



İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

130781

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YÜKSEK BİTKİLERDE TUZ STRESİ İLE ANTOSİYAN İÇERİĞİ
ARASINDAKİ İLİŞKİLER**

Fadime ERYILMAZ

Biyoloji Anabilim Dalı

Bitki Fizyolojisi Programı

Danışman

Prof. Dr. Semahat YENTÜR

İSTANBUL

HAZİRAN-2003

130781

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

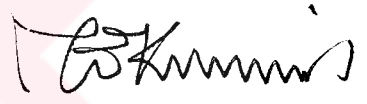
Bu çalışma 07/07/ 2003 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji
Anabilim Dalı Botanik-Bitki Fizyolojisi programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul
edilmiştir.

Üye



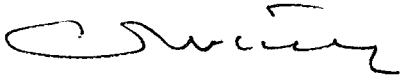
Prof.Dr. Semahat YENTÜR
Danışman

Üye



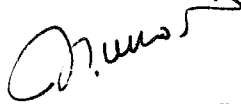
Prof.Dr. Tuna EKİM

Üye



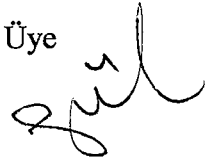
Prof.Dr. Orhan KÜÇÜK

Üye



Prof.Dr. Meral ÜNAL

Üye



Yrd.Doç.Dr. Gül CEVAHİR

Ö N S Ö Z

Tuz stresi ile antosiyanin içeriği arasındaki ilişkilerin fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde incelenmesi bitkilerde stres koşulları altında ortaya çıkan bazı değişimlerin bir diğer yönden değerlendirilmesine katkıda bulunacaktır. Bunlardan özellikle antosiyanin pigmentlerinin yapısal ve işlevsel özelliklerinin ortaya çıkarılması bu bileşiklerin tuz koşulları altındaki davranışlarının tanımlanabilmesi için yapılan çalışmalara da yeni bir anlayış sağlayarak gelecekte stres koşullarına dirençli bitkilerin geliştirilmesini kolaylaştıracaktır.

Bu çalışmada domates ve kırmızı lahana bitkilerine ait tohumların kontrol ve tuz içeren ortamlarda çimlendirilmesi sağlanarak tuz stresinin çimlenme ve gelişme gibi bitkinin ontogenetik basamakları ile klorofil ve antosiyanin içerikleri ayrıca total çözünür protein ve peroksidaz aktivitesi üzerine olan etkileri incelendi.



TEŞEKKÜR

‘Yüksek Bitkilerde Tuz Stresi ile Antosiyan İçeriği Arasındaki İlişkiler’ başlıklı Yüksek Lisans tezimin gerçekleşmesinde bana her türlü imkanı sağlayan, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen ve tezin her aşamasında bana yol gösteren Danışmanım **PROF. DR. SEMAHAT YENTÜR’e** teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmalarım sırasında birçok konudaki fikir ve deneyimlerine başvurduğum **DOÇ. DR. MUAMMER ÜNAL’a** ve tuz stresi alanındaki bilgi birikimlerini benimle paylaşan **YRD. DOÇ. DR. ERGÜL ÇETİN’e**,

Laboratuvar çalışmalarımda deneyimlerinden faydalandığım **YRD. DOÇ. DR. GÜL CEVAHİR’e**, **YRD. DOÇ. DR. SERAP ÇAĞ’a**, **ARAŞ. GÖR. DR. MİNE SARSAĞ’a** ve **YRD. DOÇ. DR. GÜLRİZ BAYÇU’ya**,

Sistemantik adlandırmalarla ilgili bilgilerinden faydalandığım **PROF. DR. TUNA EKİM’e**, **PROF. DR. ORHAN KÜÇÜKER’e**, **YRD. DOÇ. DR. SEMRA KUŞ’a** ve **PROF. DR. NERİMAN ÖZHATAY’a**,

Su kültürü düzeneğinin kurulmasında samimi bir çabayla yardımlarını esirgemeyen **SADRETTİN ÇELEBİ’ye**, bitki yetiştirme kaplarının hazırlanmasında emeği geçen **RECEP DOĞRU’ya**, fotoğrafların çekiminde yardımlarını esirgemeyen **ARAŞ. GÖR. OSMAN EROL’a**, birçok konuda ilgi ve yardımlarını gördüğüm **ÇİĞDEM SELÇUKCAN’a**, **BAHAR BÖLÜKLER’e**, tez projesinin hazırlanmasında bana yol gösteren **ECE SEVGİ’ye**,

T-1205/01112001 No’lu projemi destekleyen **İ.Ü. REKTÖRLÜĞÜ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ YÜRÜTÜCÜ SEKRETERLİĞİ’nin** ilgili çalışanlarına,

ve

Bütün çalışmalarımda bana destek olan, sevgi ve ilgilerini eksik etmeyen, daima yanımda olduklarını bildiğim **ANNEME, BABAMA ve KARDEŞLERİM HASAN ile METİN’e**,

İçtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
TABLO LİSTESİ	VII
ÖZET	IX
SUMMARY.....	X
I. GİRİŞ	1
II. MALZEME VE YÖNTEM.....	9
II.1. Bitki Materyali ve Tuz Uygulamaları.....	9
II.2. Çimlenme Yüzdesi.....	12
II.3. Büyüme Oranı.....	12
II.4. Taze ve Kuru Ağırlık Tayini.....	12
II.5. Klorofil Tayini.....	12
II.6. Antosiyanin Tayini.....	12
II.7. Total Protein Miktarının Tayini.....	13
II.8. Peroksidaz Aktivitesinin Tayini.....	13
II.9. İstatistiksel Hesaplamalar.....	13
III. BULGULAR.....	14
III.1. Çimlenme Yüzdesi.....	17
III.2. Büyüme Oranı.....	21
III.3. Taze ve Kuru Ağırlık Oranları.....	25
III.4. Klorofil İçeriği.....	29
III.5. Antosiyanin İçeriği.....	33
III.6. Protein İçeriği.....	37
III.7. Peroksidaz Aktivitesi.....	42
IV. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	46
V. KAYNAKLAR.....	52
VI. ÖZGEÇMİŞ.....	66

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil I.1.	Antosiyaninlerin yapısı.....	5
Şekil I.2.	Antosiyaninlerin biyosentezi.....	6
Şekil II.1.	Resim II.1. NaCl çözeltilerinin konsantrasyonlarını sabit tutmak amacıyla düzenlenen otomatik sulama sisteminin görünümü.....	10
Şekil III.1.	Resim III.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 6 günlük domates bitkilerinin genel görünümü.....	15
Şekil III.2.	Resim III.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 30 günlük domates bitkilerinin genel görünümü.....	15
Şekil III.3.	Resim III.3. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 6 günlük kırmızı lahana bitkilerinin genel görünümü.....	16
Şekil III.4.	Resim III.4. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 30 günlük kırmızı lahana bitkilerinin genel görünümü.....	16
Şekil III.1.1.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates tohumlarının çimlenme yüzdeleri.....	18
Şekil III.1.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana tohumlarının çimlenme yüzdeleri.....	20
Şekil III.2.1.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates fidelerinin kök ve gövde uzunluk oranları.....	22
Şekil III.2.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana fidelerinin kök ve gövde uzunluk oranları.....	24
Şekil III.3.1.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates fidelerinin taze ve kuru ağırlık oranları.....	26

Şekil III.3.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana fidelerinin taze ve kuru ağırlık oranları.....	28
Şekil III.4.1.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.....	30
Şekil III.4.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.....	32
Şekil III.5.1.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.....	34
Şekil III.5.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.....	36
Şekil III.6.1.	Protein miktarlarının belirlenebilmesi için kullanılan standart protein grafiği.....	37
Şekil III.6.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki protein miktarları.....	39
Şekil III.6.3.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki protein miktarları.....	41
Şekil III.7.1.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.....	43
Şekil III.7.2.	Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.....	45

TABLO LİSTESİ**Sayfa**

Tablo II.1.1. Hoagland çözeltisi.....	11
Tablo II.1.2. NaCl konsantrasyon serileri.....	11
Tablo III.1.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates tohumlarının çimlenme yüzdeleri.....	17
Tablo III.1.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana tohumlarının çimlenme yüzdeleri.....	19
Tablo III.2.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates fidelerinin kök ve gövde uzunluk oranları.....	21
Tablo III.2.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana fidelerinin kök ve gövde uzunluk oranları.....	23
Tablo III.3.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates fidelerinin taze ve kuru ağırlık oranları.....	25
Tablo III.3.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana fidelerinin taze ve kuru ağırlık oranları.....	27
Tablo III.4.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.....	29
Tablo III.4.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.....	31

Tablo III.5.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.....	33
Tablo III.5.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.....	35
Tablo III.6.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki protein miktarları.....	38
Tablo III.6.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki protein miktarları.....	40
Tablo III.7.1. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.....	42
Tablo III.7.2. Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.....	44

YÜKSEK BİTKİLERDE TUZ STRESİ İLE ANTOSİYAN İÇERİĞİ ARASINDAKİ İLİŞKİLER

ÖZET

Bu çalışmada domates ve kırmızı lahana bitkilerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarında tuz stresi ile antosiyanin içeriği arasındaki ilişkiler incelendi.

Bitkiler çimlenmeden fide büyümesine kadar olan gelişimlerinin her aşamasında değişik konsantrasyonlardaki NaCl ile muamele edildiler. Domates ve kırmızı lahana tohumlarının çimlenme yüzdeleri kontrolde NaCl e göre daha yüksek çıktı. İyi çimlenmiş tohumlar seçildi ve 1/5 oranında seyreltilmiş Hoagland besi çözeltisi içerisinde 0 (kontrol) ve 50, 100 mM NaCl içeren su kültürü düzeneğine aktarıldı. 30 gün sonra iyi gelişmiş fideler seçildi ve deneysel analizleri yapılmak üzere hasat edildiler. Fidelerin büyüme, taze ve kuru ağırlık oranları, klorofil, antosiyanin ve total çözünür protein içerikleri ile peroksidaz aktiviteleri ölçüldü.

Tuz stresinin düzeyine ve süresine ayrıca fidelerin NaCl e toleransına bağlı olarak büyümenin gerilemesinden bitkinin ölümüne kadar varan yanıtlar ortaya çıktı. NaCl ile muamele sonucu klorofil pigmentlerinin yıkımının arttığı görüldü. Bunun aksine, bitki stresinin bir göstergesi olarak bilinen antosiyanin birikimi fidelerin çeşitli kısımlarında NaCl konsantrasyonu artışıyla beraber teşvik edildi. Antosiyanin içeriği ile bu bileşiklerin antioksidan kapasitesi arasındaki ilişkilerin araştırılması için total çözünür protein ve peroksidaz aktiviteleri ölçüldü. Tuzluluk total protein içeriğinde belirgin azalmalara yol açarken peroksidaz aktivitesinin artış gösterdiği tespit edildi.

Bu araştırmada, tuzlu koşullar altında antosiyanin üretiminden sorumlu olan mekanizmaların saptanabilmesi için bazı yüksek bitkilerin NaCl stresine karşı fizyolojik ve biyokimyasal yanıtları incelendi.

THE RELATIONSHIPS BETWEEN SALT STRESS AND ANTHOCYANIN CONTENT IN HIGHER PLANTS

SUMMARY

The relationships between salt stress and anthocyanin content in the roots, hypocotyls, cotyledons of tomato and red cabbage were investigated.

Plants were exposed to various concentrations of NaCl at all of their developmental stages from germination to seedling growth. Tomato and red cabbage exhibited higher germination percentages in control than in NaCl. The well germinated seeds were selected and transferred to water culture chamber containing 1/5 strength Hoagland's nutrient solution supplied with 0 (control) and 50, 100 mM NaCl. After 30 days the well grown seedlings were selected and harvested for experimental analysis. Growth, fresh and dry weight, chlorophyll, anthocyanin, total soluble protein and peroxidase activity of the seedlings were examined.

Responses range from growth retardation to plant death depending on the level and duration of salt stress and also the tolerance of seedlings to NaCl treatments. The degradation of chlorophyll pigments were increased as a result of exposure to NaCl. In contrast, anthocyanin accumulation that is known as a hallmark of plant stress was stimulated by increasing concentrations of NaCl in various parts of the seedlings. The relation between anthocyanin content and antioxidant capacity was investigated by measuring the total soluble protein and peroxidase activity. Salinity caused a significant decrease in total protein content while enhanced activity of peroxidase was determined.

In this research, physiological and biochemical responses of NaCl stress in some higher plants were investigated in order to determine the mechanisms that is responsible for anthocyanin production in saline conditions.

I. GİRİŞ

Dünya yüzeyinin %7'sinden fazlasının tuzlu topraklardan oluştuğu bilinmektedir [1, 2]. Bugün dünyada ekilen arazinin yaklaşık %20'si ile sulanan toprakların yarısının tuzluluktan etkilendiği saptanmıştır [3]. Ülkemizde de toprakların yarısından fazlası kurak ve yarı kurak olduğundan [4] bu alanlarda çoraklaşma meydana gelmekte ve sonuçta tarıma elverişli olmayan bölgelerin alanı gittikçe çoğalmaktadır [5, 6]. Sulanabilen arazilerde de artan tuzluluk oranı tarımsal üretim için ciddi bir çevresel sorun oluşturmaktadır [7, 8]. Bilinçsiz sulama teknikleri ile toprakta aşırı su doygunluğu ve tuz birikimi meydana gelebilmektedir. Birleşmiş Milletler Besin ve Tarım Organizasyonunun (FAO) tahminlerine göre dünyada 60-80 milyon hektarlık alan sel ve tuzluluktan çeşitli derecelerde etkilenmektedir [9]. Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) ile sulanabilme olanağına kavuşan Harran'da da suyun fazla ve kurlsız kullanımı toprakta erozyon ve tuzluluk gibi sorunlara yol açmış, elde edilmek istenen ürünün kalitesini ve miktarını olumsuz etkilemiştir. Bir bölüm tarım arazisi ise kullanılamaz hale gelmiştir [10]. Bu durumda, sözü geçen tarımsal bölgelerin gelecekteki verimliliğini sağlamak hızla artan dünya nüfusu da gözönüne alınacak olursa büyük önem taşımaktadır. Bu konu ile ilgili yapılmış çalışmalar incelendiğinde daha çok tuza dirençli türlerin seçimi [11, 12] ya da bu özelliklerin bitkilere genetik yollarla kazandırılması [13, 14] yönünde ilerlemeler kaydedilmiştir.

Tuzluluk; bitkilerde osmotik stres, iyon toksisitesi, mineral alınımında dengesizlik gibi çeşitli sorunlara neden olarak büyüme olayının indirgenmesinden bitkinin ölümüne kadar varan sonuçlara yol açan bir çevresel stres etmenidir [15, 16, 17]. Tuz (NaCl) stresi altında bitkilerde birçok fizyolojik ve biyokimyasal değişiklik meydana gelmektedir [18, 19, 20]. Bu değişiklikler, çimlenmenin azalması [21], mutlak ve bağıl büyüme oranının indirgenmesi [22, 23], yaprakta klorosis [24] ve senesens [25], sonuçta toplam verimin düşmesi [26, 27] şeklinde kendini göstermektedir.

Tuzlu koşullar altında tohumların çimlenme yüzdesi azalmakta, çok yüksek NaCl konsantrasyonlarında ise çimlenme tamamen inhibe olabilmektedir [28]. Tohumların imbibisyonu ve çimlenmelerindeki gerilemenin; içinde bulundukları çözeltinin osmotik potansiyelinin hücreninkinden daha yüksek olmasından kaynaklandığı bilinmektedir. Bu durumda tohumlar çimlenmeleri için gerekli olan su ve mineralleri absorbe edememektedir [29]. Çözeltinin NaCl içeriğinin tohumlarda elektrofizyolojik değişimlere yol açarak çimlenmeyi olumsuz etkiledikleri de kaydedilmiştir. Buna göre, tohumlarda Na^+ iyonu alımının artışı hücre içi K^+ iyonu birikimini azaltmaktadır [30]. *Arabidopsis* bitkisinde çimlenmenin Na^+ iyonu toksisitesine osmotik stresten daha duyarlı olduğu saptanmıştır. 250 mM NaCl konsantrasyonunda çimlenmeye ket vurulurken aynı osmotik değere sahip sorbitol çözeltisinde bunun azalarak da olsa sürdüğü görülmüştür [31]. Çimlenme olayında iyonik stres daha önemli iken büyümede osmotik stresin etkin rolü olduğu izlenmiştir. Bu durum tuz stresinin iki bileşenine (osmotik ve iyonik) karşı bitkinin gelişiminin farklı aşamalarındaki yanıtının

değişebildiğini göstermektedir. Bitki türleri arasında da NaCl e dayanıklılık açısından çeşitlilik ortaya çıkmıştır.

Bazı bitki türlerinde fidelerin tuza direncini arttırmak için çeşitli yöntemler denenmiştir. Domates bitkisinde çimlenme aşamasında NaCl uygulanması ile fidelerin daha yüksek oranlardaki tuz çözeltilerinde yetişebildiği görülmüştür [32, 33]. Bununla ilgili olarak, NaCl uygulanmış *Sorghum bicolor* bitkisinde iki türlü cevabın olduğu gözlenmiştir. Bu durumda bitkinin ya önceden tuza dirençli bir yapıya sahip olduğu ya da NaCl uygulanması ile böyle bir mekanizma geliştirdiği ‘adaptasyon’ ileri sürülmektedir [34]. Bitkinin tuza adaptasyonu ile ilgili olarak, tohumların ekiminden önce NaCl çözeltisinde tutulmasının tuza direnci arttırdığı işaret edilmiştir [35]. Bitkilerin tuz stresine karşı yanıtının, stres olduğu zaman bitkinin bulunduğu gelişim evresindeki genlerin işlevine dayandığı da belirtilmektedir [36].

Bitkilerin vegetatif evredeki kök, gövde ve yaprak gibi organlarının büyüme oranlarının da tuzluluktan çeşitli şekillerde etkilendiği bilinmektedir [37, 38]. Bu durum bitki türlerinin tuza direncine göre değişiklik göstermektedir. Şeker pancarının gelişiminin erken evrelerinde tuz stresine karşı oldukça duyarlı olduğu [39], belli bir konsantrasyonun üzerinde ise kök ve gövde uzunluğu ile yaprak yüzeyi ve kuru ağırlığının belirgin oranda azaldığı gözlenmiştir [40, 41]. Benzer sonuçlar fasulye bitkisinde de izlenirken tuza dirençli pamuk bitkisinin bundan fazla etkilenmediği saptanmıştır [42]. Domates, mısır ve buğday bitkilerinde ise düşük konsantrasyonlardaki NaCl çözeltisinin göreceli olarak büyümeyi teşvik ettiği belirtilmiştir. Bu bitkilerde NaCl uygulanması sonucu kök uzunluğunda artış kaydedilirken gövde uzunluğunun azaldığı görülmüştür [43, 44, 45].

NaCl ün, çiçeklenme olayında gecikmeye yol açarak reproduktif evrenin gerilemesine neden olduğu da ileri sürülmektedir [46, 47]. Tuzun iyonik toksisitesine bağlı olarak polen canlılığının azaldığı, çiçek sterilitenin (kısırlık) arttığı ve çiçeklenme yüzdesinin gerilediği kaydedilmiştir [48, 49]. NaCl stresi altında çiçek, meyve ve tohum sayısının indirgenmesinin yanısıra meyvelerin küçüldüğü dolayısıyla bitkiden elde edilen verimin oldukça azaldığı bildirilmiştir [50, 51, 52].

Stres koşullarından en çok etkilenen yapılardan bir tanesi de hücre membranlarıdır. Yüksek NaCl uygulamalarına bağlı olarak membran yapısının bozulması ile permeabilitenin zarar görmesi sonucu hücrelerden dış ortama elektrolit sızmasında artış kaydedilmiştir [53]. Biyokimyasal çalışmalar, plazma membranı ve tonoplast ATPazının bitkilerin tuz stresine yanıtında önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Yüksek NaCl konsantrasyonlarına maruz kalan bitki hücrelerinde ATPaz aktivitesindeki değişimlerin arttığı gözlenmiştir [54].

NaCl den kaynaklanan stres koşullarında bitki için gerekli olan minerallerin topraktan alınımı güçleşirken toksik olan bazı inorganik iyonlar membrandan geçebilmektedir [55, 56]. Bu durumda tuza dirençli bazı bitki türleri hücrel bir yanıt olarak küçük, toksik olmayan osmotik koruyucu bileşikler (glisinbetain, prolin gibi) sentezleyip biriktirme özelliğine sahiptir. Bunların proteinleri ve hücrel yapıları stabilize ettikleri ayrıca hücrenin osmotik potansiyelini artırarak tuza karşı adaptasyonu sağladıkları düşünülmektedir [57, 58]. Böylece su kaybı, plazmoliz ve inorganik iyonların sitoplazmadan vakuole geçişi engellenmiş olmaktadır.

Yüksek NaCl oranları toksik işlevlerinin yanı sıra toprağın su tutma kapasitesini de etkileyerek ‘fizyolojik kuraklık’ denilen olaya neden olmaktadır [59, 60]. Böyle durumlarda bitki toprakta yeterli oranda su bulunmasına karşın köklerdeki osmotik potansiyelin azalmasına bağlı olarak topraktan gerekli suyu alamamaktadır [61, 62]. Köklerdeki osmotik düşüşle beraber stomalar kapanarak transpirasyon olayı yavaşlamaktadır [63, 64]. Bunların sonucunda bitkide turgor kaybı, klorosis ve solma gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır [65, 66].

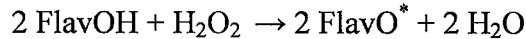
Tuzluluğun tipine, uygulama süresine ayrıca bitkinin türüne ve yaşına bağlı olarak fotosentez olayının da mezofil ve stoma düzeyinde tuzluluktan etkilendiği bilinmektedir [67]. Artan NaCl oranına bağlı olarak; stoma sayısının azaldığı, fotokimyasal tepkimelerin yavaşladığı ve karbon dioksit alınımındaki özel metabolik etkinliklerin bozulduğu dolayısıyla fotosentezin indirgendiği ortaya konmuştur [68]. Fotosentez oranı çevresel etmenlere bağlı olduğundan yeşil bitkilerin büyümesi de bundan etkilenmektedir. Bu durum bazen türlere göre farklılık göstermektedir. NaCl uygulamaları sonucu bitkinin büyümesi ile fotosentez kapasitesi arasında herhangi bir ilişki olmadığına ya da çok küçük bir bağ olduğuna dair; *Hibiscus cannabinus* [69], *Trifolium repens* [70] ve *Triticum aestivum* [71] ile yapılmış birçok çalışma vardır. Bunun aksine NaCl stresi altında fotosentez ile ürün verimi arasında doğrudan bir bağlantı olduğuna dair; *Zea mays* [72], *Spinacia oleracea* [73] ve *Gossypium hirsutum* [74] gibi daha birçok bitkide yapılmış çalışmalarla ilgili benzer makaleler yayınlanmıştır.

NaCl uygulanmış kültür bitkilerinde protein sentezinin azaldığı [75], bunun sonucu olarak da bitkideki total amino asit miktarının arttığı belirlenmiştir [76]. Bunlardan en bilineni prolin birikimidir. Prolin miktarındaki artış, birçok bitki türünde kuraklık, tuzluluk gibi osmotik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan bir durumdur [77, 78]. Tuzlu koşullar altında bitkinin total protein miktarı azalırken bazı özel stres proteinlerinin sentezinin arttığı kaydedilmiştir. Bunlardan bir tanesi de NaCl stresi sonucu pirinç bitkisinin köklerinde sentezlendiği ileri sürülen (14.5 kDA ağırlığındaki) özel ‘SALT’ proteindir [79]. Transgenik *Arabidopsis* bitkisinde de NaCl uygulamalarına yanıt olarak AtGSK1 adlı stres proteininin çok miktarda sentezlendiği saptanmıştır [80]. Bunun yanı sıra bu bitkide antosiyanin birikimi gibi bazı fenotipik değişiklikler de görülmüştür.

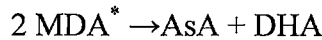
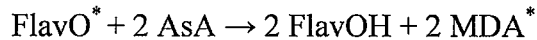
Tuzun yol açtığı biyokimyasal değişimler genellikle aktif oksijen türlerinin oluşumu şeklinde kendini göstermektedir [81]. Bitki hücrelerinde kloroplast, mitokondri ve peroksizomlar hücre içi aktif oksijen bileşiklerinin üretildiği önemli merkezlerdir [82, 83]. Aerobik solunum sırasında elektron transport zincirinden kopan elektronlar O_2 ile tepkimeye girerek superoksit (O_2^-) ve hidroksil iyonu (OH^-) [84] gibi serbest radikaller ile hidrojen peroksit (H_2O_2) [85] biçiminde oksijen ara ürünlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bu sitotoksik oksijen türleri yüksek tepkime özellikleri nedeniyle herhangi bir korunma mekanizmasının eksikliğinde membranlara, fotosentetik pigmentlere ve lipid, protein, nukleik asitler gibi makromoleküllere zarar verebilmektedir [86, 87, 88, 89].

Bitki hücrelerindeki aktif oksijen türlerinin düzeyleri normal koşullarda koruyucu antioksidan aktivite ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu durumda bitkiler; superoksit dismutaz (SOD), glutathion redüktaz (GR), guaiakol peroksidaz (POD), glutathion-S-transferaz (GST), askorbat peroksidaz (APOX) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan peroksidaz enzim sisteminin potansiyelini artırarak sözü edilen zararlı etkileri ortadan kaldırmaya çalışmaktadır. Bu enzimlerin yanı sıra askorbat, glutathion, β -karoten, α -tokoferol, antosiyanin gibi antioksidan moleküller de toksik oksijen bileşiklerinin yok edilmesinde önemli rol almaktadır [90, 91, 92]. Fakat, stres koşulları altında serbest radikal üretimi artmakta ve koruyucu aktivite yetersiz hale gelebilmektedir.

Oksidatif ve abiyotik stres etmenlerine karşı peroksidaz aktivitesindeki artış ortak bir yanıt olarak kabul edilmektedir [93, 94]. NaCl stresi altında da total peroksidaz aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir [95]. Aktif oksijen türlerinden bir tanesi olan hidrojen peroksit (H_2O_2); katalaz enzimi (E.C.1.11.1.6) ve peroksidaz izozimleri (E.C.1.11.1.7) tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Katalaz enzimi H_2O_2 yi doğrudan su ve moleküler oksijene ayırırken; peroksidazlar H_2O_2 yi askorbat, fenolik bileşikler, başlıca flavononlar ve antosiyaninler gibi antioksidan yardımcı substratların oksidasyonu ile parçalayabilmektedir [96]. Bu durumda stres koşulları altında total peroksidaz artışının bu fenolik antioksidan bileşikleri ne şekilde etkilediği akla gelmektedir. Bu konuda Yamasaki ve arkadaşları [97], vakuoldeki hidrojen peroksidin bir flavonol-peroksidaz sistemi ile nasıl yok edildiğini şu şekilde şematize etmektedirler:



Oluşan flavonoid fenoksil radikali (FlavO^*) askorbik asitle (AsA) tepkimeye girerek monodehidroaskorbik asit radikali (MDA^*) açığa çıkmaktadır:

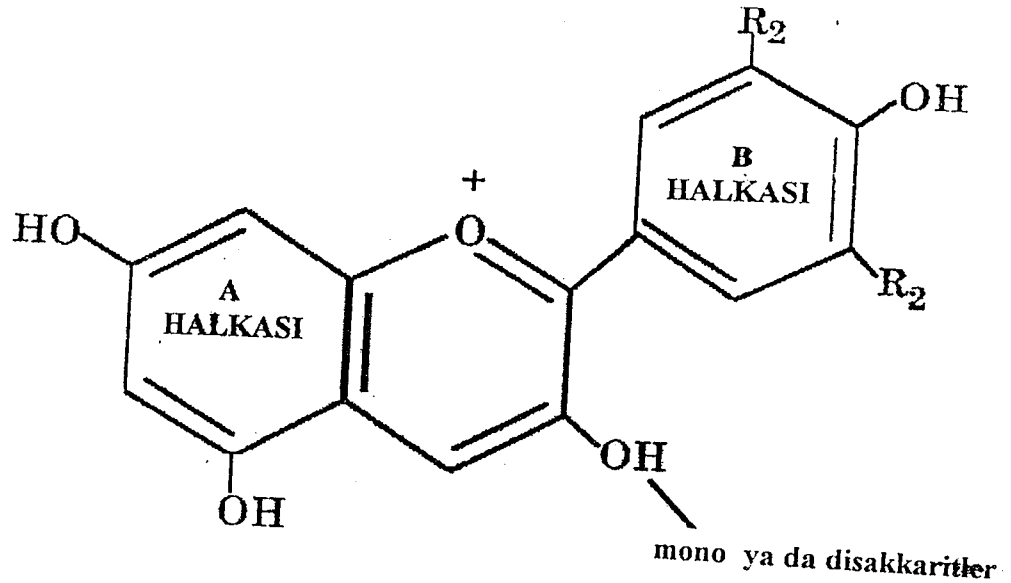


MDA^* kendiliğinden AsA ve DHA'ya dönüşürken; oluşan DHA (dehidroaskorbik asit) sitosolik dehidroaskorbat redüktaz ile tekrar AsA'yı meydana getirmektedir.

Antosiyaninler sekonder bitki metabolitlerinden flavonoidler alt grubuna dahil olan fenolik bileşiklerdir [98, 99]. Yüksek bitkilerin çeşitli kısımlarının özellikle kırmızı, mavi ve mor renklerinden sorumlu olan bu pigmentler; kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve gibi bütün bitki organlarında bulunabilmektedirler [100, 101, 102]. Pancarların da içinde bulunduğu Centrospermae grubundaki bitkiler sadece betasiyanin denilen alternatif bir kırmızı pigment içermektedir [103].

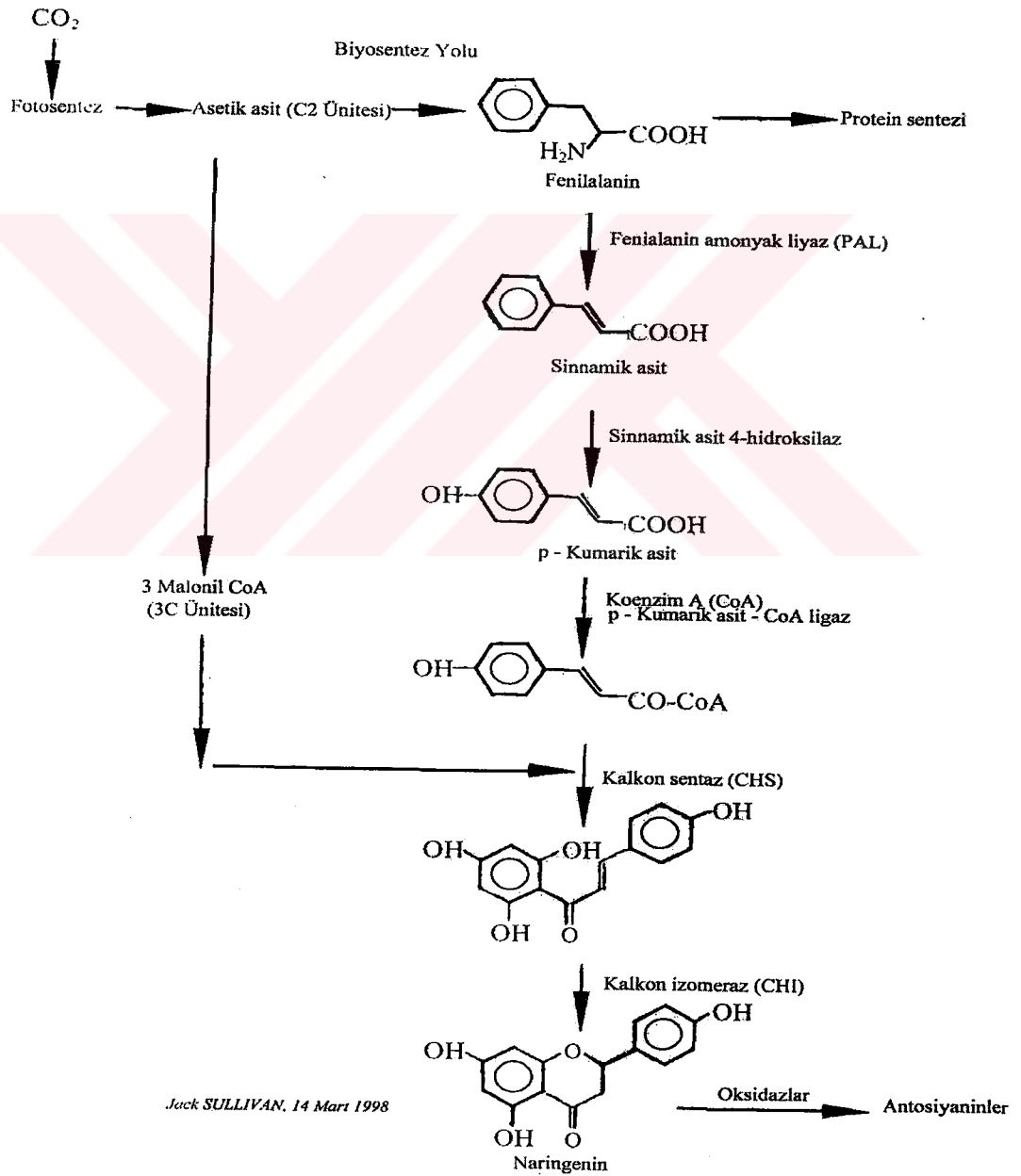
Bir ya da birkaç şeker grubunun antosiyanidin (aglikon) denilen moleküle bağlanmasından meydana gelen antosiyaninler, A ve B diye adlandırılan çift bağ taşıyan iki karbon halkası ve ortada oksijen bulunan bir merkezi halka yapısındadır (Şekil I.1). Çiçek ve meyvelerin renklerinin bu pigmentler aracılığı ile sahip olduğu zengin çeşitlilik; B halkasına bağlanan şekerler, aromatik asitler, hidroksil ve metoksil gruplarının (R) sayısı ile diğer antosiyanin molekülleri ya da başka pigment ve iyonlarla oluşturdıkları kompleks yapılar (ko-pigmentler) gibi küçük etkileşimleri içermektedir [104, 105, 106].

Bitki hücrelerinin sitoplazmasında flavonoid biyosentez yolu sonunda sentezlenen antosiyaninler, aktif transportla vakuole taşınarak orada ergastik depo maddesi olarak birikirler [107]. Bunlar suda çözünür bileşiklerdir, birçok bitkide epidermis hücrelerinin vakuolünde çözünmüş halde bulunurlar [108, 109]. Vakuoldeki ya da bir çözeltideki antosiyaninin rengi ve kararlılığı (stabilitesi) büyük ölçüde onun asiditesine (pH derecesine) dayanmaktadır. Ortamın asit olduğu durumlarda kırmızı, nötr iken mor, bazik koşullarda ise mavi renk alırlar [110, 111]. Bu özellikleri nedeniyle antosiyaninlerin doğal indikatörler olarak farmasötik preparatlarda ve bazı besinlerin renklendirilmesi için gıda sektöründe de kullanım alanları vardır [112, 113].



Şekil I.1: Antosiyaninlerin yapısı.

Antosiyaninler; fotosentez sonucu oluşan asetik asit (2 karbonlu) ünitesi ile başlayan iki farklı metabolik yol üzerinden sentezlenmektedir [114, 115]. Birincisi asetik asitten fenilalanin amino asidi öncülünün oluşumuna kadar olan şikimik asit yolu diğeri ise malonil CoA (3 karbonlu) ünitesini veren asetik asit yoludur. Antosiyaninlerin biyosentezinde başlıca fenilalanin amonyak liyaz (PAL) ve kalkon sentaz (CHS) enzimleri iş görmektedir. Fenilalanin amino asidi PAL enzimi aracılığıyla sinnamik asitlere; sinnamik asitler ise ilgili enzimler üzerinden p-kumarik asit CoA'ya dönüşmektedir. Fenilpropanoid yolu diye de adlandırılan bu biyosentez yolu CHS enzimi aracılığıyla malonil CoA ile biraraya gelerek CHI (kalkon izomeraz) enziminin etkinliğiyle naringenin bileşiğine izomerize olmaktadır. Naringenin ise oksitlenerek antosiyaninleri meydana getirmektedir (Şekil I.2).



Şekil I. 2: Antosiyaninlerin biyosentezi (Sullivan'dan, 1998).

Antosiyaninlerin; tuzluluk [116], osmotik stres [117], düşük sıcaklık [118], ışık (özellikle UV-B radyasyonu) [119], herbisitler [120], patojen mikroorganizmalar [121], herbivorlar [122] gibi çeşitli abiyotik ve biyotik çevresel stres koşullarında bitkileri korudukları bilinmektedir. Ayrıca çiçek ve meyve gibi generatif organların bu pigmentler aracılığıyla sahip oldukları göze hoş gelen renkleriyle böceklerin çekimlenmesini sağlayarak tozlaşma olayı ve tohumların dağılımında önemli ekolojik rolleri vardır [123]. Vegetatif dokulardaki kırmızı ve mor flavonoidlerin birikimi ise bitki stresinin bir göstergesi olarak ifade edilmektedir [124]. İlk gelişim evrelerindeki genç yaprakların ve sürgün uçlarının ayrıca sonbaharda senesense uğrayan bazı bitkilerin yapraklarının sahip oldukları kırmızı rengin fotooksidan zararlara karşı sentezlenen antosiyanin pigmentlerinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir [125, 126].

Son on yıl içinde yapılan araştırmalara göre; antosiyanin bileşiklerinin kendisini üreten bitkilerin varlığı ve ayrıca insanlar için faydalı biyolojik özelliklere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Antosiyaninlerin; polen veriminin artırılması [128], senesens olayında bitkinin besin kaynaklarının dağılımının denetimi [129], oksinin polar taşınımının kontrolü [130], önemli birer endüstriyel çevre kirleticisi olan alüminyum, florin ve florid toksisitelerine karşı bitkilerin korunumu [131] gibi bazı bitkisel düzenleyici faaliyetlerde yer aldıkları saptanmıştır. Bazı doğal antosiyaninlerin ise hücre zarlarının [132] ve DNA'nın [133] yapısal kararlılıklarının sürdürülmesine katkıda bulunduklarına dair çalışmalar yapılmıştır. Mısır bitkisinde UV-B uygulanmış mor ve yeşil yapraklı kültürlerle yapılan incelemelerde mor yapraklı kısımlarda DNA hasarı görülmezken yeşil kısımlarda bunun ortaya çıktığı belirlenmiştir [127].

Çevresel stres etmenlerine karşı bitkilerin korunumunda rolü olan antosiyaninler; antioksidan özellikleri ve antikanser potansiyelleri ile de araştırmacıların ilgisini çekmektedir [134, 135, 136]. Meyve ve sebzelerdeki polifenolik bileşiklerin kanser [137], kalp krizi [138] riskini azalttığına; çay ve şarapta doğal olarak bulunan antioksidan flavonoidlerin ise in vitroda düşük yoğunluklu lipidlerin (LDL) oksidasyonunu önlediklerine [139] dair son yıllarda yapılmış çalışmalar mevcuttur. Araştırmacılar, düzenli olarak bu fenolik bileşiklerce zengin olan yiyeceklerle beslenen kişilerde koroner kalp hastalıklarına daha az rastlandığını [140] ileri sürmektedir. *Vaccinum ssp.* (ayı üzümü) ekstraktlarının yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı nörolojik hasarları geciktirdiğine [141], vişnede bulunan antosiyaninlerin eklem ağrıları, gut gibi hastalıklarda anti-inflamatuar etki gösterdiklerine [142], bazı bitkilerdeki izoflavonoidler ile antosiyaninlerin ise östrojen hormonu aktivitesine sahip olduklarına [143] dair bulgular elde edilmiştir. Bu bileşiklerin ayrıca vasküler permeabilitenin artırılmasıyla kan dolaşımının rahatlatılması [144], bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi [145], hücre sinyal iletiminin düzenlenmesi [146] ile kanserli hücrelerin yayılımının ve sitotoksitesinin azaltılması [147] gibi pekçok koruyucu görevleri olduğuna ilişkin yayınlar yapılmıştır. Üzerinde çalışıldıkça yeni özellikleri keşfedilen antosiyaninlerin bilinen antioksidanlardan birisi olan askorbattan (C vitamini) birçok kez daha aktif olduğu da belirtilmektedir [148].

Görüldüğü gibi antosiyaninler pigment özelliklerinin dışında son yıllarda çevresel stres koşullarına karşı bitkinin korunumu rollerinin yanısıra antioksidan etkileri nedeniyle de üzerinde çalışmaların yapıldığı moleküllerdir. Tuz stresi ise başlı başına tüm yönleriyle üzerinde çalışılmış önemli bir fizyolojik olay olmasına rağmen bitkilerdeki pigmentasyona etkileri ile ilgili yayınların azlığı dikkat çekmektedir. Bu konuda yayınlanmış makalelere göz atıldığında antosiyaninin daha çok sıcaklık ve ışık gibi çevresel etkenlerle bağlantıları araştırıldığı halde, NaCl stresi ile ilişkileri hakkında sınırlı sayıda incelemenin yapılmış olduğu saptanmıştır.

Bu araştırmada NaCl ün bitkilerdeki fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri uyaran bir çevresel stres etmeni olduğu dikkate alınarak; öncelikle çimlenme, büyüme ve taze-kuru ağırlık oranları tespit edilen bitkilerin NaCl stresi altındaki fizyolojik yanıtları incelenmek istenmiştir. Çeşitli bitki kısımlarındaki klorofil ve antosiyanin içerikleri ile total protein ve peroksidaz aktiviteleri de tayin edilerek; NaCl ün neden olduğu biyokimyasal değişimler araştırılmaya çalışılmıştır.

Günümüzde oldukça cazip hale gelen antosiyaninlerin; bitkilerin vakuollerinde birikim gösteren antioksidan bileşikler olmalarından yola çıkılarak, NaCl stresi altında artan aktif oksijen türlerinin yok edilmesinde total peroksidaz enzimi ile bağlantıları da araştırılmak istenmiştir.

Böylece bu tez çalışmasında bir çevresel korunma etmeni olarak ileri sürülen antosiyanin moleküllerinin NaCl stresi karşısındaki biyosentez durumuna bakılarak hem literatürdeki bu açığın kapatılması hem de yüksek bitkilerde tuza dirençli türlerin seçimi ve özelliklerinin saptanmasına çalışılmıştır. Dolayısıyla gerek dünyanın gerekse Türkiye topraklarının önemli bir kısmını oluşturan ve tuzluluk açısından tarımsal üretim için elverişsiz olan bölgelerin gelecekteki verimliliğine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

TEC YÜKSEK LİSE
DOLU

II. MALZEME ve YÖNTEM

II.1. Bitki Materyali ve Tuz Uygulamaları

Bu çalışmayı oluşturan deneylerde bitki materyali olarak domates (*Lycopersicon esculentum* Miller) ve kırmızı lahana (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *rubra* DC.) fideleri kullanılmıştır. Bu fidelerin tohumları Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Deney materyali olarak kullanılan domates ve kırmızı lahana bitkileri gelişimlerinin her aşamasında (çimlenme ve büyüme) çeşitli konsantrasyonlardaki NaCl serileri ile muamele edilmişlerdir.

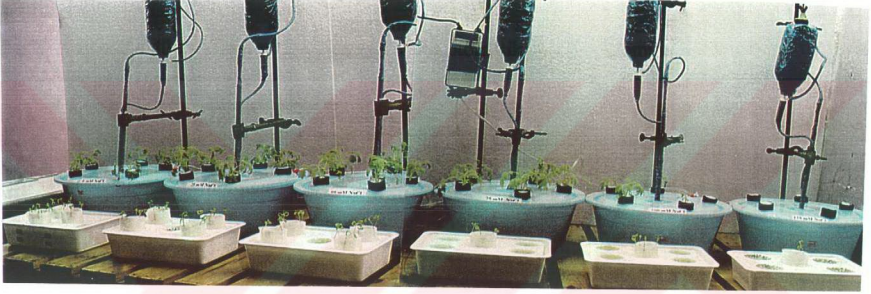
Bitkilerin aynı zamanda besin stresinden etkilenmemeleri için bütün deneylerde kontrol (0 = tuz içermeyen seri) olarak Hoagland besi çözeltisi [149] (Tablo II.1.1) kullanılmıştır. NaCl ün bitkilerdeki etkilerinin daha kolay ortaya çıkabilmesi için kontrol olarak seçilen Hoagland çözeltisi 1/5 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. En uygun konsantrasyon olarak seçilen 50 ve 100 mM tuz serileri ise 1/5 oranında sulandırılmış Hoagland besi çözeltisi içerisinde NaCl ün çözündürülmesi ile (Tablo II.1.2) hazırlanmıştır.

Başlangıçta hazırlanan kontrol ve 25, 50, 100, 125 mM NaCl serilerinde yetiştirilen bitkilerden elde edilen deneysel verilerin 25-50 mM ile 75-100 mM NaCl arasında önemli farklılıklar göstermediği saptanarak bu ara seriler (25 ve 75 mM NaCl) su kültürü düzeneğinden (Resim II.1.1) çıkarılmıştır. 125 mM NaCl de ise bitkilerin çimlenme ve gelişimlerinin büyük ölçüde (~ %85 oranında) gerilediği gözlemlenerek düzeneğe alınmamıştır.

%70 etil alkolde 5 dakika yüzey sterilizasyonu yapılan domates ve kırmızı lahana tohumları 24 saat akar musluk suyu altında tutulduktan sonra distile sudan geçirilerek tuz uygulamalarına hazır hale getirilmişlerdir. 15 cm lik büyük petri kaplarına uygun olarak kesilip yerleştirilen çift kat filtre kağıtları düzenli olarak kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri ile eşit miktarlarda (3 ml) ıslatılmıştır. Herbir konsantrasyon serisi için 10 petri seçilmiş ve herbir petriye 20 şer domates; 30 ar tane de kırmızı lahana tohumu 1 cm lik aralıklarla ekilmiştir.

Tohumlar önce radikulanın çıkışına kadar (~2 gün) 25°C etüvde bekletilmiş sonra çimlenme tamamlanıncaya kadar büyüme odasında tutulmuşlardır. Çimlenmeleri tamamlandıktan sonra fideler petrilerden çıkarılıp kağıt rulolar arasına yerleştirilerek kontrol ve 50, 100 mM NaCl çözeltileri içeren 2 litrelik kaplara alınmışlardır. Burada boyları çok küçük olan domates ve kırmızı lahana fidelerinin bir süre büyümeleri sağlanmıştır.

Fideler belli bir uzunluğa geldikten sonra ise otomatik olarak havalandırılması sağlanan özel su kültürü düzeneğine (**Resim II.1.1**) alınmışlardır. Bitkilerin, belli bir zaman dilimi içinde, besi suyundan absorpladıkları mineral tuzların miktarı ile transpirasyonla atılan su miktarının doğru orantılı olmaması nedeniyle [150], tuz konsantrasyonunun giderek artmasının önüne geçebilmek için çalışma düzeni **Resim II.1.1**'de gösterilen otomatik sulama sistemi kullanılmıştır.



Resim II.1.1: NaCl çözeltilerinin konsantrasyonlarını sabit tutmak amacıyla düzenlenen otomatik sulama sisteminin görünümü.

Böylece, bitkilere verilen mineral tuzların, mümkün olduğu kadar sabit konsantrasyonda kalmasına çalışılmıştır. 6 litre Hoagland çözeltisi içeren kapların herbirine 10 ar bitki konulmuştur [151].

Bitkiler kontrol ve 50, 100 mM NaCl içeren su kültürü kaplarında 12 saat aydınlık periyotta $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 saat karanlık periyotta $17 \pm 2^\circ\text{C}$ da olmak üzere büyüme odasında 9000 lux ışık şiddeti altında yetiştirilmişlerdir

Fideler ilk yaprakların çıkması ve NaCl ün belli etkilerinin görülmeye başlamasıyla (30 günlük iken) fizyolojik analizleri yapılmak üzere hasat edilmişlerdir. Bütün deneylerde herbir fide 3 kısma ayrılarak incelenmiştir.

Tablo II.1.1: Hoagland Çözeltisi: Tabloda görülen mineral tuzların, deiyonize su ile hazırlanan stok çözeltilerden, aşağıda belirtilen miktarlarda alınarak deiyonize suya eklenmiş ve son hacim deiyonize su ile 1000 ml ye tamamlanmıştır.

Mineral tuzlar	Konsantrasyon	1 litre için alınacak miktar
Ca (NO ₃) ₂	1 M	5 ml
KNO ₃	1 M	5 ml
MgSO ₄	1 M	2 ml
KH ₂ PO ₄	1 M	1 ml
FeEDTA ^(*)	0.1 M	1 ml
Mikro elementler	bakınız ^(**)	1 ml

Kontrol olarak seçilen Hoagland çözeltisi bitkilerde NaCl ün etkilerinin daha kolay ortaya çıkabilmesi için 1/5 oranında seyreltilerek kullanılmıştır.

Tablo II.1.2: NaCl konsantrasyon serileri.

Bitkilere Uygulanan Tuzun Tipi	Konsantrasyonu	1 litre için alınan miktar (g)
NaCl	Kontrol	-
	50 mM	2.922
	100 mM	5.844

NaCl serileri, tabloda belirtilen miktarlarda NaCl ün tartılarak 1/5 oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltileri içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

^(*) Fe EDTA (etilen diamin tetra asetik asitin Fe kompleksi) stok çözeltide 5 mg/ml Fe içerecek şekilde hazırlanmıştır.

^(**) Mikro elementleri içeren stok çözeltinin 1 litresinde bulunan mineral tuzların miktarları: 2.86 g H₃BO₃, 1.81 g MnCl₂ . 4 H₂O, 1.1 g ZnCl₂, 0.05 g CuCl₂, 0.025 g Na₂MoO₄.

II. 2. Çimlenme Yüzdesi

Kontrol ve 50, 100 mM lık NaCl çözeltileri ile sulanan petrilerdeki tohumların çimlenmeleri sabit kalana kadar günlük olarak izlenmiş ve sayıları yüzde olarak ifade edilmiştir.

II. 3. Büyüme Oranı

Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanan fidelerin kök ve gövde uzunlukları milimetrik taksimatlı cetvel kullanılarak ayrı ayrı ölçülmüştür.

II. 4. Taze ve Kuru Ağırlık Tayini

Farklı NaCl konsantrasyonlarında yetiştirilen fideler darası önceden alınmış alüminyum folyo ile tartılarak taze ağırlıkları alınmış daha sonra 89°C etüvde, ağırlık sabit kalıncaya kadar (4-5 gün) kurutulmuştur.

II. 5. Klorofil Tayini

Bitki kısımları taze ağırlıkları alındıktan sonra bir miktar CaCO_3 tozu ve %80 aseton ilave edilerek ekstre edilmişlerdir. Ekstre 3000 g de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvının (supernatant) hacmi ölçülmüştür. Ham klorofil ekstresinin 645 ve 663 nm dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri Arnon [152] formülünde yerine konularak örneklerin 1 gram taze ağırlığındaki klorofil içerikleri tayin edilmiştir.

II. 6. Antosiyanin Tayini

Taze ağırlıkları alınan bitki kısımları Mancinelli [153] metoduna göre %1 oranında asitlendirilmiş 18 ml metanolde ekstre edilmiştir. Ekstreler arasına çalkalanarak 2 gün 3-5°C buzdolabında bekletildikten sonra filtre kağıdından süzülmüş ve çözeltilerdeki antosiyanin içeriği spektrofotometrede 530 nm dalga boyunda ölçülerek optik yoğunluk olarak ifade edilmiştir. Ekstredeki klorofil yıkım ürünlerinin de bu dalga boyunda absorpsiyon vereceği gözönüne alınarak örneklerin 657 nm deki değerleri de ölçülmüş ve $(A_{530} - 0.33 A_{657})$ formülünde yerine konularak örneklerin birim taze ağırlığındaki antosiyanin içeriği tayin edilmiştir.

II.7. Total Protein Miktarının Tayini

Total protein analizi için yine kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış fideler 3 kısma ayrılarak herbirinin taze ağırlıkları alınmıştır. Bitki kısımları 1.5 ml pH 7.0 fosfat tamponu kullanılarak buz kalıpları içindeki soğuk havanda sıvı hale gelene kadar ezilmiştir. Mikrotüplere alınan homojenatlar 13.000 devir/dakika 4°C da 30 dakika santrifüj edilmiştir. Suda çözünen proteinleri içeren üst sıvı (supernatant) kısmı yeni mikrotüplere alınarak protein miktarı ve enzim aktivitesi ölçülmek üzere -20°C da saklanmıştır. Protein miktarının belirlenmesi Bradford [154] yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemde bovin serum albuminin (BSA) suda çözülerek hazırlanan 16 mg/ml stok çözeltisinden 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1600 µl alınarak 0.1 ml ye tamamlanmıştır. BSA'nın bu farklı konsantrasyonlarının 595 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri ölçülerek standart protein eğrisi çizilmiştir. 0.1 ml protein içeren supernatant Bradford tamponu ile 5 ml ye tamamlanarak 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Elde edilen absorpsiyon değerleri standart eğride yerine konularak bu absorpsiyonlara karşılık gelen total protein miktarı belirlenmiştir.

II. 8. Peroksidaz Aktivitesinin Spektrofotometrik Tayini

Taze ağırlıkları alınan bitki kısımlarının protein izolasyonunda anlatıldığı şekilde ekstraksiyonları yapılarak santrifüj edilmişlerdir. Üst sıvıda bulunan peroksidaz örnekleri -20°C da saklanmıştır. Peroksidaz aktivitesinin spektrofotometrik ölçümü için peroksidaz ekstraktlarından 100 µl alınarak üzerine içinde %0.1 H₂O₂ ve %0.25 guaiakol bulunan 1 ml 0.1 M pH 7.0 fosfat tamponu eklenmiştir. Hazırlanan karışımın 2 dakika içerisinde 15 saniye aralıklarla 470 nm dalga boyundaki absorpsiyonları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması hesaplanarak 1 gram bitki örneğindeki peroksidaz enziminin 1 dakikadaki aktivitesi tayin edilmiştir.

II . 9. İstatistiksel Hesaplamalar

Araştırmada yapılan deneylerde farklı sayıdaki ekstrakt üzerinde ölçüm yapılmış ve standart sapmalar aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\bar{X} = \sum X_i / N$$

$\bar{X}$: Aritmetik ortalama

$\sum X_i$: Değerlerin toplamı (birinciden N'inciye kadar değişkenin bütün değerlerinin toplamı.)

N: Tekrarlanan deney sayısı

$$s = \sqrt{\sum X_i^2 / N}$$

s= Standart sapma

x_i = Sapma değeri

III. BULGULAR

Petrilerde çimlendirilen domates ve kırmızı lahana tohumlarından iyi gelişenleri seçilerek su kültürü düzeneğine aktarılmıştır. Fideler NaCl stresinin belirtilerinin görülmeye başlanmasıyla fizyolojik ve biyokimyasal analizleri yapılmak üzere hasat edilmişlerdir. Bu belirtilerin ortaya çıkmasının fidelerde yaprakların gelişimi ve kotiledon senesensinin başlamasına kadar sürdüğü kaydedilmiştir.

Yapılan gözlemler sonucunda, domates ve kırmızı lahana bitkilerinde yaprak gelişimi ile kotiledon senesensi başlangıçlarının birbirinden bazı farklılıklar gösterdiği saptanmıştır.

Kontrol ve 50 mM NaCl serilerindeki 6 günlük domates ve kırmızı lahana fidelerinde ilk yaprakların gelişmeye başladıkları, 100 mM NaCl de ise bunun domateste 10. güne, kırmızı lahanada ise 20. günlere kadar sürdüğü gözlenmiştir (Resim III.1,3).

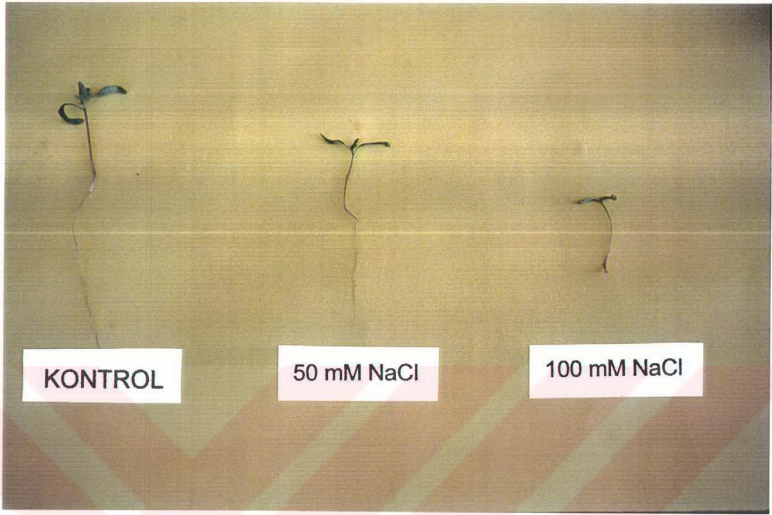
Domates bitkisinde kotiledonlar daha geç senesense uğrarken (bütün serilerde 30. günden sonra); 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kotiledonlarında senesens belirtilerinin ortaya çıkmaya başladığı kaydedilmiştir (Resim III.2,4).

Bu nedenle, fidelerin NaCl stresine yanıtlarının karşılaştırmalı olarak incelenebilmesi için her iki bitki de 30 günlük vegetatif evredeyken hasat edilmişlerdir.

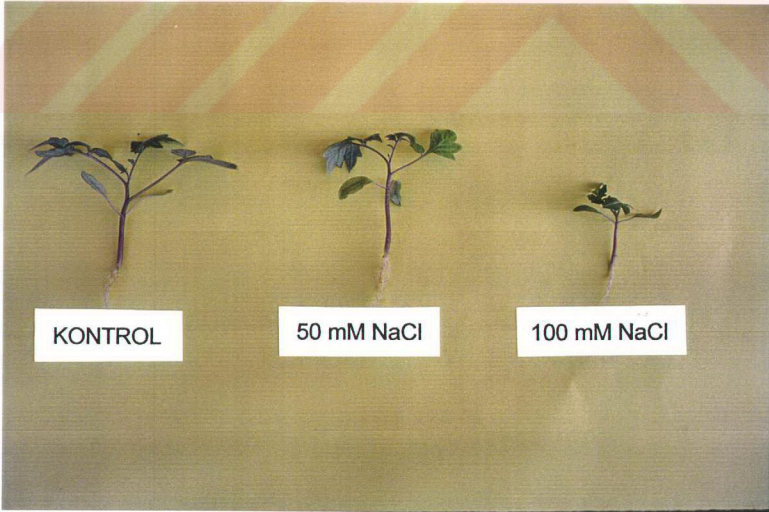
Bütün deneylerde domates ve kırmızı lahana fideleri kök, hipokotil ve kotiledon olmak üzere 3 kısımda incelenmiştir.

Epikotil 30 günlük fidelerde fazla gelişmediği için üzerinde gözlem yapılamamış ve deneysel materyal olarak alınmamıştır (Resim III.2,4). Yapraklar ise 30 günlük domateste oldukça iyi gelişmiş olmasına rağmen kırmızı lahanada henüz çıkmaya başladıkları ve çok küçük oldukları için karşılaştırma yapmaya uygun bulunmamışlardır (Resim III.2,4).

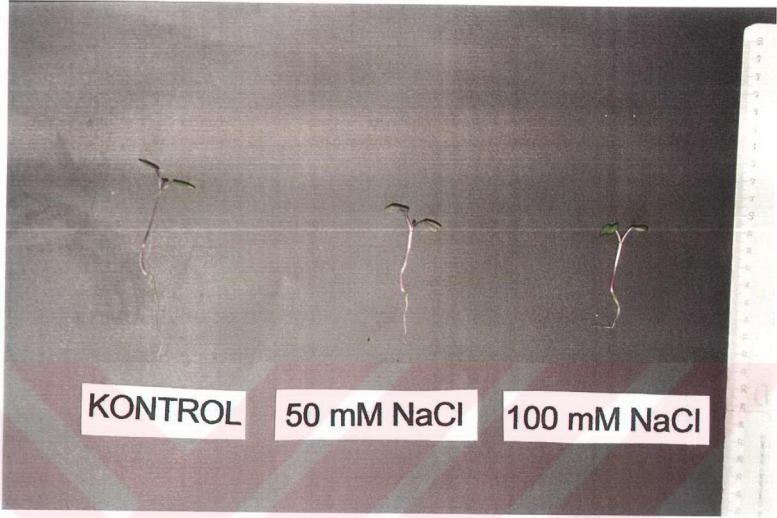
Kırmızı lahana bitkisi su kültürü düzeneğinde uzun süre yetiştirilemediği için yaprakların gelişimleri de daha fazla izlenememiş ve 30 günlük iken hasat edilmeleri gerekmiştir.



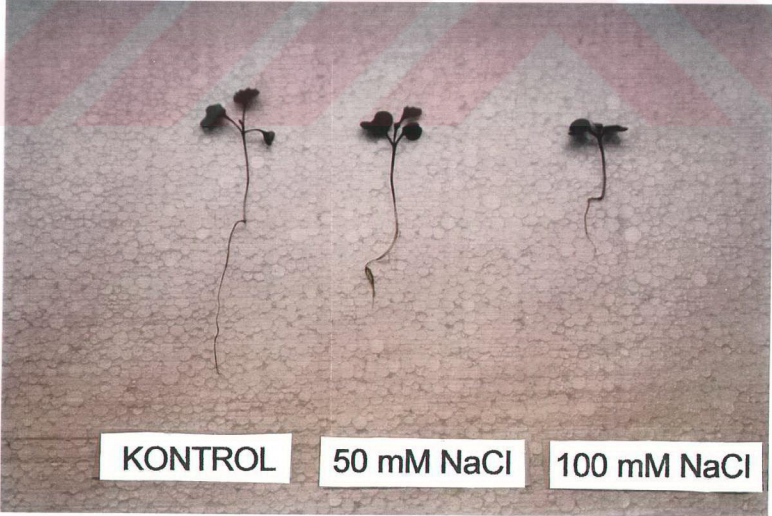
Resim III.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 6 günlük domates bitkilerinin genel görünümü.



Resim III.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 30 günlük domates bitkilerinin genel görünümü.



Resim III.3: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 6 günlük kırmızı lahana bitkilerinin genel görünümü.



Resim III.4: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen 30 günlük kırmızı lahana bitkilerinin genel görünümü.

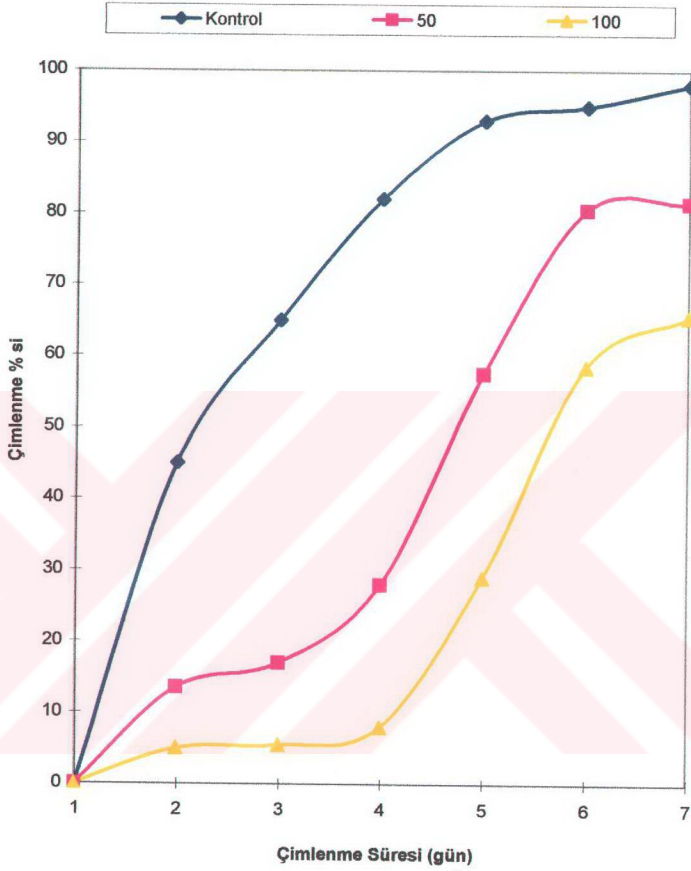
III.1. Çimlenme Yüzdesi

Herbir konsantrasyon serisi için 10 ar petri seçilmiş ve herbir petriye 20 şer tane domates; 30 ar tane de kırmızı lahana tohumu ekilmiştir. Petrilerdeki tohumlar ekildiği günden itibaren günlük olarak izlenmiş ve çimlenmeleri kaydedilmiştir. Domates ve kırmızı lahana tohumlarının NaCl serilerine ve günlere göre çimlenme yüzdeleri **Tablo III.1.1**, **Şekil III.1.1** ve **Tablo III.1.2**, **Şekil III.1.2** de belirtilmiştir.

Tablo III.1.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates tohumlarının çimlenme yüzdeleri.

Çözeltilerin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Çimlenen Ortalama Tohum Sayısı							Çimlenme % si
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün	
Kontrol	-	9,0±2,7	13,0±3,3	16,4±1,3	18,6±1,1	19,0±1,0	19,7±0,5	98,0
50	-	2,7±1,4	3,4±1,2	5,6±1,7	11,5±2,0	16,1±0,9	16,3±1,0	81,5
100	-	1,0±1,0	1,1±0,9	1,6±0,9	5,8±2,3	11,7±1,4	13,1±1,3	65,5

Tablo III.1.1 den de görüldüğü gibi 1. gün hiçbir seride çimlenme gerçekleşmezken; NaCl konsantrasyonu artışının çimlenen tohum sayısında gerilemelere yol açtığı saptanmıştır. Bu azalış 100 mM NaCl uygulanan tohumlarda daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. 5. gün 50 ve 100 mM NaCl de çimlenme olayında ani bir artış olduğu kaydedilirken; 6. ve 7. günlerde bu durumun daha yavaş seyrettiği gözlenmektedir (**Tablo III.1.1**, **Şekil III.1.1**).



Şekil III.1.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan domates tohumlarının çimlenme yüzdeleri.

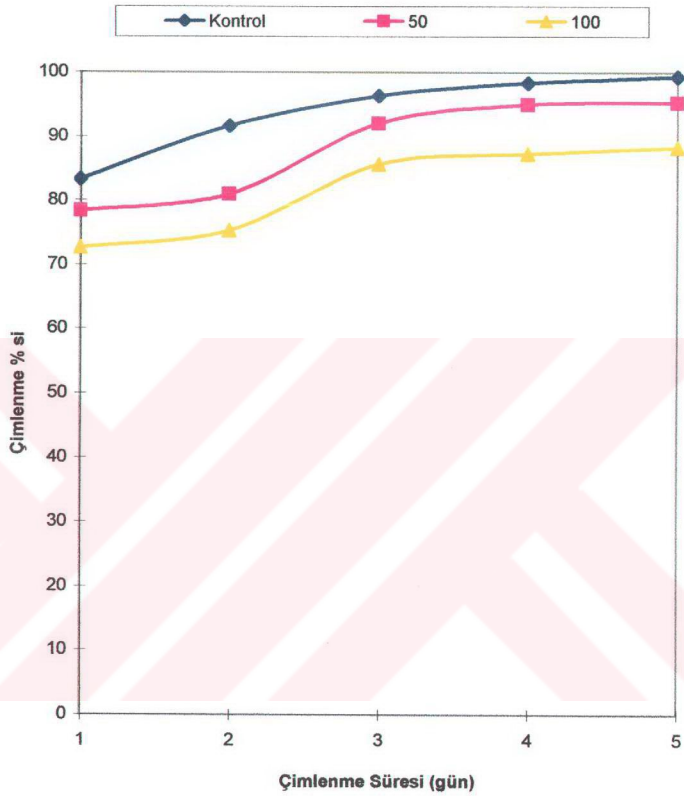
Şekil III.1.1 den de izlendiği gibi çimlenen tohum sayısının sabit kaldığı 7. günün sonunda en fazla çimlenme %98 ile kontrol serisindeki tohumlarda gerçekleşmiştir. 50 mM NaCl de %81.5 ile çimlenme yüzdesinde kısmi bir düşüş görülürken; 100 mM NaCl de çimlenmenin %65.5 ile belirgin oranda azaldığı kaydedilmiştir.

Kırmızı lahana tohumlarında ise 1. günden itibaren tüm serilerdeki tohumların önemli bir kısmının çimlendiği saptanmıştır (**Tablo III.1.2**).

Tablo III.1.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana tohumlarının çimlenme yüzdeleri.

Çözeltilinin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Çimlenen Ortalama Tohum Sayısı					Çimlenme % si
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	
Kontrol	25.0±1.00	27.5±0.11	28.9±0.57	29.5±0.54	29.8±0.33	99.33
50	23.5±1.00	24.3±0.50	27.6±0.58	28.5±0.50	28.6±0.56	95.53
100	21.8±1.14	22.6±0.44	25.7±0.50	26.2±0.55	26.5±0.45	88.33

NaCl konsantrasyonu artışının çimlenen tohum sayısında belirgin farklılıklara yol açmadığı izlenirken; günler arasında da çimlenme yüzdesi bakımından ani değişimlerin olmadığı kaydedilmiştir (**Tablo III.1.2, Şekil III.1.2**).



Şekil III.1.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl serileri uygulanan kırmızı lahana tohumlarının çimlenme yüzdeleri.

Şekil III.1.2 de görüldüğü gibi en fazla çimlenme %99.33 ile kontrolde meydana gelmiştir. 100 mM NaCl uygulanan tohumlarda %88.33 ile diğer serilere göre kısmi bir azalış izlenirken yine de çimlenen tohum sayısının sabit kaldığı 5. günün sonunda bütün serilerdeki çimlenme yüzdelerinin çok yüksek ve birbirine yakın olduğu gözlenmektedir.

III. 2. Büyüme Oranı

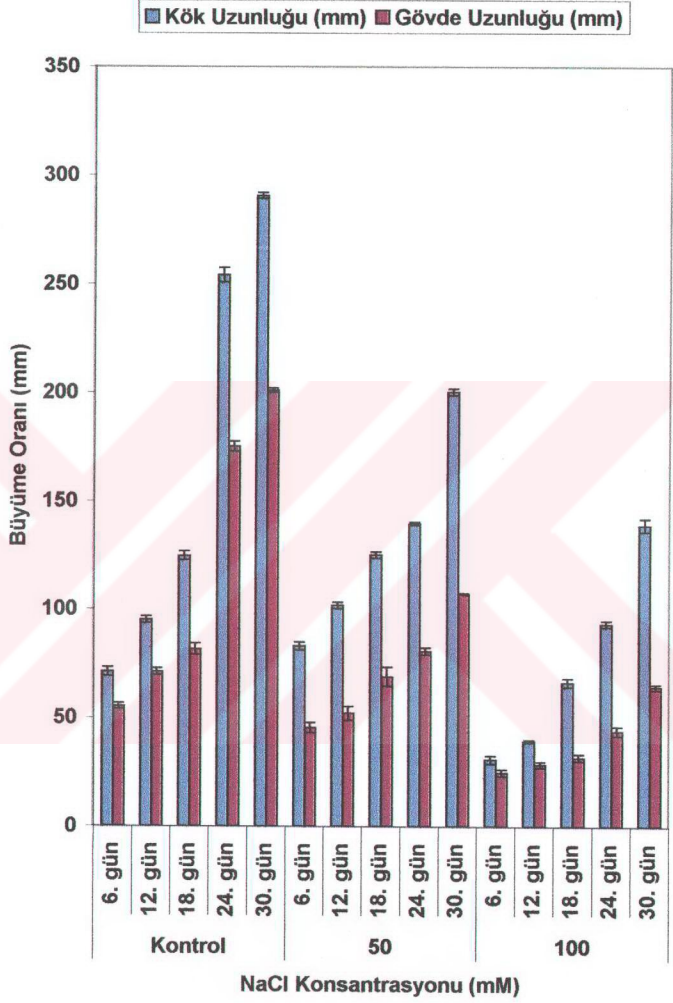
6 günlük domates ve kırmızı lahana fideleri rulo şeklindeki filtre kağıtlarının arasından çıkarılıp ilk kök ve gövde uzunlukları kaydedildikten sonra su kültürü düzeneğine alınmıştır. Büyüme oranları 6 gün aralıklarla 30 gün boyunca milimetrik olarak ölçülmüştür (**Tablo III.2.1**, **Şekil III.2.1** ve **Tablo III.2.2**, **Şekil III.2.2**).

Tablo III.2.1 de görüldüğü gibi 30 günlük domateste en fazla büyüme kontroldeki fidelerde meydana gelirken; NaCl konsantrasyonu artışının genel olarak kök ve gövde uzunluğunda gerilemelere yol açtığı izlenmektedir.

Tablo III.2.1 : Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış **domates fidelerinin** kök ve gövde uzunlukları.

Çözeltilinin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Ölçüm Aralıkları (gün)	Kök Uzunluğu (mm)	Gövde Uzunluğu (mm)
Kontrol	6	71.1 ± 1.3	55.2 ± 2.0
	12	95.1 ± 1.6	71.1 ± 1.6
	18	124.0 ± 2.7	81.6 ± 2.0
	24	254.0 ± 2.3	175.0 ± 3.3
	30	290.0 ± 1.0	201.0 ± 1.4
50	6	83.1 ± 2.3	45.3 ± 1.9
	12	101.0 ± 3.2	52.0 ± 1.4
	18	124.0 ± 4.4	68.8 ± 1.4
	24	139.0 ± 1.6	80.6 ± 0.7
	30	200.0 ± 0.4	107.0 ± 1.5
100	6	30.8 ± 1.6	24.7 ± 1.9
	12	39.3 ± 1.3	28.4 ± 0.6
	18	66.2 ± 1.6	31.7 ± 1.9
	24	93.3 ± 2.2	43.9 ± 1.4
	30	138.0 ± 1.2	64.2 ± 3.2

Domates bitkisinde NaCl uygulamaları sonucu görülen büyümedeki gerileme gövdede daha belirgin iken köklerin göreceli olarak bundan daha az etkilendiği de saptanmıştır (**Şekil III.2.1**).



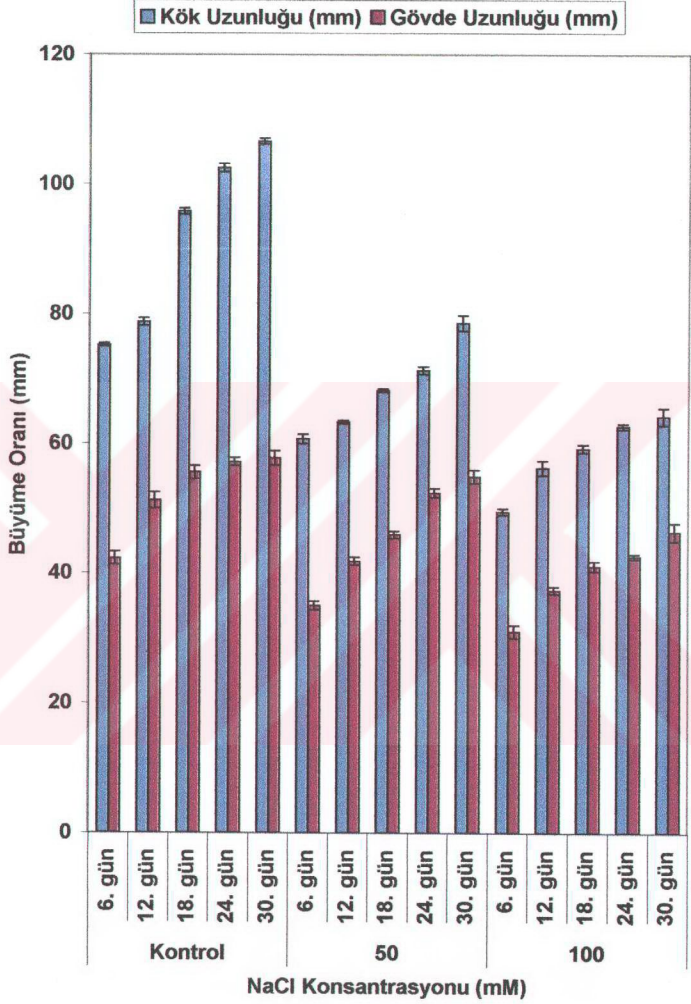
Şekil III.2.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış domates fidelerinin kök ve gövde uzunluk oranları.

Kırmızı lahanada yine en iyi gelişimin kontrolde yetişen fidelerde meydana geldiği saptanmıştır. NaCl serilerinde tutulan fidelerde ise kök ve gövde büyümesinin gerilediği izlenmektedir. Bu gerileme gövdede çok büyük farklılıklar göstermemesine karşın köklerde belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır (Tablo III.2.2, Şekil III.2.2).

Tablo III.2.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış kırmızı lahanada fidelerinin kök ve gövde uzunlukları.

Çözeltilerin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Ölçüm Aralıkları (gün)	Kök Uzunluğu (mm)	Gövde Uzunluğu (mm)
Kontrol	6	75.21 ± 0.64	42.26 ± 0.72
	12	78.76 ± 0.69	51.24 ± 0.25
	18	95.76 ± 0.58	55.56 ± 0.25
	24	102.5 ± 0.68	57.22 ± 0.58
	30	106.6 ± 1.00	57.75 ± 1.25
50	6	60.77 ± 1.11	35.00 ± 0.25
	12	63.32 ± 1.25	41.80 ± 0.68
	18	68.16 ± 1.00	45.96 ± 0.49
	24	71.26 ± 0.68	52.44 ± 0.64
	30	78.56 ± 1.18	54.93 ± 0.45
100	6	49.54 ± 1.00	31.65 ± 0.57
	12	56.26 ± 0.57	37.33 ± 1.12
	18	59.24 ± 1.98	41.86 ± 0.64
	24	62.63 ± 0.58	42.55 ± 0.52
	30	64.16 ± 1.54	46.33 ± 0.76

Kök ve gövdenin birbirine göre uzunlukları incelendiğinde 30 günlük fidelerde kontrol serisinde bunların normal oranlarda olduğu ancak 50 ve 100 mM NaCl serilerinde köklerin gövdeye göre fazla gelişmediği görülmektedir (Şekil III.2.2).



Şekil III.2.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış kırmızı lahan a fidelerinin kök ve gövde uzunluk oranları.

III.3. Taze ve Kuru Ağırlık Oranları

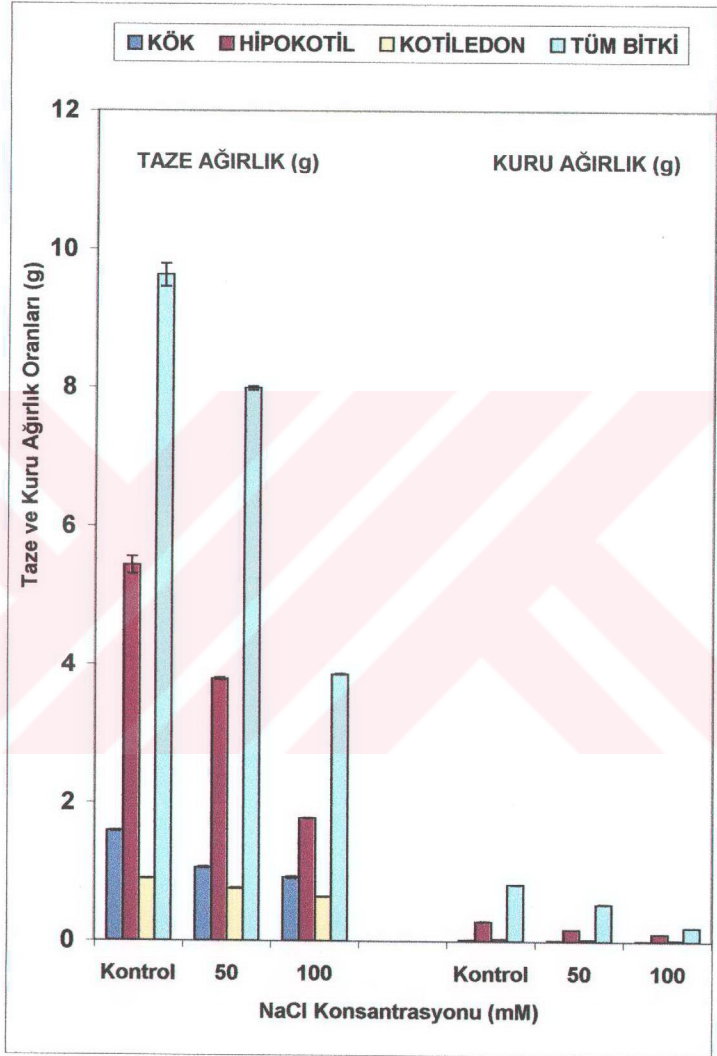
30 günlük domates ve kırmızı lahana fidelerinin taze-kuru ağırlıkları hem tüm bitkide hem de 3 kısma ayrılarak incelenmiştir. Elde edilen değerler **Tablo III.3.1**, **Şekil III.3.1** ve **Tablo III.3.2**, **Şekil III.3.2** de gösterilmiştir.

Tablo III.3.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış domates fidelerinin taze-kuru ağırlık oranları.

Çözeltilerin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Taze Ağırlık (g)			
	Kök	Hipokotil	Kotiledon	Tüm Bitki
Kontrol	1.584 ± 0.008	5.427 ± 0.126	0.895 ± 0.005	9.622 ± 0.172
50	1.058 ± 0.011	3.789 ± 0.018	0.755 ± 0.007	7.987 ± 0.026
100	0.911 ± 0.016	1.772 ± 0.007	0.633 ± 0.003	3.857 ± 0.009

Çözeltilerin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Kuru Ağırlık (g)			
	Kök	Hipokotil	Kotiledon	Tüm Bitki
Kontrol	0.017 ± 0.0005	0.279 ± 0.0019	0.031 ± 0.0009	0.812 ± 0.0035
50	0.011 ± 0.0003	0.168 ± 0.0007	0.023 ± 0.0002	0.533 ± 0.0025
100	0.009 ± 0.0002	0.104 ± 0.0005	0.018 ± 0.0005	0.198 ± 0.0011

Domates fidelerinin çeşitli kısımları ile tümünün taze ve kuru ağırlık oranlarının kontrolde en yüksek iken NaCl uygulamaları sonucu farkedilir düzeyde azaldığı görülmektedir (**Tablo III.3.1**, **Şekil III.3.1**).



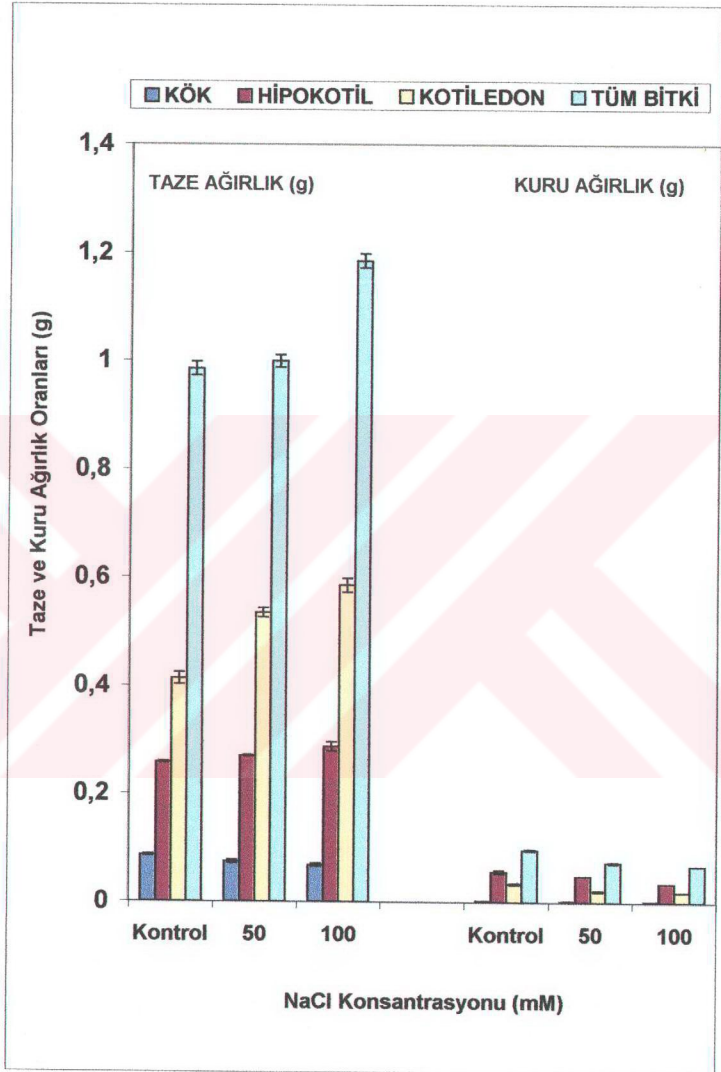
Şekil III.3.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış domates fidelerinin taze-kuru ağırlık oranları.

Kırmızı lahanada bitkisinde NaCl uygulamaları sonucunda köklerin taze ağırlıklarının azaldığı; hipokotil, kotiledon ve tüm bitkinin taze ağırlıklarının ise az miktarda arttığı kaydedilmiştir (Tablo III.3.2, Şekil III.3.2).

Tablo III.3.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış kırmızı lahanada fidelerinin taze-kuru ağırlık oranları.

Çözeltilinin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Taze Ağırlık (g)			
	Kök	Hipokotil	Kotiledon	Tüm Bitki
Kontrol	0.086 ± 0.001	0.258 ± 0.001	0.413 ± 0.011	0.985 ± 0.012
50	0.074 ± 0.003	0.270 ± 0.001	0.534 ± 0.008	0.999 ± 0.011
100	0.068 ± 0.002	0.287 ± 0.008	0.585 ± 0.013	1.085 ± 0.013
Çözeltilinin NaCl Konsantrasyonu (mM)	Kuru Ağırlık (g)			
	Kök	Hipokotil	Kotiledon	Tüm Bitki
Kontrol	0.0023 ± 0.0005	0.056 ± 0.00019	0.034 ± 0.0009	0.096 ± 0.0035
50	0.0019 ± 0.0003	0.048 ± 0.00017	0.022 ± 0.0002	0.073 ± 0.0025
100	0.0016 ± 0.0002	0.035 ± 0.00015	0.019 ± 0.0005	0.067 ± 0.0011

Kök, hipokotil ve kotiledon ile tüm bitkinin kuru ağırlık oranlarının ise NaCl uygulamaları sonucunda çok belirgin bir şekilde gerilediği saptanmıştır (Tablo III.3.2, Şekil III.3.2).



Şekil III.3.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış kırmızı lahana fidelerinin taze-kuru ağırlık oranları.

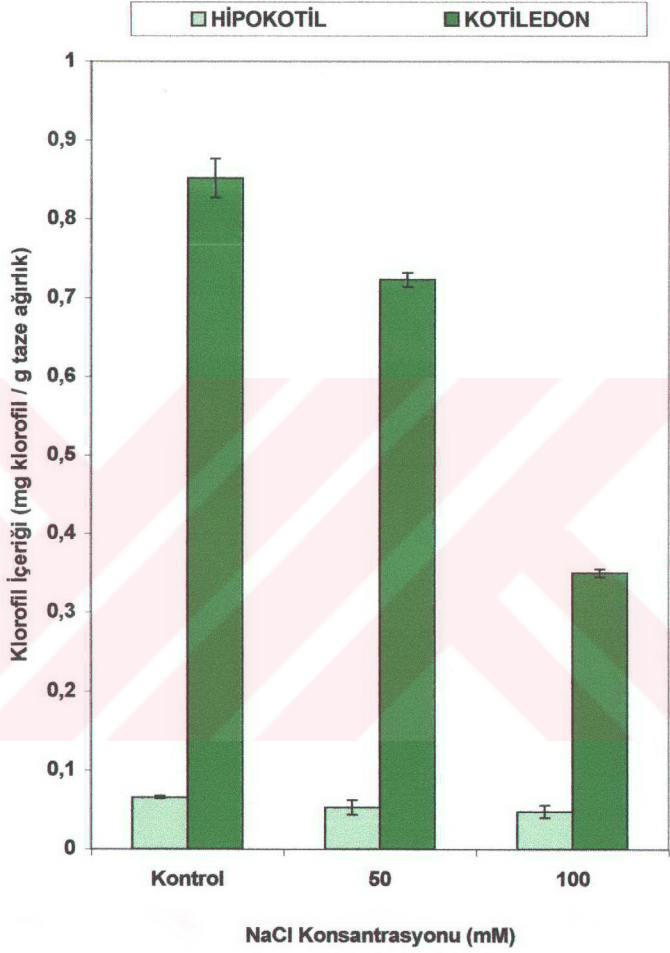
III.4. Klorofil İçeriği

Domates ve kırmızı lahana fidelerinin çeşitli kısımlarının birim taze ağırlığındaki klorofil miktarları Arnon [152] metoduna göre tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar **Tablo III.4.1**, **Şekil III.4.1** ve **Tablo III.4.2**, **Şekil III.4.2** de gösterilmiştir.

Tablo III.4.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Klorofil İçeriği (mg klorofil / g taze ağırlık)	
	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	0.065 ± 0.001	0.852 ± 0.025
50	0.052 ± 0.009	0.623 ± 0.009
100	0.047 ± 0.008	0.350 ± 0.005

Domateste klorofil tayini hipokotil ve kotiledon olmak üzere iki kısımda incelenmiştir. Kontrolde yetişen fidelerin kotiledonlarının yüksek miktarlarda klorofil içerdiği saptanırken; NaCl uygulamalarının bütün bitki kısımlarındaki klorofil miktarlarında önemli azalmalara neden olduğu da görülmektedir (**Tablo III.4.1**, **Şekil III.4.1**).



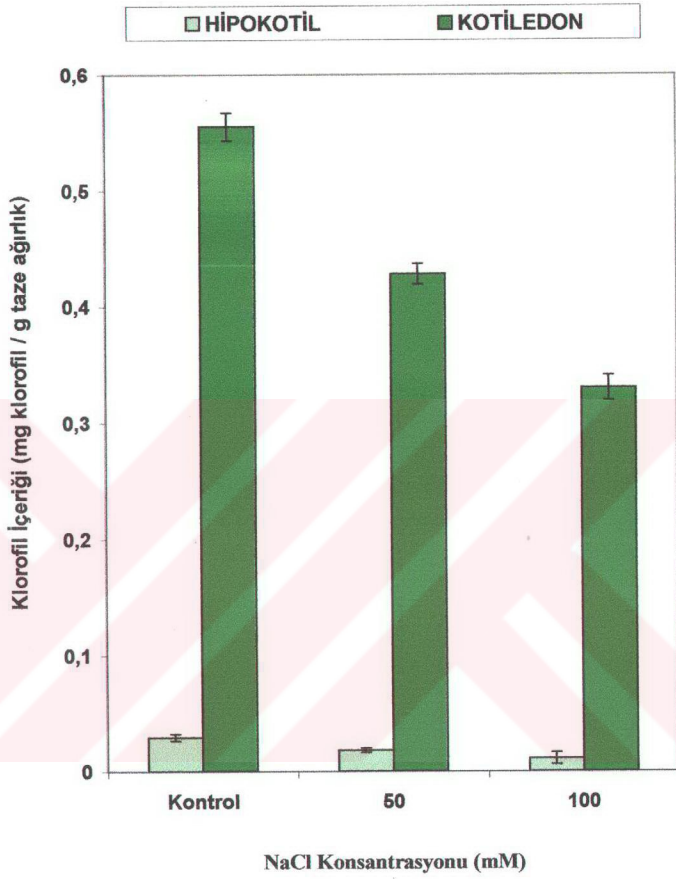
Şekil III.4.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.

Kırmızı lahana ise hipokotil ve kotiledon olmak üzere 2 kısımda incelenmiştir. Her iki bitki kısmında da en yüksek klorofil miktarı kontrol fidelerinde ortaya çıkarken; kotiledonların hipokotilden daha fazla klorofil içerdiği de görülmektedir (**Tablo III.4.2**).

Tablo III.4.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Klorofil İçeriği (mg klorofil / g taze ağırlık)	
	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	0.029 ± 0.003	0.555 ± 0.012
50	0.018 ± 0.002	0.428 ± 0.009
100	0.011 ± 0.005	0.330 ± 0.015

NaCl konsantrasyonu artışının yine klorofil içeriğinde azalmalara neden olduğu izlenmektedir (**Tablo III.4.2, Şekil III.4.2**).



Şekil III.4.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük **kırmızı lahana** fidelerinin hipokotil ve kotiledonlarındaki klorofil miktarları.

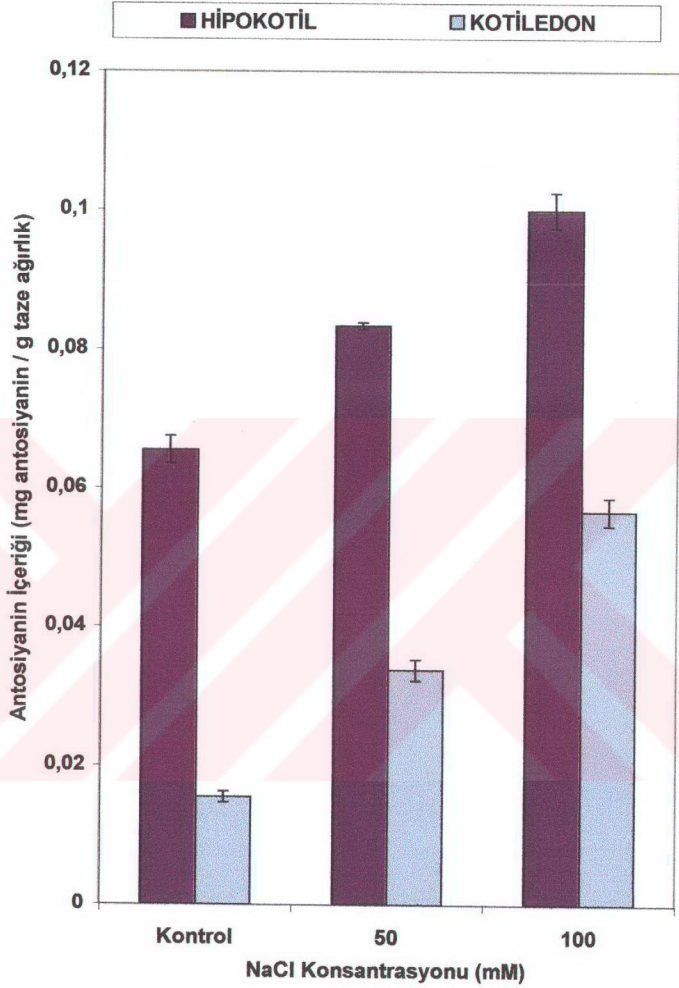
III.5. Antosiyanin İçeriği

Domates ve kırmızı lahanada incelenen bitki kısımlarının birim taze ağırlığındaki antosiyanin içeriği Mancinelli [153] metoduna göre tayin edilmiştir. Sonuçlar **Tablo III.5.1**, **Şekil III.5.1** ve **Tablo III.5.2**, **Şekil III.5.2** de gösterilmiştir.

Tablo III.5.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki antosiyanin miktarları.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Antosiyanin İçeriği (mg antosiyanin / g taze ağırlık)		
	KÖK	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	-	0.065 ± 0.0022	0.015 ± 0.0008
50	-	0.083 ± 0.0025	0.033 ± 0.0015
100	-	0.099 ± 0.0026	0.056 ± 0.0027

Domates bitkisinde antosiyanin içeriği en çok 100 mM NaCl serisinde yetiştirilen fidelerin hipokotillerinde bulunmuştur. NaCl uygulamaları sonucu bütün bitki kısımlarındaki antosiyanin miktarının arttığı gözlenmektedir. Kotiledonlarda da çok az miktarda antosiyanin birikimi olduğu saptanmıştır. Domatesin köklerinde antosiyanin oluşumuna rastlanmamıştır (**Tablo III.5.1**, **Şekil III.5.1**).



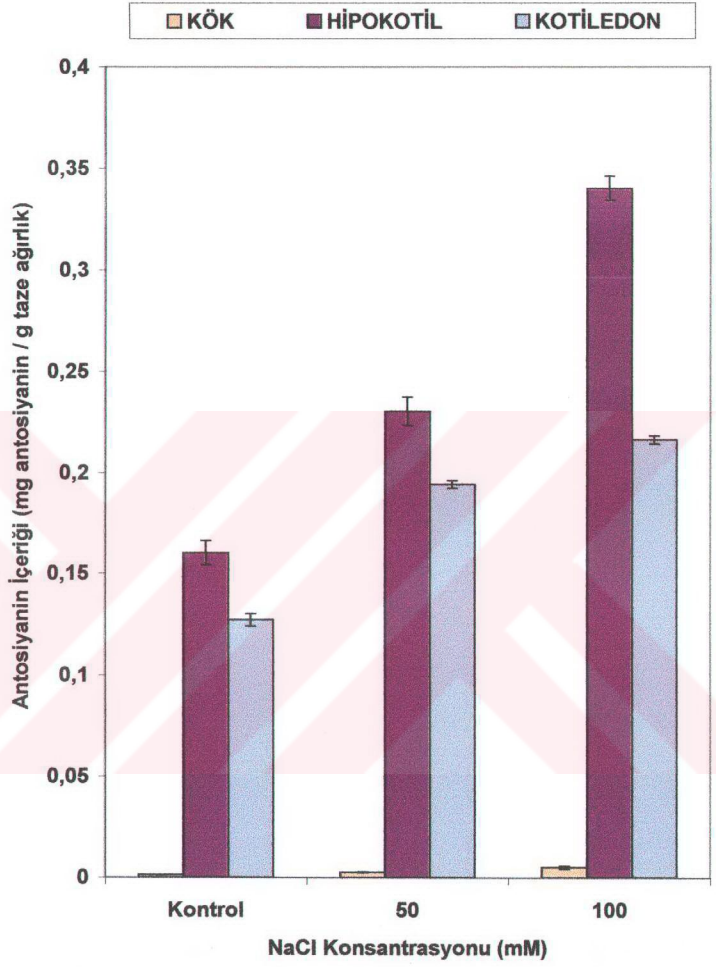
Şekil III.5.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.

Kırmızı lahana bitkisinde de en yüksek antosiyanin miktarı 100 mM NaCl serisinde yetiştirilen fidelerin hipokotillerinde ortaya çıkmıştır. Kotiledonların da belirgin oranda antosiyanin içerdiği saptanmıştır. Köklerde az miktarda antosiyanin oluşumuna rastlanmaktadır (**Tablo III.5.2**).

Tablo III.5.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Antosiyanin İçeriği (mg antosiyanin / g taze ağırlık)		
	KÖK	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	0.0018 ± 0.0001	0.2681 ± 0.0065	0.1274 ± 0.0098
50	0.0025 ± 0.0002	0.3358 ± 0.0070	0.1945 ± 0.0015
100	0.0035 ± 0.0007	0.4446 ± 0.0065	0.2169 ± 0.0090

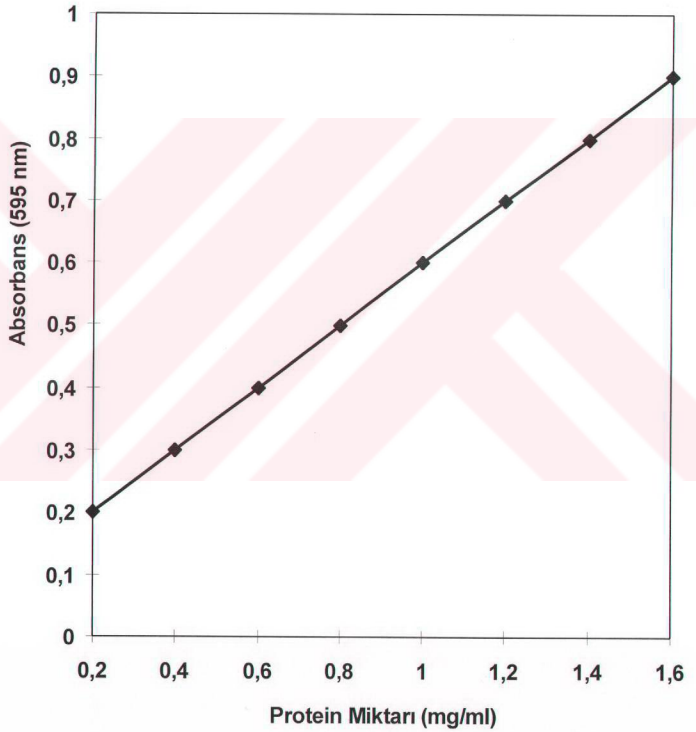
Tüm bitki kısımlarında antosiyanin içeriğinin NaCl uygulamaları sonucu arttığı gözlenmektedir (**Tablo III.5.2**, **Şekil III.5.2**).



Şekil III.5.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonlarındaki antosiyanin miktarları.

III.6. Protein İçeriği

Domates ve kırmızı lahana fidelerinin çeşitli kısımlarının total çözünür protein miktarları Bradford [154] yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen spektrofotometrik ölçümler standart protein grafiğinden (Şekil III.6.1) yararlanılarak herbir bitki kısmındaki protein miktarları saptanmıştır (Tablo III.6.1, Şekil III.6.2, Tablo III.6.2, Şekil III.6.3).



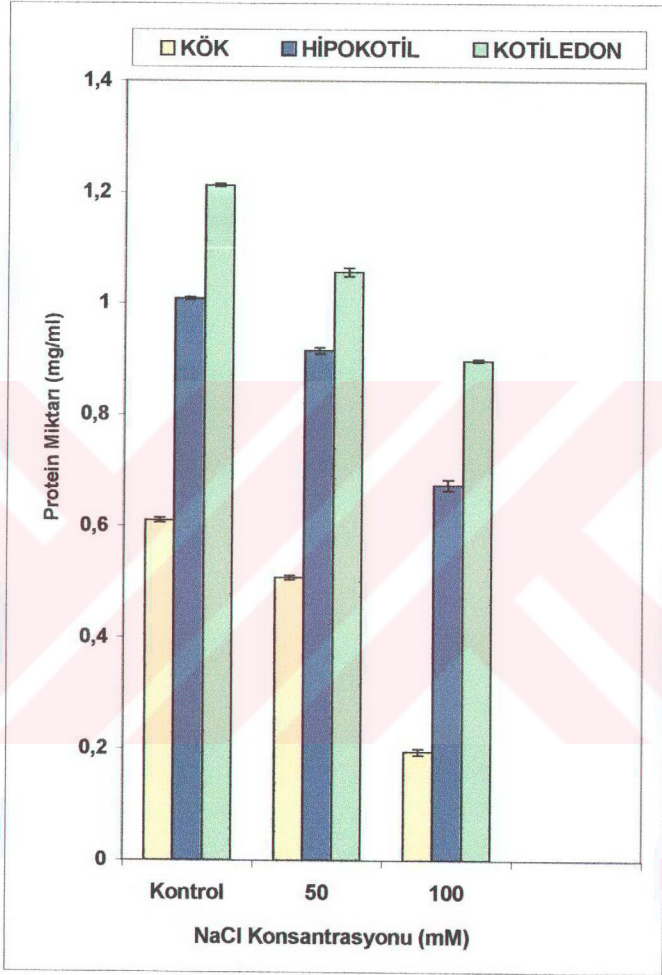
Şekil III.6.1: Protein miktarlarının belirlenebilmesi için kullanılan standart protein grafiği.

30 günlük domates fidelerinde en fazla protein miktarı kontroldeki fidelerin kotiledonlarında saptanmıştır (**Tablo III.6.1**).

Tablo III.6.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki protein miktarları.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/ml)		
	KÖK	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	0.618 ± 0.0045	1.008 ± 0.0025	1.212 ± 0.0035
50	0.507 ± 0.0044	0.915 ± 0.0056	1.056 ± 0.0075
100	0.195 ± 0.0055	0.673 ± 0.011	0.897 ± 0.0032

NaCl uygulamalarının bütün bitki kısımlarındaki protein içeriğini azalttığı dikkat çekmektedir (**Tablo III.6.1, Şekil III.6.2**).



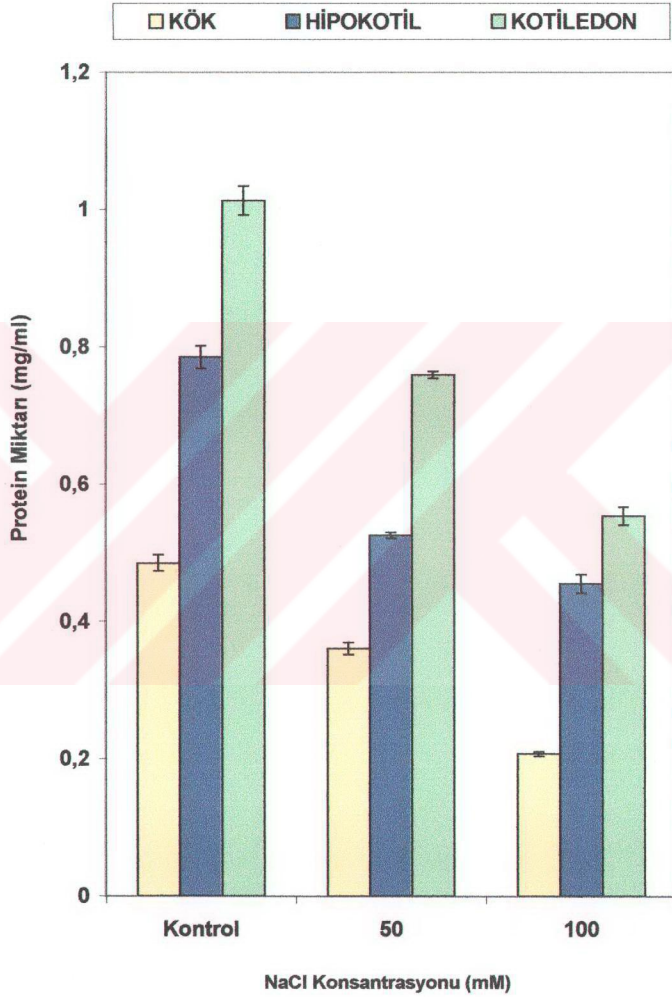
Şekil III.6.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki protein miktarları.

Kırmızı lahanada da kök, hipokotil ve kotiledonların protein analizleri yapılmış ve en yüksek değerler yine kontrolde yetişen fidelerin kotiledonlarında bulunmuştur (**Tablo III.6.2**).

Tablo III.6.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahanada fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonlarındaki protein miktarları.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/ml)		
	KÖK	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	0.485 ± 0.011	0.785 ± 0.016	1.013 ± 0.021
50	0.360 ± 0.009	0.525 ± 0.004	0.759 ± 0.005
100	0.207 ± 0.003	0.455 ± 0.013	0.553 ± 0.012

NaCl uygulamaları sonucu bütün bitki kısımlarındaki protein miktarının kontrole göre azaldığı kaydedilmiştir (**Tablo III.6.2, Şekil III.6.3**).



Şekil III.6.3: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahan a fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonlarındaki protein miktarları.

III.7. Peroksidaz Aktivitesi

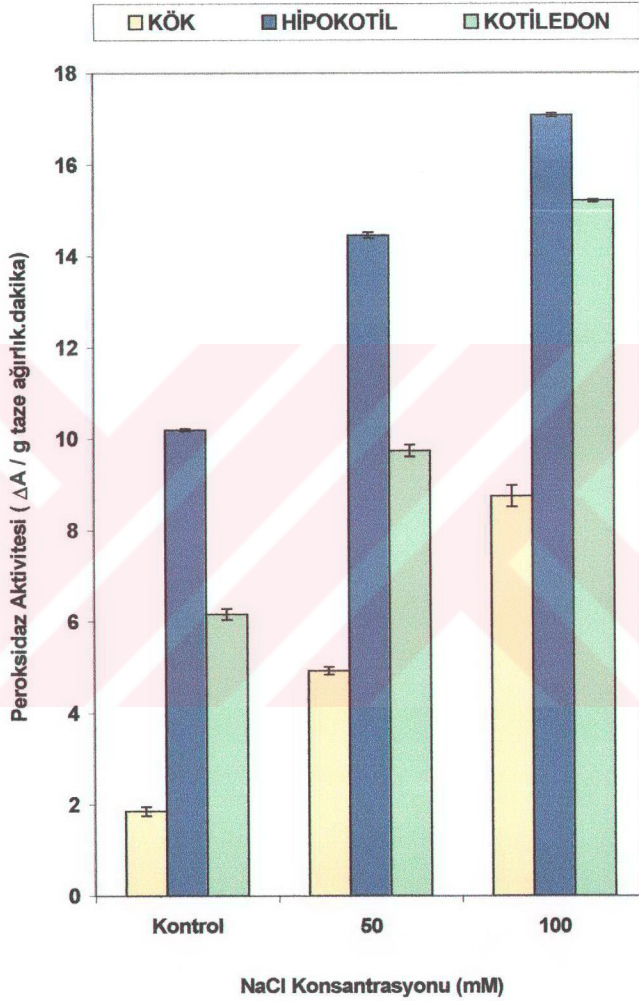
Domates ve kırmızı lahana fidelerinin çeşitli kısımlarının birim taze ağırlığındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri 470 nm dalgaboyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (**Tablo III.7.1**, **Şekil III.7.1** ve **Tablo III.7.2**, **Şekil III.7.2**).

Domateste kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktivitesi tayin edilmiştir (**Tablo III.7.1**).

Tablo III.7.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük **domates fidelerinin** kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Peroxidaz Aktivitesi (ΔA / g taze ağırlık.dakika)		
	KÖK	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	1.85 ± 0.11	10.18 ± 0.02	6.16 ± 0.12
50	4.92 ± 0.07	14.44 ± 0.06	9.72 ± 0.13
100	8.73 ± 0.23	17.05 ± 0.04	15.19 ± 0.02

100 mM NaCl serisinde yetişen fidelerin hipokotillerindeki değerlerin diğerlerine göre daha fazla çıktığı saptanmıştır. NaCl uygulamaları sonucu bütün bitki kısımlarındaki peroksidaz aktivitesinin arttığı görülmektedir (**Tablo III.7.1**, **Şekil III.7.1**).



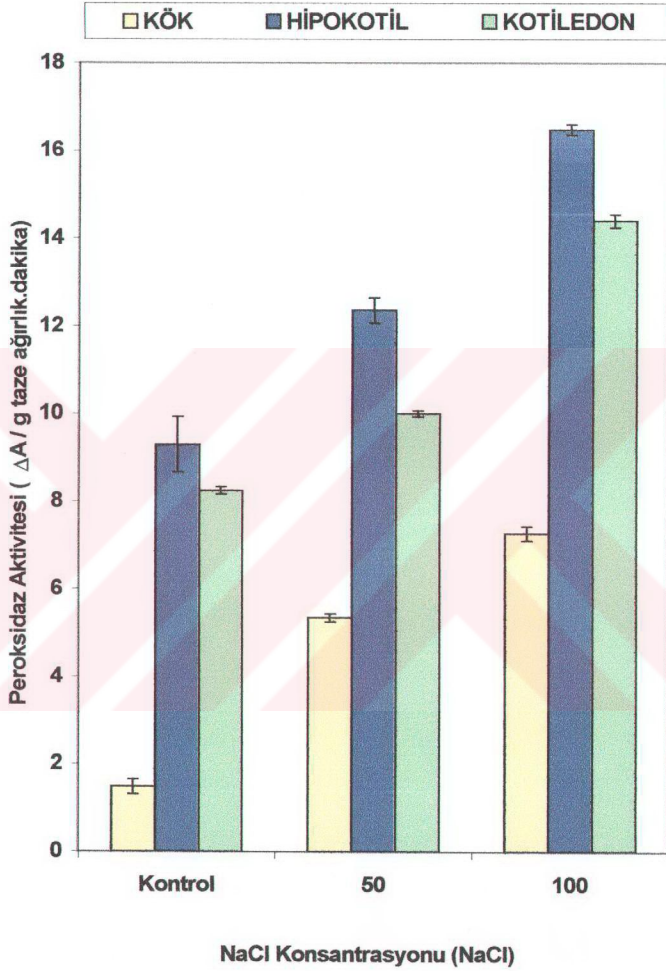
Şekil III.7.1: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük domates fidelerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.

Kırmızı lahana bitkisinin de kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri incelenmiştir (**Tablo III.7.2**).

Tablo III.7.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.

NaCl Konsantrasyonu (mM)	Peroksidaz Aktivitesi (ΔA / g taze ağırlık .dakika)		
	KÖK	HİPOKOTİL	KOTİLEDON
Kontrol	1.48 ± 0.17	9.29 ± 0.63	8.24 ± 0.08
50	5.34 ± 0.08	12.35 ± 0.28	10.04 ± 0.07
100	7.26 ± 0.16	16.47 ± 0.12	14.39 ± 0.15

Peroksidaz aktivitesinin 100 mM NaCl serisindeki fidelerin hipokotillerinde daha yüksek çıktığı görülmektedir. NaCl uygulamalarının kırmızı lahana bitkisinde de peroksidaz aktivitesini arttırdığı dikkat çekmektedir (**Tablo III.7.2, Şekil III.7.2**).



Şekil III.7.2: Kontrol ve 50, 100 mM NaCl uygulanmış 30 günlük **kırmızı lahana** fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonlarındaki peroksidaz enzimi aktiviteleri.

IV. TARTIŞMA ve SONUÇ

NaCl, bilindiği gibi bitkilerde birçok fizyolojik ve biyokimyasal değişimi uyaran bir çevresel stres etmenidir [155]. NaCl ün yol açtığı fizyolojik değişimler stresin düzeyi ve süresine bağlı olarak tuzun toksik ve osmotik etkilerine dayanmaktadır [15,16, 17].

Tuz stresinin bitkilerdeki fizyolojik yanıtlarını incelemek üzere öncelikle çimlenme yüzdeleri ile büyüme ve taze-kuru ağırlıkları tayin edilmiştir.

Domates bitkisinde en fazla çimlenme %98 ile kontroldeki tohumlarda meydana gelmiştir. NaCl uygulamaları sonucu hem çimlenme süresinde gecikmeler oluşmuş hem de çimlenen tohum sayısında belirgin bir düşüş kaydedilmiştir. İlk gün hiçbir seride çimlenmenin gerçekleşmediği görülmüştür. Çimlenen tohum sayısının sabit kaldığı 7. günün sonunda 100 mM NaCl serisinde çimlenme oranı %65.5 olarak belirlenmiştir.

Kırmızı lahanada ise daha ilk günden itibaren tohumların büyük bir kısmının çimlendiği gözlenmiştir. Çimlenen tohum sayısının sabit kaldığı 5. günün sonunda en fazla çimlenme %99.33 ile yine kontrolde meydana gelmiştir. 50 mM NaCl de %95.53, 100 mM NaCl de ise %88.33 çimlenme oranları ile NaCl konsantrasyonu artışının kırmızı lahanada tohumlarında önemli değişikliklere yol açmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, domates tohumlarının çimlenme aşamasında tuz duyarlı iken, kırmızı lahanada tohumlarının daha dirençli olduğu gözlenmiştir. Domates tohumlarının testaları mekaniksel olarak zayıf yapıda olduğu için [33] NaCl stresine doğrudan maruz kalmışlardır. Bu durumda NaCl ün toksik ve osmotik etkilerini tolere etmeleri gelişmiş testa ve kotiledonlara sahip olan kırmızı lahanada tohumları kadar başarılı olamamıştır. Çok yüksek NaCl konsantrasyonlarının ise tohumlarda proteinlerin hidrasyonunu engellerken [156], enzim aktivitelerindeki değişimleri teşvik ettikleri [157] bildirilmektedir. Bu çalışmada da 100 mM NaCl ün üzerindeki konsantrasyonlarda her iki bitkinin tohumlarında çimlenme olayının ya oldukça gerilediği ya da tamamen inhibe olduğu ortaya konmuştur.

Çimlenme ile ilgili olarak elde edilen bu sonuçlar domates bitkisinde izlenen literatür bulguları ile paralellik göstermektedir. NaCl artışının çimlenme yüzdesini daha az etkilediği saptanan ve bununla ilgili sınırlı sayıda literatüre ulaşılan kırmızı lahanada ise bu özelliği ile üzerinde başka araştırmaları gerektiren bir konu olarak dikkat çekmektedir.

Büyüme ile ilgili yapılan çalışmalarda ise domates ve kırmızı lahana fidelerinin her ikisinde de en iyi gelişimin kontrolde olduğu gözlenmiştir. Domates bitkisinde 50 mM NaCl uygulamasının büyümede bir miktar gerilemeye yol açtığı izlenirken; 100mM NaCl serisinde bunun daha belirgin olarak ortaya çıktığı fakat bitkilerin büyümelerine devam ettikleri saptanmıştır. Zapata ve arkadaşlarının [158] *Lactuca sativa* L. ile yaptıkları bir çalışmada da benzer sonuçlara rastlanmaktadır. Bu araştırmacılar, *L. sativa* tohumlarının 100 mM NaCl çözeltisinde çimlenmelerinin belirgin şekilde gerilediğini ve NaCl artışının fide büyümesinde gecikmelere yol açmasına rağmen bitki gelişiminin devam ettiğini kanıtlamışlardır.

Kırmızı lahana ise çimlenme evresinde NaCl den fazla etkilenmezken; fide aşamasında özellikle kök gelişimlerinin yavaşlaması sonucu büyümenin inhibe olduğu saptanmıştır. 50 ve 100 mM NaCl serilerinde yetiştirilen fidelerin köklerinin gövdeye oranla oldukça gerilediği belirlenmiştir. Çimlenme evresinde tuza dayanıklı bir bitki olan *Cordia rothii* ile yapılan benzer bir çalışmada ise artan tuz stresi sonucu kök ve gövde uzunluğunun belirgin oranda gerilediği kaydedilmiştir [159]. Böylece kırmızı lahana bitkisinin NaCl stresine karşı çimlenme ve büyüme evrelerinde gösterdiği farklı yanıtlar başka bir bitki türü ile yapılan araştırma ile de desteklenmektedir.

Büyüme ile ilgili çalışmaların bir diğer yönden kanıtlanması için yapılan analizlerde ise domates ve kırmızı lahana fidelerinin kök, hipokotil, kotiledonları ile tüm bitkinin taze ve kuru ağırlık oranları belirlenmiştir. NaCl içeren serilerde yetişen domates bitkisinde kontrole göre taze ve kuru ağırlık oranlarında belirgin düzeyde azalmalar ortaya çıkmıştır. Bu durum literatür bilgileri ile de desteklenmektedir. Şeker pancarı bitkisi ile yapılan benzer bir çalışmada da NaCl stresi altında bitkinin kök ve gövde kuru ağırlık oranlarının belirgin şekilde azaldığı kaydedilmiştir [39].

Kırmızı lahanada ise NaCl uygulamaları sonucu fide gelişiminin gerilemesine rağmen hipokotil ve kotiledonların taze ağırlıklarının arttığı, buna karşın kuru ağırlıklarının azaldığı dikkat çekmektedir. Bu durumun bitkinin NaCl stresine karşı su kaybını engellemek üzere hücrelerinde biriktirdikleri osmotik bileşiklerden kaynaklandığı ileri sürülebilir [58]. Benzer sonuçlar bazı araştırmacılar tarafından da tespit edilmiş ve çeşitli şekillerde değerlendirilmiştir. NaCl stresi altında bazı kültür bitkilerinin dokularındaki bağlı su miktarının arttığı ve bu bitkilerin anatomik yapılarının değiştiğine (sukkulent yapıda olduklarına) dair bulgular elde edilmiştir [35]. NaCl uygulanmış 4 farklı *Brassica* türü ile yapılan bir çalışmada ise; *B. oleracea*'nin NaCl e daha duyarlı olduğu ve dışarıdan tuz uygulamaları sonucu kuru ağırlıklarının diğer *Brassica* türlerine göre oldukça gerilediği ileri sürülmektedir [160].

Buraya kadar elde edilen sonuçlardan, bitki türleri arasında olduğu kadar; aynı türün farklı gelişim evrelerinde de NaCl toleransının değişiklikler gösterebildiği ortaya çıkarılmıştır. Bu veriler aynı zamanda Strogonov'un [35] ileri sürdüğü bir

hipotezi de doğrular niteliktedir. Buna göre çimlenme aşamasında NaCl uygulanan domates tohumlarının tuza adaptasyon geliştirdikleri ve büyümelerinin gerileyerek de olsa devam ettiği ileri sürülmektedir.

Araştırmanın bundan sonraki kısmında NaCl ün bitkilerin pigment (klorofil ve antosiyanin) içerikleri üzerine olan etkileri incelenmek istenmiştir. Bilindiği gibi klorofil fotosentetik bir pigment olarak yeşil bitkiler için hayati önemi olan bir moleküldür. Tarım bitkilerinin tuza toleransını gösteren parametrelerden birini de klorofil içeriği oluşturmaktadır [155]. Bu çalışmada, domates ve kırmızı lahana bitkilerinin kotiledon ve hipokotillerinde NaCl konsantrasyonu artışının klorofil içeriğinde azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. Hernandez ve arkadaşlarının [161], NaCl e duyarlı bezelye bitkisinde klorofil yıkımının arttığına dair yaptıkları bir araştırma da bu çalışmadan elde edilen değerleri teyid eder niteliktedir.

Bu çalışmada üzerinde durulan esas konu ise NaCl uygulamaları sonucu bitkilerde stres etmenlerine karşı koruyucu bir pigment olduğu ileri sürülen antosiyanin içeriğinin tespit edilmesidir. Bu konu ile ilgili literatür incelendiğinde, tuz stresinin bitkilerdeki pigmentasyona etkileri ile ilgili çalışmaların azlığı dikkat çekmektedir. Bu konunun üzerinde ilk defa Strogonov [162] tarafından durulmuş, sonraki yıllarda bununla ilgili doğrudan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Son yıllarda NaCl stresinin de yer aldığı çeşitli çevresel stres koşullarında antosiyanin molekülünün davranışları ile ilgili araştırmalar yapılmıştır [123, 163]. Cevahir'in [164] *Helianthus annuus* fideleri ile yaptığı bir çalışmada ise NaCl uygulanmış ayçiçeği fidelerinin hipokotillerinin alt kısımlarında belirgin bir şekilde antosiyanin birikimi olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada da NaCl uygulamaları sonucu kotiledon ve hipokotillerdeki antosiyanin içeriğinin arttığı kaydedilmiştir. 100 mM NaCl de yetişen domates bitkisinin hipokotillerinde önemli miktarlarda antosiyanin birikimi olduğu saptanırken; köklerde bu bileşiklere rastlanmamıştır. Kırmızı lahana bitkisinde de NaCl stresinin antosiyanin birikimini teşvik ettiği belirlenmiştir. 50, 100 mM NaCl serilerindeki fidelerin hipokotil ve kotiledonlarının yüksek miktarlarda antosiyanin içerdiği saptanırken; bu bitkinin köklerinde de az miktarda antosiyanin oluşumuna rastlanmıştır. Özellikle tuz stresi altında kırmızı lahana yapraklarında antosiyanin miktarının arttığı ilk defa Strogonov [35] ve Poljakoff-Mayber [165] tarafından ortaya atılmıştır. Köklerdeki antosiyanin birikimi ise Kaliamoorthy ve ark. [116] tarafından NaCl uygulanmış mısır bitkisi ile yapılan bir çalışmadan elde edilen verilerle paralellik göstermektedir. Ayrıca *Brassica rapa* ve *B. napus* türlerinin köklerinde de demir ve fosfor eksikliği sonucunda antosiyanin oluşumu tespit edilmiştir [166]. Domates ve kırmızı lahana bitkilerinden elde edilen sonuçların yukarıda izlenen literatür bulguları ile de uyumluluk içinde olduğu görülmektedir.

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON BİRİMİ

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlara ve literatür bilgilerine göre bitkilerde bulunan iki önemli pigmentin NaCl stresinden farklı şekillerde etkilendiği ortaya çıkmıştır. NaCl gibi çevresel stres koşullarının bitkilerde klorofil yıkımına yol açarken [161]; antosiyanin ve diğer sekonder metabolitlerin sentezini teşvik ettiği kanıtlanmıştır [163]. Bu verilerin ışığı altında tuz stresi uygulamaları ile artan antosiyanin pigmentlerinin fotosentez olayında metabolik faaliyetler sonucu meydana gelen serbest oksijen radikalleri ile UV ve diğer çevresel etmenlerin zararlı etkilerini yok ederek klorofil pigmentlerini korudukları ileri sürülebilir [123]. Zira çoğunlukla epidermal hücrelerin vakuollerinde çözünmüş olarak birikim gösteren antosiyanin bileşiklerinin bir UV filtresi olarak iş gördüklerine ve böylece fotosentetik dokuların zarar görmesini engellediklerine dair pekçok çalışma yapılmıştır [123, 124, 125]. İlk gelişim evrelerindeki sürgün uçları ile yaprakların kırmızı renkte olmalarının da yine benzer bir korunma sistemi sonucu antosiyanin pigmentlerinden kaynaklandığı belirtilmiştir [124]. Bütün bu araştırmaların sonucunda antosiyanin pigmentinin stres etmenleri altında daha fazla miktarda sentezlendiğine ve bir çeşit bitkisel savunma sistemi gibi çalıştığına dikkat çekilmektedir.

Aynı deney serisinde NaCl stresinin bitkilerde yol açtığı biyokimyasal değişimleri incelemek üzere domates ve kırmızı lahana bitkilerinin kök, hipokotil ve kotiledonlarındaki total çözünür protein içeriği Bradford [154] yöntemine göre tayin edilmiştir. NaCl uygulamaları sonucunda domates ve kırmızı lahana bitkilerinin sırası ile kök, hipokotil ve kotiledonlarının protein miktarlarında önemli azalmalar meydana geldiği saptanmıştır. Bu sonuçlar araştırıcılar tarafından NaCl n toksik etkilerine bağlı olarak enzim aktivitelerindeki değişimlere ve proteinlerin hidratasyonunun azalmasına bağlı olarak protein yıkımının artmasına dayandırılmaktadır [28, 29]. Davies [88] ise bu durumun özellikle stres koşulları altında artan aktif oksijen türlerinin diğer hücresel makromoleküller gibi proteinlere de zarar vermeleri sonucunda kaynaklandığını ileri sürmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler yukarıdaki bulguları destekler niteliktedir.

Protein sentezindeki azalmalara karşın bitkideki total amino asit miktarındaki artış dikkat çekmektedir [76]. Bunlardan en bilineni tuzluluk ve kuraklık koşullarında sentezi artan ve osmotik koruyucu işlevleri olduğu bilinen prolin ve glisinbetain amino asitleridir [77, 78, 79]. Burada üzerinde durulan bir diğer amino asit ise antosiyaninler ve bazı diğer flavonoidlerin biyosentezinde öncül olarak rol alan fenilalanindir. Strogonov [35], tuz stresi sonucu artan metabolik ara ürünlerinden birisi olan fenilalaninin oksitlenerek bitkilerdeki bazı renkli bileşiklere dönüştüğü yönünde bulgular elde etmiştir. Günümüzde de bu sonuçları destekleyen bazı çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan birisi fenilalaninin antosiyaninlere ve diğer sekonder metabolitlere dönüşümünde (fenilalanin biyosentez yolu) nemli bir rolü olan fenilalanin amonyak liyaz (PAL) enziminin NaCl stresi altında aktivitesinin arttığı yönündedir [167].

Yukarıda açıklanan verilerin ışığı altında stres koşullarında total protein miktarının artışı ya da azalışı ile antosiyanin verimi arasında bir paralellik kurmak mümkün olacaktır. Bunun için öncelikle çok geniş bir alana sahip olan fenilpropanoid metabolizmasını incelemek, bu problemi açıklığa kavuşturmak açısından faydalı olacaktır. Buraya kadar elde edilen sonuçlardan ve literatür bilgilerinden yola çıkılarak; NaCl uygulamalarının fidelerde total protein sentezini yavaşlatırken antosiyanin gibi sekonder metabolitlerin birikimini hızlandırdığı fikri ileri sürülebilir. Bu durum transgenik *Arabidopsis* bitkisi ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla da benzerlik göstermektedir. Bu bitkilerde NaCl uygulamaları sonucu AtGSK1 diye tanımlanan özel bir stres proteininin sentezinin arttığı kaydedilirken; fidelerde fenotipik olarak antosiyanin birikiminin olduğu gözlenmiştir [80].

Son yıllarda bitki dokularındaki peroksidaz aktivitesinin çeşitli biyokimyasal tepkimelerle ilgili olduğu pekçok araştırmacının ilgisini çekmektedir [91, 92, 93, 95]. Oksidatif ve abiyotik stres etmenlerinin yol açtığı biyokimyasal değişimler içinde total peroksidaz aktivitesindeki artış ortak bir yanıt olarak kabul edilmektedir [91, 92, 93]. Bu çalışmada da NaCl uygulamalarının domates ve kırmızı lahana fidelerinde peroksidaz enzimi aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. 100 mM NaCl serilerindeki fidelerde peroksidaz aktiviteleri en yüksek değerlerde çıkmıştır. Bu sonuçlar Sancho ve arkadaşlarının [95] yaptığı benzer bir çalışma ile de teyid edilmektedir.

Tuzlu ve kurak çevresel koşullar ile suda çözünür antioksidan bileşikler ve antioksidan enzimler arasındaki ilişkiler hakkında çeşitli yayınlar yapılmıştır [89, 90, 148]. Tuz uygulamaları sonucu peroksidaz aktivitesindeki artış dikkat çekmektedir. Bunun özellikle stres koşullarında çok miktarda ortaya çıkan ve difüzyonla vakuole de geçebilen hidrojen peroksit (H_2O_2) radikalinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir [85]. Buraya kadar elde edilen verilerin ışığı altında tuz stresi ile peroksidaz aktivitesi ve antosiyanin içeriği arasındaki bağlantılar bulunmaya çalışılmıştır.

Tuz stresinin hücrelerdeki hidrolitik olayları teşvik etmesi sonucunda çeşitli oksidatif enzimler ile okside olabilen substratların arttığı ve bunun bitkilerde değişik renklerde bileşiklerin oluşumuna yol açtığı ileri sürülmüştür [35]. Yamasaki ve ark. [97] ise bu durumu bir flavonol-peroksidaz sistemi aracılığıyla açıklamışlardır. Fenol-peroksidazlar (ya da flavonoid peroksidazlar) diye de tanımlanan peroksidaz izoenzimleri hücrelerin vakuollerinde işlev görmektedirler [97]. Bu enzimler vakuolde birikim gösteren flavonoidlerin oksidasyonu ve bir başka antioksidan bileşik olan askorbatın aracılığıyla H_2O_2 yi parçalayarak zararsız hala getirebilmektedirler [97, 168]. Görüldüğü gibi bu çalışmadan elde edilen veriler yukarıda izlenen literatür bulguları ile ortak noktalar içermektedir. Dolayısıyla; NaCl stresi uygulamaları sonucunda oluşan serbest oksijen radikallerinin yok edilmesinde, bu koşullarda aktiviteleri artan peroksidaz izoenzimlerinin; antosiyanin pigmentleri ile beraber çalıştıkları ileri sürülebilir.

Buraya kadar izlenen bütün bu sonuçlara göre; deneysel olarak seçilmiş farklı NaCl konsantrasyonları içeren su kültürü düzenğinde yetiştirilen domates ve kırmızı lahana fidelerinin çimlenme yüzdeleri, kök ve gövde uzunlukları, taze ve kuru ağırlık oranları tespit edilerek bitkilerin fizyolojik olarak tuzluluğa uyum (adaptasyon) yapmaları saptanmaya çalışılmıştır. Elde edilen verilerin ışığı altında orta dereceli tuzlu topraklarda domates yetiştirilmesi uygun bulunurken; daha fazla antosiyanin içeriğine sahip olmasına rağmen kırmızı lahananın tuza duyarlı bir bitki olduğu dikkate alınarak tuzlu topraklarda yetiştirilmemesi öngörülebilir. Tuzun bitkilerde yol açtığı biyokimyasal değişimler düzeyinde ise domates ve kırmızı lahanada klorofil içeriğinin gittikçe azaldığı oysa koruyucu bir pigment olarak bilinen antosiyaninin özellikle hipokotillerde artış gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Çalışmanın bundan sonraki kısmında tuz stresi sonucunda her iki bitkide de total çözüner protein içeriğinin azaldığı, peroksidaz aktivitesinin ise arttığı tespit edilmiştir. Bu araştırmadan elde edilen sonuçların bilinçsiz uygulamalarla çoraklaşan topraklarımızın yeniden üretime açılması için yüksek bitkilerde tuza dirençli türlerin seçilmesi ve özelliklerinin saptanması ya da bu özelliklerin bitkilere genetik yollarla kazandırılması amacıyla yapılacak olan çalışmalara yön vereceği ümit edilmektedir.

Bundan sonra yapılacak olan araştırmalarda bitkilerde doğal olarak bulunan ve çeşitli stres koşulları altında sentezi artan antosiyaninlerin bitkileri korumalarının yanında antioksidan özellikleri ile de insan sağlığına olabilecek yararlarını (kanser, kalp krizi, lipid peroksidasyonunun önlenmesi gibi) incelemek hedef seçilmiştir. Bunların yanında çeşitli tuz konsantrasyonları uygulanması ile hem flavonoid peroksidaz aktivitesinin hem de antosiyanin birikiminin artmasının birlikte çalışma mekanizmasını çözümlemek için daha ayrıntılı bilgilerin edinilmesi amaçlanmaktadır.

V. KAYNAKLAR

- [1] JAIN, R.K., PALIWAL, K., DIXON, R.K. and GJERSTAD, D.H. (1989). Improving productivity of multipurpose trees on substandard soils in India. J. For. 87: 38-42.
- [2] BARRETT-LENNARD, E.G. (2000). Salt of the Earth: time to take it seriously. Australian Centre for International Agricultural Research: 135-145. In: Cadman, H. (Ed.), The Food and Environment Tightrope, Canberra.
- [3] RHODES, J.D. and LOVEDAY, J. (1990). Salinity in irrigated agriculture. American Society of Agronomists: 1089-1142. In: Steward, B.A. and Nielsen, D.R. (Eds.), American Society of Civil Engineers, Irrigation of Agricultural Crops (Monograph 30).
- [4] KOÇ, A., ÖZTAŞ, T. and TAHTACIOĞLU, L. (2002). Rangeland- Livestock Interaction In Our Near History Problems and Recommenda. Türkiye Toprak İlmi Derneği Bildiri Özetleri. Atatürk University, Agricultural Faculty, Department of Field Crops, Erzurum, Türkiye.
- [5] DREGNE, H., KASSAS, M. and ROSANOV, B. (1991). A new assessment of the world status of desertification. Desertification Controll Bull. 20: 6-18.
- [6] GHASSEMI, F., JAKEMAN, A.J. and NIX, H.A. (1995). Salinization of Land and Water Resources: Human Causes, Extent, Management and Case Studies. University of New South Wales Press Ltd., Sydney.
- [7] VARALLYAY, G. (1977). Soil water problems related to salinity and alkalinity in irrigated lands: 251-264. In: Arid Land Irrigation in Developing Countries. Pergaman Press, Oxford.
- [8] DATTA, K.K., de JONG, C. and SINGH, O.P. (2000). Reclaiming salt-affect land through drainage in Haryana, India: a financial analysis. Agric. Water Manage. 46: 55-71.
- [9] FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (1996). Food Production: The Critical Role of Water. World Food Summit, Rome, Italy.
- [10] ÇEVİK, B. ve ÇETİN, M. (2001). Su Çoraklık Getirebiliyor. Birinci Su Kongresi. Güneydoğu Anadolu'da Kuru Tarımdan Sulu Tarıma Geçişle Birlikte Yaşanan Çelişkiler. 8-10 Ocak, İstanbul.
- [11] WINICOV, I. (1998). New molecular approaches to improving salt tolerance in crop plants. Ann. Bot. 82: 703-710.
- [12] KIRTI, P.B., HADI, S., KUMAR, P.A. and CHOPRA, V.L. (1991). Production of sodium-chloride-tolerant *Brassica juncea* plants by in vitro selection of the somatic embryo level. Theor. Genet. 83: 233-237.

- [13] APSE, M.P. and BLUMWALD, E. (2002). Engineering salt tolerance in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 13: 146-150.
- [14] ZHANG, H.X., HODSON, J.N., WILLIAMS, J.P. and BLUMWALD, E. (2001). Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 12832-12836.
- [15] ERDEI, L. and TALEISNIK, E. (1993). Changes in water relation parameters under osmotic and salt stresses in maize and sorghum. *Physiologia Plantarum* 89: 381-387.
- [16] BERNSTEIN, N., SILK, W.K. and LÄUCHLI, A. (1995). Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress: possible role of some mineral elements in growth inhibition. *Planta* 196: 699-705.
- [17] SALIM, M. and PITMAN, M.G. (1983). Effects of salinity on ion uptake and growth of mung bean plants (*Vigna radiata*). *Aust. J. Plant Physiol.* 10: 395-407.
- [18] SHANNON, M.C. (1992). The effects of salinity on cellular and biochemical process associated with salt tolerance in tropical plants: 56-63. In: Davenport, T.L. and Harrington, H.M. (Eds.), *Proceedings of Plant stress in the Tropical Environment*, Florida University, USA.
- [19] HASEGAWA, P.M., BRESSON, R.A., ZHU, J.-K. and BOHNERT, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 463-499.
- [20] LÄUCHLI, A. (1986). Responses and adaptations of crops to salinity. *Acta Horticulturae* 190: 243-246.
- [21] WAHID, A., RASUL, E. and RAO, A.R. (1999). Germination of seeds and propagules under salt stress. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress* (2 ed.), Marcel Dekker, New York.
- [22] LACERDA, C.F., CAMBRAIA, J., CANO, M.A.O. and RUIZ, H.A. (2001). Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes under NaCl stress. *Rev. Bras. Veg.* 13: 270-284.
- [23] MOYA, J.L., PRIMO-MILLO, E. and TALON, M. (1999). Morphological factors determining salt tolerance in citrus seedlings: the shoot to the root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves. *Plant Cell Environ.* 22: 1425-1433.
- [24] WAHID, A., RAO, A.R. and RESUL, E. (1997). Identification of salt tolerance traits in sugarcane lines. *Fields Crops Res.* 54: 9-17.

[25] LUTTS, S., KINET, J.M. and BOUHARMONT, J. (1996). NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.* 78: 389-398.

[26] FRANCOIS, L.E. (1994). Growth, seed yield and ion content of canola grown saline conditions. *Agron. J.* 86: 233-237.

[27] BOLARÍN, M.C., FERNÁNDEZ, F.G., CRUZ, V. and CUARTERA, J. (1991). Salinity tolerance in four wild tomato species using vegetative yield salinity response curves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116: 285-290.

[28] BLISS, R.D., PLATT-ALOIA, K.A. and THOMSON, W.W. (1986). The inhibitory effect of NaCl on barley germination. *Plant Cell Environ.* 9: 727-733.

[29] DODD, G.L. and DONAVAN, L.A. (1999). Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *Am. J. Bot.* 86: 1146-1153.

[30] WATAD, A., REUVENI, M., BRESSON, R.A. and HASEGAWA, P.M. (1991). Enhanced net K^+ uptake capacity of NaCl-adapted cells. *Plant Physiol.* 95: 1265-1269.

[31] SALEKI, R., YOUNG, P.G. and LEFEBVRE, D.D. (1993). Mutants of *Arabidopsis thaliana* capable of germination under saline conditions. *Plant Physiol.* 101:839-845.

[32] BOLARÍN, M.C., PEREZ-ALFOCEA, F., CANO, E.A., ESTAÑ, M.T. and CARO, M. (1993). Growth, fruit yield, and ion concentration in tomato genotypes after pre-emergence and post-emergence salt treatments. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 118: 655-660.

[33] CANO, E.A., BOLARÍN, M.C., PEREZ-ALFOCEA, F. and CARO, M. (1991). Effect of NaCl priming on increased salt tolerance in tomato. *J. Hortic. Sci.* 66: 621-628.

[34] LERNER, H.R. and POLJAKOFF-MAYBER, A. (1990). Induction of increased salt tolerance in *Sorghum bicolor* by NaCl pre-treatment. *J. Exp. Bot.* 41: 29-34.

[35] STROGOV, B.P. (1964). Practical means for increasing salt tolerance of plants as related to type of salinity in the soil: 218-244. In: Poljakoff-Mayber, A. and Meyer, A.A. (Eds.), *Physiological Basis of Salt Tolerance of Plants*. Israel Program for Scientific Translations Ltd, Jerusalem.

[36] SHANNON, M.C. (1985). Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Plant Soil* 89: 237-241.

- [37] STEVENS, R.M., HARVEY, G., PARTINGTON, D.L. and COOMBE, B.G. (1999). Irrigation of grapevines with saline water at different growth stages. 1. Effects on soil, vegetative growth, and yield. *Australian Journal of Agricultural Research* 50: 343-355.
- [38] ALARCÓN, J.J., SÁNCHEZ-BLANCO, M.J., BOLARÍN, M.C. and TORRECILLAS, A. (1994). Growth and osmotic adjustment of two tomato cultivars during and after saline stress. *Plant Soil*. 166: 75-82.
- [39] GHOULAM, C. and FARES, K. (2001). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Seed Sci. Tech.* 29: 357-364.
- [40] DURRANT, M.J., DRAYCOTT, A.P. and PAYRE, P.A. (1974). Some effects of sodium chloride on germination and seedling growth of sugar beets. *Ann. Bot.* 38: 1045-1051.
- [41] UNO, Y., KANECHI, M., INAGAKI, N., SUGIMATO, M. and MAEKAWA, S. (1996). The evaluation of salt tolerance during germination and vegetative growth of asparagus, table beet and sea aster. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 65: 579- 585.
- [42] GOUIA, H., GHORBAL, M.H. and TOURAINE, B. (1994). Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃ reduction rate within whole plants of salt sensitive bean and salt-tolerant cotton. *Plant Physiol.* 105: 1409-1418.
- [43] RODRÍGUEZ, P., DELL'AMICO, J., MORALES, D., SÁNCHEZ BLANCO, M.J. and ALARCÓN, J.J. (1997). Effects of salinity on growth, shoot water relations and root hydraulic conductivity in tomato plants. *J. Agricultural Science* 128: 439-444.
- [44] CRAMER, G.R., EPSTEIN, E. and LÄUCHLI, A. (1988). Kinetics of root elongation in maize in response to short term exposure to NaCl and elevated calcium concentration. *J. Exp. Bot.* 208: 1513-1522.
- [45] PRITCHARD, J., TOMOS, A.D. and WYNJONES, R.G. (1987). Control of wheat elongation growth. 1. Effect of ions on growth rate, wall rheology and cell water relations. *J. Exp. Bot.* 38: 948-959.
- [46] MOUHOUCHE, B., RUDGET, F. and DELECOLLE, R. (1998). Effects of water stress applied at different phenological phase on yield components of dwarf bean. *Agronomie* 18: 197-205.
- [47] CRUZ, V. and CUARTERO, J. (1987). Growth and fruiting of the tomato and related species in saline conditions. In: Porcelli, S., Monti, L.M., Cirulli, M. (Ed.), *Modern trends in tomato and Breeding*, Research Institute for Vegetable Crops, Pontecagnano, Italy.

- [48] KHATUN, S. and FLOWERS, T.J. (1995). Effects of salinity on seed set in rice. *Plant Cell Environ.* 18: 61-67.
- [49] EKANAYAKE, I.J., de DATTA, S.K. and STEPONKUS, P.L. (1989). Spikelet sterility and flowering response of rice to water stress at anthesis. *Ann. Bot.* 63: 257-264.
- [50] MITCHELL, J.P., SHENNAN, C., GRATTAN, S.R. and MAY, D.M. (1991). Tomato fruit yields and quality under water deficit and salinity. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 116: 215-221.
- [51] SORIA, T. and CUARTERO, J. (1997). Tomato fruit yield and water consumption with salty water irrigation. *Acta Horticulturae* 458: 215-219.
- [52] FLOWERS, T.J. (1999). Salinization and horticultural production. *Sci. Hort. Amsterdam* 78: 1-4.
- [53] LEOPOLD, A.C. and WILLING, R.P. (1984). Evidence for toxicity effects of salt on membranes : 67-76. In: Staples, R.C. and Toenniessen, D.H. (eds.). John Wiley and Sons, New York, NY.
- [54] KUIPER, P.J.C. (1984). Functioning of plant cell membranes under saline conditions: membrane lipid composition and ATPases. In: Staples, R.C. and Toenniessen, D.H. (eds.), *Salinity Tolerance in Plants*. John Wiley and Sons, New York.
- [55] TALEISNIK, E. and GRUNBERG, K. (1994). Ion balance in tomato cultivars differing in salt tolerance. 1. Sodium and potassium accumulation and fluxes under moderate salinity. *Physiol. Plant* 92: 528-534.
- [56] LUTTS, S., KINET, J.M. and BOUHARMONT, J. (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Reg.* 19: 207-218.
- [57] ASHRAF, M. (1989). The effect of NaCl on water relations, chlorophyll, and protein and proline contents of two cultivars of Black gram (*Vigna mungo* L.). *Plant Soil* 119: 205-210.
- [58] GZIK, A. (1996). Accumulation of proline and pattern of alpha-amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 36: 29-38.
- [59] MUNNS, R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ.* 16: 15-24.
- [60] VOLKMAR, K.M., HU, Y. and STEPPUHN, H. (1998). Physiological responses of plants to salinity: a review. *Can. J. Plant Sci.* 78: 19-27.

- [61] **GLENN, E.P. and BROWN, J.J. (1998).** Effects of soil salt levels on the growth and water use efficiency of *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) varieties in drying soil. *Am. J. Bot.* 85: 10-16.
- [62] **MUNNS, R. (2002).** Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25: 239-250.
- [63] **TURNER, N.C., BEGG, J.E. and TONNER, M.L. (1978).** Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to water deficits and its influence on the water potential at which stomata close. *Aust. J. Plant Physiol.* 5: 597-608.
- [64] **RAWSON, H.M. (1979).** Vertical wilting and photosynthesis, transpiration and water use efficiency of sunflower leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 6: 109-120.
- [65] **DOWNTON, W.J.S., LOVEYS, B.R. and GRANT, W.J.R. (1990).** Salinity effects on the stomatal behaviour of grapevine. *New Phytologist* 116: 499-503.
- [66] **DIVATE, M.R. and PANDEY, R.M. (1979).** Salt tolerance in grapes. Effect of salinity on chlorophyll, photosynthesis and respiration. *Indian Journal of Plant Physiology* 24 (1): 74-79.
- [67] **DUBEY, R.S. (1997).** Photosynthesis in plants under stressful conditions: 859-875. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Photosynthesis*, Marcel Dekker, New York.
- [68] **SEEMANN, J.R. and CRITCHLEY, C. (1985).** Effects of salt stress on the growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta* 164: 151-162.
- [69] **CURTIS, P.S. and LÄUCHLI, A. (1986).** The role of leaf area development and photosynthetic capacity in determining growth of kenaf under moderate salt stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 353-365.
- [70] **ROGERS, M.E. and NOBLE, C.L. (1992).** Variation in growth and ion accumulation between two selected populations of *Trifolium repens* L. differing in salt tolerance. *Plant Soil* 146: 131-136.
- [71] **HAWKINS, H.J. and LEWIS, O.A.M. (1993).** Combination effect of NaCl salinity, nitrogen form and calcium concentration on the growth and ionic content and gaseous properties of *Triticum aestivum* L. *New Phytol.* 124: 161-170.
- [72] **CROSBIE, T.M. and PEARCE, R.B. (1982).** Effects of recurrent phenotypic selection for high and low photosynthesis on agronomic traits in two maize populations. *Crop Sci.* 22: 809-813.
- [73] **ROBINSON, S.P., DOWNTOWN, W.J.S. and MILLHOUSE, J.A. (1983).** Photosynthesis and ion content of leaves and isolated chloroplasts of salt-stressed spinach. *Plant Physiol.* 73: 238-242.

- [74] **PETTIGREW, W.T. and MEREDITH, W.R. (1994).** Leaf gas exchange parameters vary among cotton genotypes. *Crop Sci.* 34: 700-705.
- [75] **RHODES, D. and HANDA, S. (1989).** Amino acid metabolism in relation to osmotic adjustment in plant cells. In: Cherry, J.H. (ed.). *Biochemical and Physiological Mechanisms Associated with Environmental Stress Tolerance*. Springer-Verlag, Berlin.
- [76] **STEWART, C.R. and LARHER, F. (1980).** Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: Mifflin, B.J. (ed.), *The Biochemistry of Plants*. Academic Press, New York.
- [77] **LUTTS, S., MAJERUS, V. and KINET, J.M. (1999).** NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiol. Plant.* 105: 450-458.
- [78] **BATES, L.S., WALDREN, R.P. and TEARE, I.D. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- [79] **FILHO, G.A.S., FERREIRA, B.S., DIAS, J.M., QUEIROZ, K.S., BRENCO, A.T., BRESSON-SMITH, R.E., OLIVEIRA, J.G. and GARCIA, A.B. (2003).** Accumulation of SALT protein in rice plants as a response to environmental stresses. *Plant Sci.* 164: 623-628.
- [80] **PIAO, H.L., LIM, J.H., KIM, S.J., CHEONG, G.W. and HWANG, I. (2001).** Constitutive over- expression of AtGSK1 induces NaCl stress and results in enhanced NaCl tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Journal : for Cell and Molecular Biology* 27: 305-314.
- [81] **SMIRNOFF, N. (1993).** The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.* 125: 27-58.
- [82] **SALIN, M.L. (1991).** Chloroplast and mitochondrial mechanism for protection against oxygen toxicity. *Free Rad. Res. Commun.* 12-13: 851-858.
- [83] **del RIO, L.A., SEVILLA, F., SANDALIO, L.M. and PALMA, J.M. (1991).** Nutritional effects and expression of superoxide dismutase: induction and gene expression, diagnostics, prospective protection against oxygen toxicity. *Free Rad. Res. Commun.* 12-13: 819-828.
- [84] **FRIDOVICH, I. (1986).** Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* 247: 1-11.
- [85] **ELSTNER, E.F. and HEUPLE, A. (1976).** Formation of hydrogen peroxide by isolated cell walls from horseradish (*Armoracia lapathifolia* Gilib.). *Planta* 130: 175-180.

- [86] **FADZILLA, N.M., ROBERT, P., FINCH, R.P. and BURDON, R.H. (1997).** Salinity, oxidative stress and antioxidant response in shoot cultures of rice. *J. Exp. Bot.* 48: 325-331.
- [87] **GUETA-DAHAN, Y., YANIV, Z., ZILINKAS, B.A. and BEN-HAYYIM, G. (1997).** Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta* 203: 460-469.
- [88] **DAVIES, K.J.A. (1987).** Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. *J. Biol. Chem.* 262: 9895-9901.
- [89] **SHALATA, A. and TAL, M. (1998).** The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiologia Plantarum* 104: 169-174.
- [90] **ANDERSON, M.D., PRASAD, T.K. and STEWART, C.R. (1995).** Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.* 109: 1247-1257.
- [91] **GOSSETT, D.R., MILLHOLLON, E.P. and CRAN-LUCAS, M. (1994).** Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt –sensitive cultivars of cotton. *Crop Science* 34: 706-714.
- [92] **HERNANDEZ, J.A., JIMENEZ, A., MULLINEAUX, P. and SEVILLA, F. (2000).** Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environ.* 23: 853-862.
- [93] **OLMOS, E., PIQUERAS, A., MARTINEZ-SOLANO, J.R. and HELLIN, E. (1997).** The subcellular localization of peroxidase and the implication of oxidative stress in hyperhydrated leaves of regenerated carnation plants. *Plant Sci.* 130: 97-105.
- [94] **FIELDES, M.A. and GERHARDT, K.E. (1998).** Flax guaiacol peroxidases can be used to illustrate the possibility of misinterpreting the effects of stress on the activity of developmentally regulated enzymes. *Plant Sci.* 132: 89-99.
- [95] **SANCHO, M.A., MILRAD de FORCHETTI, S., PLIEGO, F., VALPUESTA, V. and QUESADA, M.A. (1996).** Total peroxidase activity and isoenzymes in the culture medium of NaCl adapted tomato suspension cells. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 44: 161-167.
- [96] **JOVANOVIĆ, S.V., STEENKEN, S., SIMIĆ, M.G. and HARA, Y. (1997).** Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. In: Rice-Evans, C.A. and Packer, L. (eds.), *Flavonoids in Health and Disease*, Marcel Dekker, New York.
- [97] **YAMASAKI, H., SAKIHAMA, Y. and IKEHARA, N. (1997).** Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiol.* 115: 1405-1412.

- [98] IWASHINA, T. (2000). The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *J. Plant Res.* 113: 287-299.
- [99] HARBORNE, J.B. and BAXTER, H. (eds.) (1999). The Handbook of Natural Flavonoids. John Wiley & Sons, Chichester.
- [100] BROUILLARD, R. and DANGLES, O. (1994). Flavonoids and flower color. In: Harborne, J.B. (ed.). The Flavonoids, Advances in Research since 1986. Chapman & Hall Publishing Co., London, UK.
- [101] MITCHELL, K.A., MARKHAM, K.R. and BOASE, M.R. (1998). Pigment chemistry and colour of *Pelargonium* flowers. *Phytochemistry* 47:355-361.
- [102] FARZAD, M., GRIESBACH, R. and WEISS, M.R. (2002). Floral color change in *Viola carnata* L. (Violaceae) a model system to study regulation of anthocyanin production. *Plant Science* 162: 225-231.
- [103] PIATTELLI, M. and MINALE, L. (1964). Pigments of Centrospermae-II. Distribution of betacyanins. *Phytochemistry* 3: 547-557.
- [104] BRANDT, K., KONDO, T., AOKI, H. and GOTO, T. (1993). Structure and biosynthesis of anthocyanins in flowers of *Campanula*. *Phytochemistry* 33: 209-212.
- [105] WINKEL-SHIRLEY, B. (2001). Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. *Plant Physiol.* 126: 485-493.
- [106] MIYAZAKI, T., TSUZUKI, W. and SUZUKI, T. (1991). Composition and structure of anthocyanins in the periderm and flesh of sweet potatoes. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 60: 217-227.
- [107] HOLTON, T.A. and CORNISH, E.C. (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell* 7: 1017-1083.
- [108] BROUILLARD, R. (1983). The *in vivo* expression of anthocyanin colour in plants. *Phytochemistry* 22: 1311-1323.
- [109] CURTRIGHT, R., RYNEARSON, J.A. and MARKWELL, J. (1996). Anthocyanins: model compounds for learning about more than pH. *J. Chem. Edu.* 73: 306-309.
- [110] BAUBLIS, A., SPOMER, A. and BERBER-JIMENEZ, M.D. (1994). Anthocyanin pigments: comparison of extract stability. *J. Food Sci.* 59: 1219-1221.
- [111] STEWART, R.N., NORRIS, K.H. and ASEN, S. (1975). Microspectrophotometric measurement of pH effect on color of petal epidermal cells. *Phytochemistry* 14: 937-942.

- [112] CHIGURUPATI, N., LANI, S., GAYSER, C. and DASH, A.K. (2001). Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use. *AAPS PharmSci.* 3: 883-1522.
- [113] SAPERS, G.M., TAFFER, I. and ROSS, L.R. (1981). Functional properties of a food colorant prepared from red cabbage. *Food Sci.* 46: 105-109.
- [114] SULLIVAN, J. (1998). Anthocyanin. *Science* 1: 1-3.
- [115] SHIRLEY, B.W. (1996). Flavonoid biosynthesis- 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends Plant Sci.* 1: 377-381.
- [116] KALIAMOORTHY, S. and RAO, A.S. (1994). Effect of salinity on anthocyanin accumulation in the root of maize. *Ind. J. Plant Physiol.* 37: 169-170.
- [117] SUZUKI, M. (1995). Enhancement of anthocyanin accumulation by high osmotic stress and low pH in grape cells (*Vitis brids*). *J. Plant Physiol.* 147: 152-155.
- [118] LEYVA, A., JARILLA, J.A., SALINAS, J. and MARTINEZ, J.M. (1995). Low temperature induces the accumulation of phenylalanin ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. *Plant Physiol.* 108: 39-46.
- [119] ARAKAWA, O., HORI, Y. and OGATA, R. (1985). Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *Physiol. Plant.* 64: 323-327.
- [120] NEMAT-ALLA, M.M. and YOUNIS, M.E. (1995). Herbicide effects on phenolic metabolism in maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seedlings. *J. Exp. Bot.* 46: 1731-1736.
- [121] REICHLING, J. (1999). Plant-microbe interactions and secondary metabolites with antiviral, antibacterial and antifungal properties. In: Wink, M. (ed.) , *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*, Sheffield Academy Press Ltd., Scheffield.
- [122] BARS, W., KÖSTER, J., WELTRING, K.-W. and STRACK, D. (1985). Recent advances in the metabolism and degradation of phenolic compounds in plants and animals. *Ann. Proc. Phytochem. Soc. Eur.* 25: 307-347.
- [123] GORI, D.F. (1993). Post-pollination phenomeno and adaptive floral color changes. In: Jones, C.E. and Little, R.J. (eds.). *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Scientific and Academic Edition. New York, NY.
- [124] WINKEL-SHIRLEY, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 218-223.

- [125] WOODALL, G.S. and STEWART, G.R. (1998). Do anthocyanins play a role in UV protection of the red juvenile leaves of *Syzygium*. *J. Exp. Bot.* 49: 1447-1450.
- [126] FEILD, T.S., LEE, D.W. and HOLBROOK, N.M. (2001). Why Leaves Turn Red in Autumn. The Role of Anthocyanins in Senescing Leaves of Red-Osier Dogwood. *Plant Physiol.* 127: 566-574.
- [127] STAPLETON, A.E. and WALBOT, V. (1994). Flavonoids can protect maize DNA from the induction of UV radiation damage. *Plant Physiol.* 105: 881-889.
- [128] van der MEER, STAM, M.E., van TUNEN, A.J., MOL, J.N. and STUITJE, A.R. (1992). Antisense inhibition of flavonoid biosynthesis in *Petunia* anthers results in male sterility. *Plant Cell* 4: 253-262.
- [129] GOULD, K.S., MARKHAM, K.R., SMITH, R.H. and GORIS, J.J. (2000). Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn. *J. Exp. Bot.* 51: 1107-1115.
- [130] MURPHY, A., PEER, W.D. and TAI, Z. (2000). Regulation of auxin transport by aminopeptidases and endogenous flavonoids. *Planta* 211: 315-324.
- [131] KIDD, P.S., LLUGANY, M., POSCHENRIEDER, C., GUNSE, B. and BARCELÓ, J. (2001). The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three variety of maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.* 52: 1339-1352.
- [132] ARORA, A., BYREM, T.M., NAIR, M.G. and STRASBURY, G.M. (2000). Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 373: 102-109.
- [133] MAS, T., SUSPERREGUL, J., BERKE, B., CHÈZE, C., MOREAU, S. and VERCAUTEREN, J. (2000). DNA triplex stabilization property of natural anthocyanins. *Phytochemistry* 53: 679-687.
- [134] HARBORNE, J.B. and WILLIAMS, C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55: 481-504.
- [135] PIETTA, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042.
- [136] WANG, H.K., XIA, Y., YANG, Z.-Y., MORRIS, N.S.L. and LEE, K.-H. (1998). Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumour and anti-HIV agents. *Adv. In Exp. Med. Biol.* 439: 191-225.
- [137] STEINMETZ, K.A. and POTTER, J.D. (1996). Vegetable, fruit and cancer prevention: A review. *J. Ame. Diet. Assoc.* 96: 1027-1032.

[138] KOLI, S.O., HERTOOG, M.G.L., FESKENS, E.J.M. and KROMHOUT, D. (1996). Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke. *Arch. Intern. Med.* 156: 637-642.

[139] FRANKEL, E.N., KANNER, J., GERMAN, J.B., PARKS, E. and KINSELLA, J.E. (1993). Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet* 431: 454-456.

[140] HERTOOG, M.G.L., FESKENS, E.J.M., HOLLMAN, P.C.H., KATAN, M.B. and KROMBOUT, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen study. *Lancet* 342: 1007-1011.

[141] JOSEPH, J.A., SHUKITT-HALE, B., DENISOVA, N.A., BIELINSKI, D., MARTIN, A., MCEWEN, J.J. and BICKFORD, P.C. (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with diets supplemented with blueberry, spinach or strawberry dietary supplementation. *J. Neurosci.* 19: 8114-8121.

[142] WANG, H., NAIR, M.G., STRASBURG, G.M., GHANG, Y.C., BOOREN, A.M., GRAY, J.I. and DEWITT, D.L. (1999). Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycone, cyanidin from tart cherries. *Journal of Natural Products* 62: 294-296.

[143] SCHMITT, E. and STOPPER, H. (2001). Estrogenic activity of naturally occurring anthocyanidins. *Nutrition and Cancer* 41: 145-149.

[144] DETRE, Z., JELLINEK, H., MISKULIN, M. and ROBERT, A.M. (1986). Studies on vascular permeability in hypertension: action of anthocyanosides. *Clin. Physiol. Biochem.* 4: 143-149.

[145] MIDDLETON, E. JR. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 439: 175-182.

[146] MUSONDA, C.A. and CHIPMAN, J.K. (1998). Quercetin inhibits hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced NF-kappaB DNA binding activity and DNA damage in hepG2 cells. *Carcinogenesis* 19: 1583-1589.

[147] KUNTS, S., WENZEL, U. and DANIEL, H. (1999). Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity and apoptosis in human colon cancer cell lines. *Eur. J. Nutr.* 38: 133-142.

[148] WANG, H., CAO, G. and PRIOR, R.L. (1997). Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45: 302-309.

[149] HOAGLAND, D.R. and ARNON, D.I. (1938). The water culture method for growing plants without soil. *Cal. Agri. Exp. Station Circular* 347: 1-39.

- [150] PAPADOPOULUS, I., RENDING, V.V. and BROADBENT, F.E. (1985). Growth, nutrition and water uptake of tomato plants with divided roots growing in differentially salinized soil. *Agronomy Jour.* 77: 21-26.
- [151] SAĞLAM, S. (1989). *Helianthus annuus* L. fidelerinde sekuensiyel senesensin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [152] ARNON, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- [153] MANCINELLI, A.L. (1990). Interaction between light quality and light quantity in the photoregulation of anthocyanin production. *Plant Physiol.* 92: 1191-1195.
- [154] BRADFORD, M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Aral. Biochem.* 72: 248-254.
- [155] SRIVASTAVA, T.P., GUPTA, S.C., LAL, P., MURALIA, P.N. and KUMAR, A. (1988). Effect of salt stress on physiological and biochemical parameters of wheat. *Ann. Arid. Zone* 27: 197-204.
- [156] KRAMER, P.J. (1983). Water relations of plants. Academic Press, New York.
- [157] DUBEY, R.S. and RANI, M. (1990). Influence of NaCl salinity on the behaviour of protease, aminopeptidase and carboxyl- peptidase in rice seedling in relation to salt tolerance. *Aust. J. Plant Physiol.* 17: 215-224.
- [158] ZAPATA, P.J., SERRANO, M., PRETEL, M.T., AMORÓS, A. and BOTELLA, M.Á. (2003). Changes in ethylene evolution and polyamine profiles of seedlings of nine cultivars of *Lactuca sativa* L. in response to salt stress during germination. *Plant Sci.* 164: 557-563.
- [159] RAMOLIYA, P.J. and PANDEY, A.N. (2003). Effect of salinization of soil on emergence, growth and survival of seedlings of *Cordia rothii*. *Forest Ecology and Management* 176: 185-194.
- [160] ASHRAF, M. and Mc NEILLY, T. (1990). Responses of four *Brassica* species to sodium chloride. *Environ. Bot.* 30: 475-487.
- [161] HERNANDEZ, J.A., OLMOS, E., CORPAS, F.J., SEVILLA, F. and del RIO, L.A. (1995). Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Sci.* 105: 151-167.
- [162] STROGONOV, B.P. and DOSTANOVA, R.K. (1966). Dependence of anthocyanin content of plants on type of salinization. *Fiziol. Rastenij.* 13: 509-516.

- [163] **CHALKER-SCOTT, L. (1999).** Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Phytochemistry and Photobiology* 70: 1-9.
- [164] **CEVAHİR, G. (1992).** The relationship between salt stress and senescence in *Helianthus annuus* seedlings. University of Istanbul, Faculty of Science, *The Journal of Biology* 56: 35-56.
- [165] **POLJAKOFF-MAYBER, A. (1975).** Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. In: Poljakoff-Mayber, A., Gale, J (eds.). *Plants in Saline Environments (Ecological Studies 15)*, Springer-Verlag, New York.
- [166] **RÖMHELD, V. and MARSCHNER, H. (1981).** Iron deficiency stress induced morphological and physiological changes in root tips of sunflower. *Physiol. Plant.* 53: 354-360.
- [167] **DIXON, R.A. and PAIVA, N.L. (1995).** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- [168] **MILLER, N.J. and RICE-EVANS, C.A. (1997).** The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrent drink. *Food Chemistry* 60: 331-337.

VI. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Tokat'ta doğdum. 1988 yılında Tokat Cumhuriyet İlkokulu'ndan, 1995 yılında İstanbul Kartal Burak Bora Anadolu Lisesi'nden, 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü'nden mezun oldum. Aynı yıl İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bilim Dalı Bitki Fizyolojisi Programında Lisansüstü eğitim yapmaya hak kazandım ve Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen görevime devam etmekteyim.

