiçeği örneklerinde yalnızca tuzla muamele edilen örneklere göre *P5CS* ve *SOD-Mn* gen ifadelerinin azaldığı, *CAT* ve *APX* gen ifadelerinin de arttığı; diğer taraftan kanolada ise sadece tuz uygulanan gruplara kıyasla tuz+sükroz uygulanan grupların *P5CS*, *SOD-Mn* ve *CAT* gen ifadelerinin arttığı, *APX* gen ifadesinin de azaldığı tespit edilmiştir. Özellikle 150 mM NaCl+sükroz gubunun *CAT* mRNA seviyesinin hem ayçiçeği hem de kanolada kontrole ve diğer deney gruplarına göre önemli bir artış göstermesi, çalışmamızın en ilginç sonuçları arasında yer almaktadır.

Nihayetinde, iki bitkinin tuzluluğa gösterdikleri tolerans düzeyleri yakın benzerlik gösterse de ayçiçeğinde büyümeye bağı tuz toleransının nispeten kanoladan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ekzojen sükroz uygulamasının, ayçiçeğinde büyümeye bağı tuz toleransını kanolaya kıyasla daha fazla artırdığı anlaşılmıştır. Ekofizyolojik ve moleküler düzeyde elde ettiğimiz sonuçlar ise, ekzojen sükrozun ayçiçeği ve kanolada tuz stresinin zararlı etkilerini hafiflettiği ve bitkilerde iyileştirici bir etki oluşturduğunu göstermiştir.

Bu araştırmada, tüm dünyada önemli bir ekolojik sorun haline gelen tuz stresinin ve bu stresin etkilerinin azaltılmasında sükrozun rolünün iki önemli endüstri bitkisi olan ayçiçeği ve kanola üzerinde etkileri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Literatürde hem tuz stresinin her iki bitkide birlikte incelendiği bir çalışmaya hem de ayçiçeği ve kanolada ekzojen sükrozun etkilerinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olması, bu araştırmayı özgün ve önemli hale getirmektedir. Tuz stresi altında ayçiçeği ve kanola bitkilerine uygulanan sükroz takviyesinin hem ekofizyolojik hem moleküler seviyede etkilerinin incelendiği bu çalışmamız, literatüre oldukça önemli katkılar sağlayarak tuza duyarlı türlerin tolerans geliştirmesini amaçlayan çalışmalara öncülük edecektir. Bitkilerin tuz stresine karşı geliştirdiği tolerans mekanizmasının şimdiye dek tam olarak anlaşılamamış olması, strese rağmen bitkilerin yaşamlarının iyileştirilmesine yönelik yöntemlerin araştırılmasına ve geliştirilmesine halen ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Sükroz takviyesinin, bitkilerin tuz stresinin olumsuz etkilerinin üstesinden gelme yeteneklerinin artmasında potansiyel bir araç olabileceği düşünülmektedir. Fakat sükrozun, farklı bitki türlerinde tuzluluk ve diğer abiyotik streslerin etkisinin giderilmesinde ve hangi mekanizmayla bu iyileştirmeyi sağladığının anlaşılmasında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın öncülüğünde hem bitkilerin tuzluluğa tolerans mekanizmasının tamamen anlaşılması hem de toleransı artıracak yöntemlerin geliştirilmesi açısından daha fazla araştırma yapılacağı öngörülmektedir. Elde edilen bilgilerle, tuza duyarlı türlerin tolerans geliştirmesini/artırmasını hedefleyen çalışmaların artacağı, tarımda tuzluluğun yol açtığı verim kayıplarının ve ürün kalitesindeki azalmanın önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdallah, M. S., Abdelgawad, Z. A., & El-Bassiouny, H. M. S.** (2016). Alleviation of the adverse effects of salinity stress using trehalose in two rice varieties. *South African Journal of Botany*, 103, 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.019>
- Abdel-Farid, I. B., Marghany, M. R., Rowezek, M. M., & Sheded, M. G.** (2020). Effect of Salinity Stress on Growth and Metabolomic Profiling of *Cucumis sativus* and *Solanum lycopersicum*. *Plants*, 9(11), 1626. <https://doi.org/10.3390/plants9111626>
- Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J., & Hernandez, J. A.** (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7(1), 18. <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>
- Aebi, H.** (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmad, F., Singh, A., & Kamal, A.** (2020). Osmoprotective role of sugar in mitigating abiotic stress in plants. *Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress: Biochemical and Molecular Perspectives*, 53-70. <https://doi.org/10.1002/9781119552154.ch3>
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Azooz, M. M., & Nabi, G.** (2009). Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International*, 2(1), 11-20.
- Ahmad, P., Sarwat, M., & Sharma, S.** (2008). Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology*, 51, 167-173. <https://doi.org/10.1007/BF03030694>
- Ahmad, R., Hussain, S., Anjum, M. A., Khalid, M. F., Saqib, M., Zakir, I., ... & Ahmad, S.** (2019). Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in plants under salt stress. *Plant Abiotic Stress Tolerance: Agronomic, Molecular and Biotechnological Approaches*, 191-205. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_8
- Al-aghabary, K., Zhu, Z., & Shi, Q.** (2005). Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27(12), 2101-2115. <https://doi.org/10.1081/PLN-200034641>
- Alhasnawi, A. N., Zain, C. R. C. M., Kadhimi, A. A., Isahakb, A., Mohamad, A., Ashraf, M. F., & Yusoff, W. M. W.** (2016). Applications of polysaccharides (β -glucan) for physiological and biochemical parameters for evaluation rice tolerance under salinity stress at seedling stage. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 19, 353-362. <https://doi.org/10.1007/s12892-016-0009-4>

- Alici, E. H., & Arabaci, G.** (2016). Determination of SOD, POD, PPO and cat enzyme activities in *Rumex obtusifolius* L. *Annual Research & Review in Biology*, 1-7. DOI: 10.9734/ARRB/2016/29809
- Almeida, D. M., Oliveira, M. M., & Saibo, N. J.** (2017). Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genetics and Molecular Biology*, 40, 326-345. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0106
- Al-Mushhin, A. A., Qari, S. H., Fakhr, M. A., Alnusairi, G. S., Alnusaire, T. S., ALrashidi, A. A., ... & Soliman, M. H.** (2021). Exogenous Myo-Inositol Alleviates Salt Stress by Enhancing Antioxidants and Membrane Stability via the Upregulation of Stress Responsive Genes in *Chenopodium quinoa* L. *Plants*, 10(11), 2416. <https://doi.org/10.3390/plants10112416>
- Amirjani, M. R.** (2010). Effect of salinity stress on growth, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *American Journal of Plant Physiology*, 5(6), 350-360.
- Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., ... & Tuteja, N.** (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants. *Environmental Science and Pollution research*, 23, 19002-19029. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7309-6>
- Apse, M. P., & Blumwald, E.** (2007). Na⁺ transport in plants. *FEBS Letters*, 581(12), 2247-2254. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.014>
- Aransiola, E. F., Ehinmitola, E. O., Adebimpe, A. I., Shittu, T. D., & Solomon, B. O.** (2019). Prospects of biodiesel feedstock as an effective ecofuel source and their challenges. *Advances in Eco-Fuels for a Sustainable Environment*, 53-87.
- Arbona, V., Manzi, M., Zandalinas, S. I., Vives-Peris, V., Pérez-Clemente, R. M., & Gómez-Cadenas, A.** (2017). Physiological, metabolic, and molecular responses of plants to abiotic stress. *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 2*, 1-35.
- Ashraf, M.** (2004). Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 199(5), 361-376. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00165>
- Bano, S., Iqbal, S., Naqvi, B., Abbasi, K., Siddiqui, K., Sattar, H., & Aman, A.** (2021). Antioxidant enzymes and germination pattern: upshot of high salinity on soluble protein and average weight of *Spinacia oleracea* (spinach) seedlings. *Asian Food Science Journal*, 112-122. DOI: 10.9734/AFSJ/2021/v20i330283
- Bassil, E., & Blumwald, E.** (2014). The ins and outs of intracellular ion homeostasis: NHX-type cation/H⁺ transporters. *Current Opinion in Plant Biology*, 22, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.08.002>

- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D.** (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bejaoui, F., Salas, J. J., Nouairi, I., Smaoui, A., Abdelly, C., Martínez-Force, E., & Youssef, N. B.** (2016). Changes in chloroplast lipid contents and chloroplast ultrastructure in *Sulla carnosa* and *Sulla coronaria* leaves under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 198, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.03.018>
- Berwal, M. K., Kumar, R., Prakash, K., Rai, G. K., & Hebbar, K. B.** (2021). Antioxidant defense system in plants against abiotic stress. In *Abiotic Stress Tolerance Mechanisms in Plants* (pp. 175-202). CRC Press.
- Bojórquez-Quintal, J. E., Echevarría-Machado, I., Medina-Lara, F., & Martínez-Estevez, M.** (2012). Plants challenges in a salinized world: the case of Capsicum. *African Journal of Biotechnology*, 11(72), 13614-13626.
- Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Butt, M., Ayyub, C. M., Amjad, M., & Ahmad, R.** (2016). Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(1). DOI: 10.21162/PAKJAS/16.4623
- Cabane, M., Afif, D., & Hawkins, S.** (2012). Lignins and abiotic stresses. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 61, pp. 219-262). Academic Press.
- Carillo, P., Annunziata, M. G., Pontecorvo, G., Fuggi, A., & Woodrow, P.** (2011). Salinity stress and salt tolerance. *Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations*, 1, 21-38. DOI: 10.5772/22331
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., & Margis-Pinheiro, M.** (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 1011-1019. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600016>
- Cen, H., Wang, T., Liu, H., Tian, D., & Zhang, Y.** (2020). Melatonin application improves salt tolerance of alfalfa (*Medicago sativa* L.) by enhancing antioxidant capacity. *Plants*, 9(2), 220. <https://doi.org/10.3390/plants9020220>
- Chakraborty, K., Basak, N., Bhaduri, D., Ray, S., Vijayan, J., Chattopadhyay, K., & Sarkar, R. K.** (2018). Ionic basis of salt tolerance in plants: nutrient homeostasis and oxidative stress tolerance. *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*, 325-362. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_14

- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M. H., & El Ferjani, E.** (1997). Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science*, 127(2), 139-147. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)00115-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00115-5)
- Chaves, M. M., Flexas, J., & Pinheiro, C.** (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4), 551-560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
- Chi, Y. H., Koo, S. S., Oh, H. T., Lee, E. S., Park, J. H., Phan, K. A. T., ... & Lee, S. Y.** (2019). The physiological functions of universal stress proteins and their molecular mechanism to protect plants from environmental stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 750.
- Ciereszko, I.** (2009). Sucrose metabolism in plant tissues under stress conditions: key enzymes, localization and function. *Compartmentation of Responses to Stresses in Higher Plants, True or False. Kerala: Transworld Research Network*, 193-218.
- Ciereszko, I.** (2018). Regulatory roles of sugars in plant growth and development. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 87(2). DOI: 10.5586/asbp.3583
- C Nikalje, G., D Nikam, T., & Suprasanna, P.** (2017). Looking at halophytic adaptation to high salinity through genomics landscape. *Current Genomics*, 18(6), 542-552. <https://doi.org/10.2174/1389202918666170228143007>
- Cornacchione, M. V., & Suarez, D. L.** (2017). Evaluation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations' response to salinity stress. *Crop Science*, 57(1), 137-150. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.05.0371>
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., & Shinozaki, K.** (2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11(1), 1-14.
- Çamlica, M., & Yaldız, G.** (2017). Effect of salt stress on seed germination, shoot and root length in basil (*Ocimum basilicum*). *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3, Special Issue 1), 69-76. <https://doi.org/10.21448/ijsm.356250>
- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F., & Khan, F. A.** (2016). Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*, 155-166. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1_9
- Das, K., & Roychoudhury, A.** (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
- de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C. E. B., & Gomes-Filho, E.** (2006). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.008>

de Oliveira, A. B., Alencar, N. L. M., & Gomes-Filho, E. (2013). Comparison between the water and salt stress effects on plant growth and development. *Responses of Organisms to Water Stress*, 4, 67-94.

Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212-228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>

DOĞRU, A. (2020). Kolza bitkisine (*Brassica napus* L.) genel bir bakış. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 2(2), 31-37.

Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., & Jaćević, V. (2021). The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. *Frontiers in Plant Science*, 11, 552969. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.552969>

Dvořák, P., Krasylenko, Y., Zeiner, A., Šamaj, J., & Takáč, T. (2021). Signaling toward reactive oxygen species-scavenging enzymes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 2178. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.618835>

Ejaz, B., Sajid, Z. A., & Aftab, F. (2012). Effect of exogenous application of ascorbic acid on antioxidant enzyme activities, proline contents, and growth parameters of *Saccharum* spp. hybrid cv. HSF-240 under salt stress. *Turkish Journal of Biology*, 36(6), 630-640. DOI: 10.3906/biy-1201-37

Ekmekçi, E., Mehmet, A. P. A. N., & Tekin, K. A. R. A. (2005). Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(3), 118-125.

ElSayed, A. I., Mohamed, A. H., Rafudeen, M. S., Omar, A. A., Awad, M. F., & Mansour, E. (2022). Polyamines mitigate the destructive impacts of salinity stress by enhancing photosynthetic capacity, antioxidant defense system and upregulation of calvin cycle-related genes in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3675-3686. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.053>

Engwa, G. A. (2018). Free radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. *Phytochemicals: Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention. BoD—Books on Demand*, 7, 49-74. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.76719>

Fan, H. F., Du, C. X., Ding, L., & Xu, Y. L. (2013). Effects of nitric oxide on the germination of cucumber seeds and antioxidant enzymes under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(9), 2707-2719. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1303-0>

Fang, S., Hou, X., & Liang, X. (2021). Response mechanisms of plants under saline-alkali stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 667458.

FAO (2020) FAOSTAT [Erişim: 03.02.2023, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>]

- Farhangi-Abriz, S., & Torabian, S.** (2017). Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.029>
- Fariduddin, Q., Khalil, R. R., Mir, B. A., Yusuf, M., & Ahmad, A.** (2013). 24-Epibrassinolide regulates photosynthesis, antioxidant enzyme activities and proline content of *Cucumis sativus* under salt and/or copper stress. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185, 7845-7856. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3139-x>
- Feng, Y., Chen, X., He, Y., Kou, X., & Xue, Z.** (2019). Effects of exogenous trehalose on the metabolism of sugar and abscisic acid in tomato seedlings under salt stress. *Transactions of Tianjin University*, 25, 451-471. <https://doi.org/10.1007/s12209-019-00214-x>
- Flexas, J., Bota, J., Galmes, J., Medrano, H., & Ribas-Carbó, M.** (2006). Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*, 127(3), 343-352. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00621.x>
- Fritsche-Neto, R., & DoVale, J. C.** (2012). Breeding for Stress-Tolerance or Resource-Use Efficiency?. *Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance*, 13-19.
- Gamalero, E., Bona, E., Todeschini, V., & Lingua, G.** (2020). Saline and arid soils: Impact on bacteria, plants, and their interaction. *Biology*, 9(6), 116.
- Gangola, M. P., & Ramadoss, B. R.** (2018). Sugars play a critical role in abiotic stress tolerance in plants. In *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress Tolerance in Plants* (pp. 17-38). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00002-4>
- Geilfus, C. M.** (2018). Chloride: from nutrient to toxicant. *Plant and Cell Physiology*, 59(5), 877-886. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy071>
- Gerami, M., Majidian, P., Ghorbanpour, A., & Alipour, Z.** (2020). *Stevia rebaudiana* Berton responses to salt stress and chitosan elicitor. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(5), 965-974. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00788-0>
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Hasanuzzaman, M., Gill, R., Trivedi, D. K., Ahmad, I., ... & Tuteja, N.** (2013). Glutathione and glutathione reductase: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 204-212. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.032>
- Gill, S. S., & Tuteja, N.** (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Giordano, M., Petropoulos, S. A., & Rouphael, Y.** (2021). Response and defence mechanisms of vegetable crops against drought, heat and salinity stress. *Agriculture*, 11(5), 463.

Goyal, A., Tanwar, B., Sihag, M. K., Kumar, V., Sharma, V., & Soni, S. (2021). Rapeseed/canola (*Brassica napus*) seed. *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*, 47-71.

Grattan, S. R., & Grieve, C. M. (1992). Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 38(4), 275-300. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(92\)90151-Z](https://doi.org/10.1016/0167-8809(92)90151-Z)

Gupta, A. K., & Kaur, N. (2005). Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *Journal of Biosciences*, 30, 761-776. <https://doi.org/10.1007/BF02703574>

Gupta, B., & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/701596>

Hadi, M. R., & Karimi, N. (2012). The Role of Calcium in Plants' Salt Tolerance. *Journal of Plant Nutrition*, 35(13), 2037-2054. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.717158>

Hameed, A., Ahmed, M. Z., Hussain, T., Aziz, I., Ahmad, N., Gul, B., & Nielsen, B. L. (2021). Effects of salinity stress on chloroplast structure and function. *Cells*, 10(8), 2023. <https://doi.org/10.3390/cells10082023>

Hanin, M., Ebel, C., Ngom, M., Laplaze, L., & Masmoudi, K. (2016). New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1787. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01787>

Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J., & Chen, S. (2021). A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. *Horticulturae*, 7(6), 132. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132>

Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Masud, A. A. C., Rahman, K., Nowroz, F., Rahman, M., ... & Fujita, M. (2021). Regulation of reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under salinity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9326. <https://doi.org/10.3390/ijms22179326>

Hashemi, A., Abdolzadeh, A., & Sadeghipour, H. R. (2010). Beneficial effects of silicon nutrition in alleviating salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L., plants. *Soil Science & Plant Nutrition*, 56(2), 244-253. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00443.x>

Hediye Sekmen, A., Türkan, İ., & Takio, S. (2007). Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum*, 131(3), 399-411. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00970.x>

Hedrich, R., & Shabala, S. (2018). Stomata in a saline world. *Current Opinion in Plant Biology*, 46, 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.07.015>

- Heidari, M.** (2012). Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 379-384. DOI: 10.5897/AJB11.2572
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K.** (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611. <https://doi.org/10.1007/s004250050524>
- Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., & Murata, Y.** (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 553-561. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.03.010>
- Hossain, M. S., & Dietz, K. J.** (2016). Tuning of redox regulatory mechanisms, reactive oxygen species and redox homeostasis under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, 7, 548. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00548>
- Hu, M., Shi, Z., Zhang, Z., Zhang, Y., & Li, H.** (2012). Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 68, 177-188. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9705-3>
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., & Zhao, Y.** (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 800. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
- Hussain, S., Shaukat, M., Ashraf, M., Zhu, C., Jin, Q., & Zhang, J.** (2019). Salinity stress in arid and semi-arid climates: Effects and management in field crops. *Climate Change and Agriculture*, 13. DOI: 10.5772/intechopen.87982
- Ibrahim, A. H.** (2004). Efficacy of exogenous glycine betaine application on sorghum plants grown under salinity stress. *Acta Botanica Hungarica*, 46(3-4), 307-318. <https://doi.org/10.1556/abot.46.2004.3-4.5>
- Iqbal, P., Ghani, M. A., Ali, B., Shahid, M., Iqbal, Q., Ziaf, K., ... & Ahmad, J.** (2021). Exogenous application of glutamic acid promotes cucumber (*Cucumis sativus* L.) growth under salt stress conditions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 407-416. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2021.v33.i5.2699>
- Isayenkov, S. V.** (2012). Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics*, 46(5), 302-318.
- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J.** (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 10, 80.
- Jahreis, G., & Schäfer, U.** (2011). Rapeseed (*Brassica napus*) oil and its benefits for human health. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* (pp. 967-974). Academic Press.

- Jaleel, C. A., Gopi, R., Manivannan, P., & Panneerselvam, R.** (2007). Antioxidative potentials as a protective mechanism in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. plants under salinity stress. *Turkish Journal of Botany*, 31(3), 245-251.
- Jaleel, C. A., Sankar, B., Sridharan, R., & Panneerselvam, R.** (2008). Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology*, 32(2), 79-83.
- Jamil, M., Bashir, S. A. M. I. N. A., Anwar, S., Bibi, S., Bangash, A., Ullah, F., & Rha, E. S.** (2012). Effect of salinity on physiological and biochemical characteristics of different varieties of rice. *Pakistan Journal of Botany*, 44(2), 7-13.
- Javid, M., Nicolas, M., & Ford, R.** (2011). Current knowledge in physiological and genetic mechanisms underpinning tolerances to alkaline and saline subsoil constraints of broad acre cropping in dryland regions. *Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations*, 193-214.
- Jeandet, P., Formela-Luboińska, M., Labudda, M., & Morkunas, I.** (2022). The role of sugars in plant responses to stress and their regulatory function during development. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5161. <https://doi.org/10.3390/ijms23095161>
- Jebara, S., Jebara, M., Limam, F., & Aouani, M. E.** (2005). Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 162(8), 929-936. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.10.005>
- Ji, H., Pardo, J. M., Batelli, G., Van Oosten, M. J., Bressan, R. A., & Li, X.** (2013). The Salt Overly Sensitive (SOS) pathway: established and emerging roles. *Molecular Plant*, 6(2), 275-286. <https://doi.org/10.1093/mp/sst017>
- Ji, X., Tang, J., & Zhang, J.** (2022). Effects of Salt Stress on the Morphology, Growth and Physiological Parameters of *Juglans microcarpa* L. Seedlings. *Plants*, 11(18), 2381. <https://doi.org/10.3390/plants11182381>
- Jocic, S., Miladinovic, D., & Kaya, Y.** (2015). Breeding and genetics of sunflower. In *Sunflower* (pp. 1-25). AOCs Press.
- Kader, M. A., & Lindberg, S.** (2010). Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. *Plant Signaling & Behavior*, 5(3), 233-238. <https://doi.org/10.4161/psb.5.3.10740>
- Kaleem, F., Shabir, G., Aslam, K., Rasul, S., Manzoor, H., Shah, S. M., & Khan, A. R.** (2018). An overview of the genetics of plant response to salt stress: present status and the way forward. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 186, 306-334. DOI: 10.1007/s12010-018-2738-y

- Kao, W. Y., Tsai, T. T., Tsai, H. C., & Shih, C. N.** (2006). Response of three Glycine species to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.009>
- Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K., & Kim, W.** (2011). Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 709-725.
- Kaya, C., Sonmez, O., Aydemir, S., Ashraf, M., & Dikilitas, M.** (2013a). Exogenous application of mannitol and thiourea regulates plant growth and oxidative stress responses in salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Interactions*, 8(3), 234-241. <https://doi.org/10.1080/17429145.2012.725480>
- Kaya, Y.** (2013b). Ayçiçeği: Türkiye'nin en önemli yağ bitkisi. *TÜRKTOB Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 2(7), 20-23.
- Kaya, Y., Jovic, S., & Miladinovic, D.** (2012). Sunflower. *Technological Innovations in Major World Oil Crops, Volume 1: Breeding*, 85-129.
- Keunen, E. L. S., Peshev, D., Vangronsveld, J., Van Den Ende, W. I. M., & Cuypers, A. N. N.** (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, Cell & Environment*, 36(7), 1242-1255. <https://doi.org/10.1111/pce.12061>
- Khan, I. U., Ali, A., & Yun, D. J.** (2018a). Arabidopsis NHX transporters: sodium and potassium antiport mythology and sequestration during ionic stress. *Journal of Plant Biology*, 61, 292-300.
- Khan, M. A., Hamayun, M., Asaf, S., Khan, M., Yun, B. W., Kang, S. M., & Lee, I. J.** (2021). Rhizospheric *Bacillus* spp. rescues plant growth under salinity stress via regulating gene expression, endogenous hormones, and antioxidant system of *Oryza sativa* L. *Frontiers in Plant Science*, 12, 665590. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.665590>
- Khan, N., Ali, S., Zandi, P., Mehmood, A., Ullah, S., Ikram, M., ... & Babar, M. A.** (2020). Role of sugars, amino acids and organic acids in improving plant abiotic stress tolerance. *Pakistan Journal of Botany*, 52(2), 355-363. DOI: [http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-2\(24\)](http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-2(24))
- Khan, S. A., Li, M. Z., Wang, S. M., & Yin, H. J.** (2018b). Revisiting the role of plant transcription factors in the battle against abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1634.
- Khavari-Nejad, R. A., & Mostofi, Y.** (1998). Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica*, 35(1), 151-154. <https://doi.org/10.1023/A:1006846504261>

Khodary, S. E. A. (2004). Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6(1), 5-8.

Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., & Khalighi, A. (2010). The effect of salinity stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (*Mentha piperita* L.). *World Applied Sciences Journal*, 11(11), 1403-1407.

Khoshgoftarmanesh, A. H., Khodarahmi, S., & Haghighi, M. (2014). Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(5), 639-653. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.822487>

Khurana, S., & Singh, R. (2021). Sunflower (*Helianthus annuus*) seed. *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*, 123-143.

Kim, D., Shibato, J., Agrawal, G. K., Fujihara, S., Iwahashi, H., Kim, D. H., ... & Rakwal, R. (2007). Gene transcription in the leaves of rice undergoing salt-induced morphological changes (*Oryza sativa* L.). *Molecules and Cells*, 24(1), 45.

Kim, S. Y., Lim, J. H., Park, M. R., Kim, Y. J., Park, T. I., Seo, Y. W., ... & Yun, S. J. (2005). Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *BMB Reports*, 38(2), 218-224. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2005.38.2.218>

Kong, L., Wang, M., & Bi, D. (2005). Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 45, 155-163. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-1893-7>

Kosová, K., Prášil, I. T., & Vítámvás, P. (2013). Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 6757-6789. <https://doi.org/10.3390/ijms14046757>

Konuşkan, Ö., Gözübenli, H., Atiş, İ, & Atak, M. (2017). Effects of Salinity Stress on Emergence and Seedling Growth Parameters of Some Maize Genotypes (*Zea mays* L.). *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(12), 1668–1672. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i12.1668-1672.1664>

Kumar, S. (2020). Abiotic stresses and their effects on plant growth, yield and nutritional quality of agricultural produce. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 4, 367-378.

Lan Thi Hoang, X., Du Nhi, N. H., Binh Anh Thu, N., Phuong Thao, N., & Phan Tran, L. S. (2017). Transcription factors and their roles in signal transduction in plants under abiotic stresses. *Current Genomics*, 18(6), 483-497. <https://doi.org/10.2174/1389202918666170227150057>

MEGEP (2016). Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Tarım, Yağ Bitkileri, Ankara [Erişim: 04.02.2023, http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/Ya%C4%9F%20Bitkileri.pdf]

Menezes-Benavente, L., Teixeira, F. K., Kamei, C. L. A., & Margis-Pinheiro, M. (2004). Salt stress induces altered expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a Brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, 166(2), 323-331. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.001>

Minh, L. T., Khang, D. T., Ha, P. T., Tuyen, P. T., Minh, T. N., Quan, N. V., & Xuan, T. D. (2016). Effects of salinity stress on growth and phenolics of rice (*Oryza sativa* L.). *International Letters of Natural Sciences*, (57).

Mishra, A., & Tanna, B. (2017). Halophytes: potential resources for salt stress tolerance genes and promoters. *Frontiers in Plant Science*, 8, 829. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00829>

Miyake, H., Mitsuya, S., & Rahman, M. S. (2006). Ultrastructural effects of salinity stress in higher plants. *Abiotic Stress Tolerance in Plants*, 215-226. https://doi.org/10.1007/1-4020-4389-9_15

Møller, I. M., Jensen, P. E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 459-481. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946>

Morales, M., & Munné-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: facts and artifacts. *Plant Physiology*, 180(3), 1246-1250. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>

Moussa, H. R. (2006). Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture & Biology*, 8(3), 293-297.

Muchate, N. S., Nikalje, G. C., Rajurkar, N. S., Suprasanna, P., & Nikam, T. D. (2016). Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. *The Botanical Review*, 82, 371-406. <https://doi.org/10.1007/s12229-016-9173-y>

Mukarram, M., Mohammad, F., Naeem, M., & Khan, M. M. A. (2021). Exogenous gibberellic acid supplementation renders growth and yield protection against salinity induced oxidative damage through upregulating antioxidant metabolism in Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.). *Fenugreek: Biology and Applications*, 99-117. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1197-1_6

Murshed, R., Lopez-Lauri, F., & Sallanon, H. (2008). Microplate quantification of enzymes of the plant ascorbate–glutathione cycle. *Analytical Biochemistry*, 383(2), 320-322. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.07.020>

Mushtaq, Z., Faizan, S., & Gulzar, B. (2020). Salt stress, its impacts on plants and the strategies plants are employing against it: A review. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(3), 81-91. DOI: 10.7324/JABB.2020.80315

Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., & Fujita, M. (2015). Roles of exogenous glutathione in antioxidant defense system and methylglyoxal detoxification during salt stress in mung bean. *Biologia Plantarum*, 59, 745-756. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0542-x>

Narsing Rao, M. P., Dong, Z. Y., Xiao, M., & Li, W. J. (2019). Effect of salt stress on plants and role of microbes in promoting plant growth under salt stress. *Microorganisms in Saline Environments: Strategies and Functions*, 423-435.

Nawaz, K., Hussain, K., Majeed, A., Khan, F., Afghan, S., & Ali, K. (2010). Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects. *African Journal of Biotechnology*, 9(34).

Nayidu, N., Bollina, V., & Kagale, S. (2013). Oilseed crop productivity under salt stress. *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, 249-265. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4747-4_9

Nazarbeygi, E., Yazdi, H. L., Naseri, R., & Soleimani, R. (2011). The effects of different levels of salinity on proline and A-, B-chlorophylls in canola. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 10(1), 70-74.

NC State Extension Plant Toolbox (2020). North Carolina Extension Gardener Plant Toolbox [Erişim: 09.01.2023, <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/brassica-napus/>]

Noreen, S., Faiz, S., Akhter, M. S., & Shah, K. H. (2019). Influence of foliar application of osmoprotectants to ameliorate salt stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Sarhad Journal of Agriculture*, 35, 1316-1325. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2019/35.4.1316.1325>

Nounjan, N., Nghia, P. T., & 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(6), 596-604. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.01.004>

Ologundudu, A. F., Adelusi, A. A., & Akinwale, R. O. (2014). Effect of salt stress on germination and growth parameters of rice (*Oryza sativa* L.). *Notulae Scientia Biologicae*, 6(2), 237-243. <https://doi.org/10.15835/nsb629163>

Onaga, G., & Wydra, K. (2016). Advances in plant tolerance to abiotic stresses. *Plant Genomics*, 10(9), 229-272.

Oueslati, S., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri, R., & Lachaal, M. (2010). Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 289-296. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0406-0>

- Paciolla, C., Paradiso, A., & De Pinto, M. C.** (2016). Cellular redox homeostasis as central modulator in plant stress response. *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses*, 1-23. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44081-1_1
- Pang, C. H., & Wang, B. S.** (2008). Oxidative stress and salt tolerance in plants. *Progress in Botany*, 231-245. https://doi.org/10.1007/978-3-540-72954-9_9
- Parida, A. K., & Das, A. B.** (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M.** (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 4056-4075. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>
- Park, H. J., Kim, W. Y., & Yun, D. J.** (2016). A new insight of salt stress signaling in plant. *Molecules and Cells*, 39(6), 447. doi: 10.14348/molcells.2016.0083
- Pirasteh-Anosheh, H., Ranjbar, G., Pakniyat, H., & Emam, Y.** (2016). Physiological mechanisms of salt stress tolerance in plants: An overview. *Plant-Environment Interaction: Responses and Approaches to Mitigate Stress*, 141-160. <https://doi.org/10.1002/9781119081005.ch8>
- Planteset** (2021). [Erişim: 09.01.2023, <https://planteset.com/helianthus-annuus-cv/>]
- Porra, R. J.** (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73, 149-156. <https://doi.org/10.1023/A:1020470224740>
- Qados, A. M. A.** (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(1), 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2010.06.002>
- Qiu, Z., Guo, J., Zhu, A., Zhang, L., & Zhang, M.** (2014a). Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 202-208. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.014>
- Qiu, Z. B., Wang, Y. F., Zhu, A. J., Peng, F. L., & Wang, L. S.** (2014b). Exogenous sucrose can enhance tolerance of *Arabidopsis thaliana* seedlings to salt stress. *Biologia Plantarum*, 58(4), 611-617. <https://doi.org/10.1007/s10535-014-0444-3>
- Rajput, V. D., Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., ... & Mandzhieva, S.** (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4), 267. <https://doi.org/10.3390/biology10040267>

- Ramadan, A. A., Abd Elhamid, E. M., & Sadak, M. S.** (2019). Comparative study for the effect of arginine and sodium nitroprusside on sunflower plants grown under salinity stress conditions. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0156-0>
- Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T. O., & Ahmad, P.** (2013). Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1039-1050. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1142-4>
- Razavizadeh, R., Ehsanpour, A. A., Ahsan, N., & Komatsu, S.** (2009). Proteome analysis of tobacco leaves under salt stress. *Peptides*, 30(9), 1651-1659. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.06.023>
- Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., & Bonilla, R.** (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.01.006>
- Rossatto, T., do Amaral, M. N., Benitez, L. C., Vighi, I. L., Braga, E. J. B., de Magalhães Júnior, A. M., ... & da Silva Pinto, L.** (2017). Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 865-875. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0467-2>
- Roy, P. R., Tahjib-Ul-Arif, M., Polash, M. A. S., Hossen, M. Z., & Hossain, M. A.** (2019). Physiological mechanisms of exogenous calcium on alleviating salinity-induced stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 611-624. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00654-8>
- Saddiqe, Z., Javeria, S., Khalid, H., & Farooq, A.** (2016). Effect of salt stress on growth and antioxidant enzymes in two cultivars of maize (*Zea Mays* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 48(4), 1361-1370.
- Saed-Moucheshi, A., Shekoofa, A., & Pessarakli, M.** (2014). Reactive oxygen species (ROS) generation and detoxifying in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 37(10), 1573-1585. <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.868483>
- Saharan, B. S., Brar, B., Duhan, J. S., Kumar, R., Marwaha, S., Rajput, V. D., & Minkina, T.** (2022). Molecular and physiological mechanisms to mitigate abiotic stress conditions in plants. *Life*, 12(10), 1634.
- Sairam, R. K., & Saxena, D. C.** (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55-61. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x>
- Sairam, R. K., & Tyagi, A.** (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 407-421.

- Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S., & Meena, R. C.** (2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, 49, 85-91. <https://doi.org/10.1007/s10535-005-5091-2>
- Salahuddin, M., Nawaz, F., Shahbaz, M., Naeem, M., Zulfiqar, B., Shabbir, R. N., & Hussain, R. A.** (2017). Effect of exogenous nitric oxide (NO) supply on germination and seedling growth of mungbean (cv. Nm-54) under salinity stress. *Legume Research-An International Journal*, 40(5), 846-852. DOI:10.18805/lr.v0i0.8399
- Samadi, S., Habibi, G., & Vaziri, A.** (2019). Exogenous trehalose alleviates the inhibitory effects of salt stress in strawberry plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2905-y>
- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., & Hayat, S.** (2016). Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>
- Saxena, S. C., Kaur, H., Verma, P., Petla, B. P., Andugula, V. R., & Majee, M.** (2013). Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions. *Plant Acclimation to Environmental Stress*, 197-232. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6_9
- Shah, S. H.** (2007). Effects of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. *General and Applied Plant Physiology*, 33(1-2), 97-106.
- Shah, S. S., Mohammad, F. I. D. A., Shafi, M., BAKHT, J., & ZHOU, W.** (2011). Effects of cadmium and salinity on growth and photosynthesis parameters of Brassica species. *Pakistan Journal of Botany*, 43(1), 333-340.
- Shahid, M. A., Pervez, M. A., Balal, R. M., Ahmad, R., Ayyub, C. M., Abbas, T., & Akhtar, N.** (2011). Salt stress effects on some morphological and physiological characteristics of okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Soil & Environment*, 30(1).
- Shahid, M. A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R. M., Ali, S., Rossi, L., ... & Garcia-Sanchez, F.** (2020). Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Agronomy*, 10(7), 938. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070938>
- Shahzad, B., Fahad, S., Tanveer, M., Saud, S., & Khan, I. A.** (2019). Plant responses and tolerance to salt stress. In *Approaches for Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Plants* (pp. 61-78). CRC Press.
- Sharma, I., Ching, E., Saini, S., Bhardwaj, R., & Pati, P. K.** (2013). Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1. *Plant Physiology and Biochemistry*, 69, 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.013>

- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M.** (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1-26. DOI:10.1155/2012/217037
- Shu, S., Chen, L., Lu, W., Sun, J., Guo, S., Yuan, Y., & Li, J.** (2014). Effects of exogenous spermidine on photosynthetic capacity and expression of Calvin cycle genes in salt-stressed cucumber seedlings. *Journal of Plant Research*, 127, 763-773. 763–773 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10265-014-0653-z>
- Sienkiewicz-Cholewa, U., Sumisławska, J., Sacala, E., Dziagwa-Becker, M., & Kieloch, R.** (2018). Influence of silicon on spring wheat seedlings under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2630-y>
- Silva-Ortega, C. O., Ochoa-Alfaro, A. E., Reyes-Agüero, J. A., Aguado-Santacruz, G. A., & Jiménez-Bremont, J. F.** (2008). Salt stress increases the expression of *p5cs* gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(1), 82-92. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.10.011>
- Singh, M., Kumar, J., Singh, V. P., & Prasad, S. M.** (2014). Proline and salinity tolerance in plants. *Biochemistry & Pharmacology*, 3(6). <http://dx.doi.org/10.4172/2167-0501.1000e170>
- Singhal, R. K., Saha, D., Skalicky, M., Mishra, U. N., Chauhan, J., Behera, L. P., ... & El Sabagh, A.** (2021). Crucial cell signaling compounds crosstalk and integrative multi-omics techniques for salinity stress tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 670369.
- Siringam, K., Juntawong, N., Cha-um, S., Boriboonkaset, T., & Kirdmanee, C.** (2012). Salt tolerance enhancement in indica rice ('*Oryza sativa*' L. spp. Indica) seedlings using exogenous sucrose supplementation. *Plant Omics*, 5(1), 52-59.
- Soleimani, Z., Afshar, A. S., & Nematpour, F. S.** (2017). Responses of antioxidant gene and enzymes to salinity stress in the *Cuminum cyminum* L. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(3), 361-367. <https://doi.org/10.1134/S1021443717030177>
- Souri, M. K., & Tohidloo, G.** (2019). Effectiveness of different methods of salicylic acid application on growth characteristics of tomato seedlings under salinity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 6(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0169-9>
- Suprasanna, P., Nikalje, G. C., & Rai, A. N.** (2016). Osmolyte accumulation and implications in plant abiotic stress tolerance. *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*, 1-12. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1_1
- Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhodja, M., & Mulet, J. M.** (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, 105, 306-312. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.011>

- Tang, X., Mu, X., Shao, H., Wang, H., & Brestic, M.** (2015). Global plant-responding mechanisms to salt stress: physiological and molecular levels and implications in biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(4), 425-437. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.889080>
- Tavakoli, M., Poustini, K., & Alizadeh, H.** (2016). Proline accumulation and related genes in wheat leaves under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(3), 707-716. Doi: 20.1001.1.16807073.2016.18.3.12.4
- Tester, M., & Davenport, R.** (2003). Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91(5), 503-527. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg058>
- Tognolli, M., Penel, C., Greppin, H., & Simon, P.** (2002). Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 288(1-2), 129-138. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(02\)00465-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(02)00465-1)
- Tuteja, N.** (2007). Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Methods in Enzymology*, 428, 419-438. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(07\)28024-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(07)28024-3)
- Tuteja, N., & Sopory, S. K.** (2008). Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 3(8), 525-536. <https://doi.org/10.4161/psb.3.8.6186>
- Tuteja, N., Ahmad, P., Panda, B. B., & Tuteja, R.** (2009). Genotoxic stress in plants: shedding light on DNA damage, repair and DNA repair helicases. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681(2-3), 134-149. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.06.004>
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)** (2022). Bitkisel Üretim İstatistikleri [Erişim: 04.02.2023, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>]
- Umar, O. B., Ranti, L. A., Abdulbaki, A. S., Bola, A. L., Abdulhamid, A. K., Biola, M. R., & Victor, K. O.** (2021). Stresses in plants: Biotic and abiotic. *Current Trends in Wheat Research*, 1-8. IntechOpen.
- Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C.** (2020). Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 71, 403-433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
- Vighi, I. L., Benitez, L. C., Amaral, M. N., Moraes, G. P., Auler, P. A., Rodrigues, G. S., ... & Braga, E. J. B.** (2017). Functional characterization of the antioxidant enzymes in rice plants exposed to salinity stress. *Biologia Plantarum*, 61(3), 540-550. DOI: 10.1007/s10535-017-0727-6
- Wahid, A. B. D. U. L., & Jamil, A. M. E. R.** (2009). Inducing salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.) by exogenous application of glycinebetaine and proline: Response at the initial growth stages. *Pakistan Journal of Botany*, 41(3), 1311-1319.

Wang, H., Wang, H., Shao, H., & Tang, X. (2016). Recent advances in utilizing transcription factors to improve plant abiotic stress tolerance by transgenic technology. *Frontiers in Plant Science*, 7, 67.

Wang, L. H., Li, G. L., Wei, S., Li, L. J., Zuo, S., Liu, X., ... & Li, J. (2019). Effects of exogenous glucose and sucrose on photosynthesis in triticale seedlings under salt stress. *Photosynthetica*, 57(1), 286-294. DOI: 10.32615/ps.2019.030

Wang, Y., Gu, W., Meng, Y., Xie, T., Li, L., Li, J., & Wei, S. (2017). γ -Aminobutyric acid imparts partial protection from salt stress injury to maize seedlings by improving photosynthesis and upregulating osmoprotectants and antioxidants. *Scientific Reports*, 7(1), 43609. <https://doi.org/10.1038/srep43609>

Wang, Z., Dong, S., Teng, K., Chang, Z., & Zhang, X. (2022). Exogenous salicylic acid optimizes photosynthesis, antioxidant metabolism, and gene expression in Perennial Ryegrass subjected to salt stress. *Agronomy*, 12(8), 1920. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081920>

Waśkiewicz, A., Beszterda, M., & Goliński, P. (2014). Nonenzymatic antioxidants in plants. In *Oxidative Damage to Plants* (pp. 201-234). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00007-1>

Wind, J., Smeekens, S., & Hanson, J. (2010). Sucrose: metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry*, 71(14-15), 1610-1614. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.07.007>

Woodfield, H. K., & Harwood, J. L. (2016). Oilseed crops: linseed, rapeseed, soybean, and sunflower. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences 2nd Edition*, Elsevier, pp. 34-38.

Wu, T. M., & Lee, T. M. (2008). Regulation of activity and gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* Delile (Ulvales, Chlorophyta) in response to excess copper. *Phycologia*, 47(4), 346-360. <https://doi.org/10.2216/PH07-77.1>

Xu, R., Yamada, M., & Fujiyama, H. (2013). Lipid peroxidation and antioxidative enzymes of two turfgrass species under salinity stress. *Pedosphere*, 23(2), 213-222. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(13\)60009-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(13)60009-0)

Yang, L., Zhao, X., Zhu, H., Paul, M., Zu, Y., & Tang, Z. (2014). Exogenous trehalose largely alleviates ionic unbalance, ROS burst, and PCD occurrence induced by high salinity in *Arabidopsis* seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 5, 570. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00570>

Yang, Y., Yao, Y., Li, J., Zhang, J., Zhang, X., Hu, L., ... & Xie, J. (2022). Trehalose alleviated salt stress in tomato by regulating ROS metabolism, photosynthesis, osmolyte synthesis, and trehalose metabolic pathways. *Frontiers in Plant Science*, 13, 623. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.772948>

- Yildirim, E., Donmez, M. F., & Turan, M.** (2008). Use of bioinoculants in ameliorative effects on radish plants under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 31(12), 2059-2074. <https://doi.org/10.1080/01904160802446150>
- Yokoi, S., Bressan, R. A., & Hasegawa, P. M.** (2002). Salt stress tolerance of plants. *JIRCAS Working Report*, 23(1), 25-33.
- Younis, M. E., Hasaneen, M. N., & Kazamel, A. M.** (2010). Exogenously applied ascorbic acid ameliorates detrimental effects of NaCl and mannitol stress in *Vicia faba* seedlings. *Protoplasma*, 239, 39-48. <https://doi.org/10.1007/s00709-009-0080-5>
- Yousuf, P. Y., Hakeem, K. U. R., Chandna, R., & Ahmad, P.** (2012). Role of glutathione reductase in plant abiotic stress. *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, 149-158. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0634-1_8
- Yuan, G., Sun, D., An, G., Li, W., Si, W., Liu, J., & Zhu, Y.** (2022). Transcriptomic and metabolomic analysis of the effects of exogenous trehalose on salt tolerance in watermelon (*Citrullus lanatus*). *Cells*, 11(15), 2338. <https://doi.org/10.3390/cells11152338>
- Zhang, G., Wang, Y., Wu, K., Zhang, Q., Feng, Y., Miao, Y., & Yan, Z.** (2021). Exogenous application of chitosan alleviate salinity stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 7(10), 342. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100342>
- Zhao, C., Zhang, H., Song, C., Zhu, J. K., & Shabala, S.** (2020). Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *The Innovation*, 1(1), 100017. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100017>
- Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P.** (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4609.
- Zhou, Y., Zhao, W., Lai, Y., Zhang, B., & Zhang, D.** (2020). Edible plant oil: global status, health issues, and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1315.
- Zhu, J. K.** (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(5), 441-445. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00085-2](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00085-2)
- Zulfiqar, F., Akram, N. A., & Ashraf, M.** (2020). Osmoprotection in plants under abiotic stresses: New insights into a classical phenomenon. *Planta*, 251, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03293-1>

EKLER

EK-1

Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerine Ait Deney Gruplarının Ekolojik Büyüme Verileri

		Kök uzunluk (cm)	Gövde uzunluk (cm)	Kök yaş ağırlık (g)	Kök kuru ağırlık (g)	Gövde yaş ağırlık (g)	Gövde kuru ağırlık (g)	Kök biyokütle (g/ha)	Gövde biyokütle (g/ha)	Tolerans indeksi (%)
Ayçiçeği	Kontrol	40,3±1,77	54,5±0,71	3,511±0,037	0,435±0,005	18,15±0,161	2,860±0,004	140141±1568	922371±1072	100
	75 mM Tuz	28,9±0,57	36,0±0,00	2,908±0,009	0,350±0,005	8,802±0,365	1,606±0,053	89222±1353	409688±13556	68,50
	150 mM Tuz	26,0±1,41	40,9±1,98	2,607±0,023	0,303±0,007	10,31±0,127	1,972±0,003	77226±1705	503099±667	70,61
	75 mM Tuz+Sükroz	25,5±0,00	44,5±0,71	2,132±0,053	0,326±0,005	11,93±0,147	2,203±0,011	83036±1263	561932±2661	73,88
	150 mM Tuz+Sükroz	31,5±2,12	42,9±0,14	2,786±0,037	0,331±0,001	10,77±0,078	2,226±0,041	84311±180	567895±10516	78,52
Kanola	Kontrol	23,8±0,97	30,8±0,44	0,123±0,001	0,076±0,001	7,911±0,016	1,071±0,025	25000±1369	345323±7983	100
	75 mM Tuz	14,4±0,76	22,2±0,24	0,061±0,003	0,051±0,002	3,07±0,066	0,703±0,010	12819±631	179337±2525	66,85
	150 mM Tuz	15,6±0,32	21,8±0,04	0,049±0,003	0,035±0,001	3,007±0,142	0,786±0,021	8865±90	200510±5412	68,41
	75 mM Tuz+Sükroz	16,6±1,32	22,5±0,00	0,069±0,003	0,048±0,003	4,004±0,014	0,899±0,023	12309±812	229337±5772	71,52
	150 mM Tuz+Sükroz	16,7±0,65	21,7±0,18	0,092±0,001	0,045±0,003	4,163±0,033	0,925±0,026	11480±722	226403±6674	70,15

EK-2

Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerine Ait Klorofil, MDA ve Toplam Protein Miktarları Verileri

		Klorofil <i>a</i> (mg/ml)	Klorofil <i>b</i> (mg/ml)	Toplam Klorofil (mg/ml)	MDA (nmol ml ⁻¹)	Toplam Protein (µg/ml)
Ayçiçeği	Kontrol	3,447±0,039	2,222±0,089	5,606±0,195	0,201±0,019	2178±5
	75 mM Tuz	1,777±0,008	1,735±0,037	3,495±0,027	0,292±0,002	3333±116
	150 mM Tuz	1,480±0,004	1,443±0,115	2,922±0,118	0,418±0,021	3459±160
	75 mM Tuz+Sükroz	5,254±0,311	2,716±0,056	7,925±0,185	0,274±0,014	1615±5
	150 mM Tuz+Sükroz	4,498±0,038	2,585±0,055	7,061±0,100	0,347±0,007	1057±126
Kanola	Kontrol	5,917±0,189	5,612±0,038	11,564±0,315	0,190±0,009	1754±143
	75 mM Tuz	3,125±0,016	4,680±0,078	7,803±0,048	0,304±0,008	3461±68
	150 mM Tuz	2,909±0,093	3,451±0,180	6,358±0,086	0,339±0,005	4800±63
	75 mM Tuz+Sükroz	3,387±0,039	4,595±0,067	7,979±0,028	0,261±0,014	1632±136
	150 mM Tuz+Sükroz	4,652±0,023	4,274±0,195	8,923±0,218	0,250±0,011	2161±90

EK-3

Ayçiçeği ve Kanola Bitkilerine Ait Prolin İçeriklerinin, Antioksidan Enzim Aktivitelerinin ve Gen İfade Seviyelerinin Verileri

		Prolin İçeriği (μmol gFW ⁻¹)	Antioksidan Enzim Aktiviteleri			Antioksidanların Gen İfade Seviyeleri			
			SOD (% inhibisyon)	CAT (U/mg)	APX (U/mg)	P5CS (kat)	SOD-Mn (kat)	CAT (kat)	APX (kat)
Ayçiçeği	Kontrol	10,38±0,03	129,3±0,60	0,0075±0,0000	0,045±0,0004	1,00	1,00	1,00	1,00
	75 mM Tuz	35,60±1,48	192,9±7,80	0,0039±0,0002	0,042±0,0014	16,02±1,26	4,38±0,21	3,69±1,56	1,17±0,19
	150 mM Tuz	51,76±1,22	229,2±2,45	0,0037±0,0007	0,037±0,0021	39,27±0,96	4,07±0,02	0,75±0,01	7,95±0,16
	75 mM Tuz+Sükroz	12,64±0,21	152,5±2,70	0,0056±0,0001	0,077±0,0030	2,93±0,51	3,18±0,16	1,30±0,47	16,24±1,11
	150 mM Tuz+Sükroz	18,00±0,03	152,3±2,48	0,0124±0,0001	0,052±0,0016	14,09±1,04	2,67±0,07	38,46±1,32	25,82±0,76
Kanola	Kontrol	44,28±0,16	77,85±1,35	0,0013±0,0000	0,026±0,0004	1,00	1,00	1,00	1,00
	75 mM Tuz	54,02±0,77	97,46±3,98	0,0005±0,0001	0,030±0,0009	3,24±0,02	5,87±0,57	14,90±1,09	23,03±0,79
	150 mM Tuz	54,19±0,23	137,7±2,14	0,0007±0,0000	0,025±0,0000	13,93±0,27	14,84±1,02	3,65±0,16	7,25±0,60
	75 mM Tuz+Sükroz	47,18±1,42	113,04±2,48	0,0022±0,0000	0,045±0,0011	17,27±0,68	14,93±0,59	9,71±1,00	5,04±0,54
	150 mM Tuz+Sükroz	51,24±0,98	97,60±4,05	0,0028±0,0001	0,031±0,0020	23,10±0,23	19,57±0,58	42,68±1,46	1,13±0,20