

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI TUZ ÇEŞİTLERİNİN GLİKOFİTİK VE HALOFİTİK  
BİTKİLERİNİN ANTIOKSİDAN ENZİMLERİNİN KİNETİĞİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Ali Ekber KAŞALI**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Barış UZİLDAY**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Genel Biyoloji Yüksek Lisans Programı**

**Bornova-İZMİR**

**2021**



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak takdim ettiğim “Farklı tuz çeşitlerinin glikofitik ve halofitik bitkilerin antioksidan enzimlerinin kinetiği üzerine etkilerinin araştırılması ” tezin şahsıma ait olduğunu, tüm belgeleri, bilgileri, dokümanları ve sonuçların bu tez çalışması sonucunda ulaştığıma, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün yorumlara ve bilgilere atıfta bulunduğumu ve bunları kaynaklar dizininde usulüne uygun olarak verdiğime, tez çalışma sürecinde ve yazımı esnasında bilimsel etik çerçevesinde telif haklarını ve hiçbir patenti çiğnemediğimi, bu tezin hiçbir kısmını diğer üniversite veya bu üniversitede başka bir tez çalışması içinde takdim etmediğimi, bu tezin tüm süreçlerinde bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak hareket ettiğimi ve bu iddamın tersi herhangi bir durum ortaya çıktığında her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi bildiririm.

.... / .... / 20..

İmzası

Adı-Soyadı



## ÖZET

### FARKLI TUZ ÇEŞİTLERİNİN GLİKOFİTİK VE HALOFİTİK BİTKİLERİNİN ANTIOKSİDAN ENZİMLERİNİN KİNETİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KAŞALI, Ali Ekber

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Barış UZİLDAY

Temmuz 2021, 45 sayfa

Toprak tuzluluğu, günümüz dünyasında tarım arazilerinde bitkisel verimliliği olumsuz etkileyen önemli bir sorundur. Bitkiler tuza tolerans özelliklerine göre iki gruba ayrılırlar. En az 200 mM NaCl bulunan ortamlarda yaşam döngüsünü tamamlayabilen ve daha yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans gösterebilen ve hatta tuz varlığında büyümeleri artan türler halofitler olarak adlandırılır . Daha düşük tuz konsantrasyonlarında yaşam döngüsünü tamamlayabilen bitkiler ise glikofitler olarak adlandırılır. Genel olarak glikofitler için topraktaki tuz konsantrasyonu eşiği aşıldığında büyümede hızında azalma aynı zamanda bitki kuru ağırlığında ve klorofil miktarında azalma meydana gelir Tez çalışmasında *Arabidopsis thaliana* yaban tipi (Col) ve Tuz Gölü çevresinde yaşayan ekstrem halofit *Eutrema parvulum* kullanılacaktır Analizlerden önce örnekler son konsantrasyonu 0, 50 ,100, 250 ve 500 mM konsantrasyonda olacak şekilde NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve KNO<sub>3</sub> ile karıştırılacaktır. Daha sonra katalaz peroksidaz , askorbat peroksidaz , glutatyon redüktaz antioksidan enzim aktiviteleri belirlenecektir. Yapılan analizlerden beklenen sonuçların tuzluluk etkilerinin ortadan kaldırılması yönünde bilgiler elde etmektir. Bu çalışmanın amacı, daha fazla tuza toleranslı çeşitlerin, daha fazla tuza duyarlı çeşitlerden indüklenabilir antioksidan seviyeleri içerip içermediğini tespit etmektir.

**Anahtar Sözcükler:** ROS, *E. parvulum*, *A. thaliana*, tuz stresi,



**ABSTRACT****INVESTIGATION OF THE EFFECTS DIFFERENT TYPES OF  
SALT ON KINETICS OF ANTIOXIDANT ENZYMES OF  
GLYCOPHYTIC AND HALOPHYTIC PLANTS**

KAŞALI, Ali Ekber

MA in Biology

Supervisor: Doç. Dr. Barış UZİLDAY

July 2021, 45 pages

Soil salinity is an important problem that negatively affects crop productivity in agricultural lands in today's world. Plants are divided into two groups according to their salt tolerance characteristics. Species that can complete their life cycle in environments with at least 200 mM NaCl and can tolerate higher salt concentrations and even increase their growth in the presence of salt are called halophytes. Plants that can complete their life cycle at lower salt concentrations are called glycophytes. In general, when the salt concentration threshold in the soil is exceeded for glycophytes, there will be a decrease in growth rate, plant dry weight and chlorophyll content. In the thesis study, *Arabidopsis thaliana* wild type (Col) and the extreme halophyte *Eutrema parvulum* living around Salt Lake will be used. will be mixed with NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and KNO<sub>3</sub> at 0, 50, 100, 250 and 500 mM concentrations. Then, the antioxidant enzyme activities of Catalase Peroxidase, Ascorbate peroxidase, Glutathione reductase will be determined. The expected results from the analyzes are to obtain information on the elimination of salinity effects. The aim of this study was to determine whether more salt-tolerant cultivars contain inducible antioxidant levels than more salt-sensitive cultivars.

**Keywords:** ROS, *E. parvulum*, *A. thaliana*, salt stress



## ÖNSÖZ

Halofit ve Glikofit bitkilerinde redoks tanzim edilmesi, farklı koşullarda antioksidan koruma mekanizması ve ROS üretimi konuları son yıllarda bilim dünyasında detaylarına inilerek araştırmalar yapılarak çalışılmıştır. Buna karşın bu iki farklı tür bitkinin farklı tuzların kinetiği üzerine ROS antioksidan koruması üzerine yapılmış spesifik bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki bu eksiklikten hareket ile “Farklı tuz çeşitlerinin glikofitik ve halofitik bitkilerinin kinetiği üzerine etkilerinin araştırılması ” tez konusu olarak belirlenmiştir.

İZMİR  
30/06/2021  
Ali Ekber KAŞALI



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
ÖNSÖZ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tuz Stresi .....	2
1.1.1. Osmatik Stres.....	3
1.1.2. İyonik Stres.....	3
1.1.3. Tuza Tolerans Mekanizmaları .....	6
1.1.4. Glikofit ve Halofitik Karşılaştırması .....	6
1.2. Tuz Stresine Bağlı Oksidatif Stres.....	8
1.2.1. Kloroplast .....	9
1.2.2. Mitokondri .....	11
1.2.3. Peroksizom .....	12
1.2.4. Apoplast.....	12
1.2.5. Süperoksit Dizmutaz(Sod).....	13
1.2.6. Katalaz(Cat).....	14
1.2.7. Askorbat Peroksidaz(Apx).....	15
1.2.8. Glutatyon Redüktaz(Gr) .....	15
1.2.9. Peroksidaz(Pox).....	16
1.2.10. Nadph Oksidazlar (Nox).....	17

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<b><u>Sayfa</u></b>
2. MATERYAL VE METOD .....	18
2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi .....	18
2.1.1. Tohumların Temini, Sterilizasyonu Ve Ekimi.....	18
2.1.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi, Deneme Deseni .....	18
2.1.3. Enzim ekstraksiyonu ve analizleri.....	19
2.1.4. İstatistik Analizleri .....	20
3. BULGULAR .....	21
3.1. NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> katalaz(CAT) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	21
3.2. NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> peroksidaz(POX) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	22
3.3. NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> askorbat peroksidaz(APX) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	24
3.4. NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> glutatyon redüktaz(GR) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	26
4. TARTIŞMA.....	29
5. SONUÇ .....	32
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	33
ÖZGEÇMİŞ .....	43
TEŞEKKÜRLER .....	45

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
1 1 Fotosentez Enerji Biyokütleyle Dönüşümü.....	1
1 2 Hofmeister Serisi.....	4
1 3 Biyotik Ve Abiyotik Strese Bağlı Olarak Ros Oluşumu (Sarvajet Ve Narendra 2010).....	8
1 4 Habere Weiss Mekanizması (Sarvajet Ve Narendra, 2010).....	9
1 5 Asada-Haliway Reaksiyonu ( Sarvajet Ve Narendra, 2010).....	10
2 1 Çalışmada Kullanılan Uygulma Örneği .....	19
3 1 NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> Katalaz(CAT) Aktivitesi .....	22
3 2 NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> Peroksidaz(POX) Aktivitesi.....	24
3 3 NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaNO <sub>3</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> Askorbat Peroksidaz(APX) Aktivitesi .....	26
3 4 NaCl, NaNO <sub>3</sub> , Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KCl, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> Glutatyon Redüktaz(GR) .....	28



**KISALTMALAR DİZİNİ**

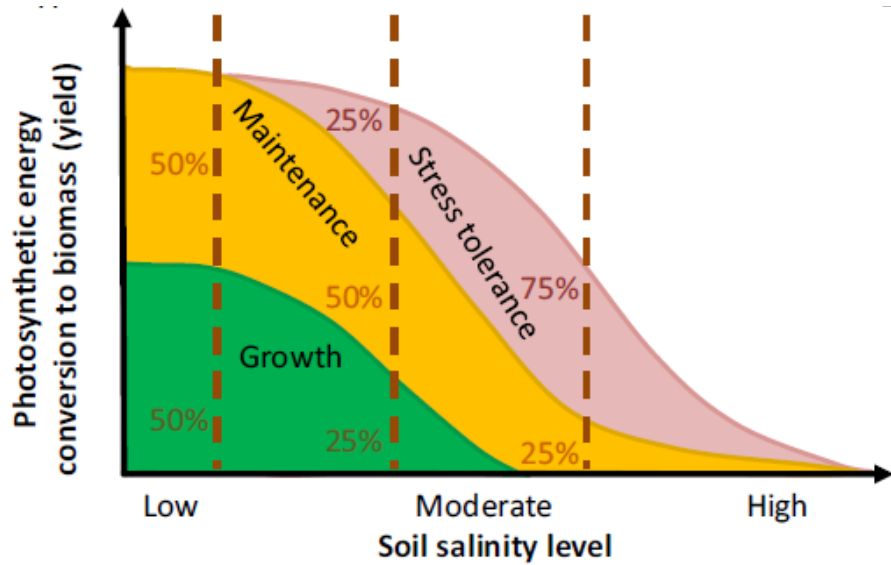
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ROS	Reaktif oksijen türleri
POX	Peroksidaz
CAT	Katalaz
APX	Askorbat peroksidaz
SOD	Süperoksit dismutaz
NOX	NADPH oksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon disülfid
AA	Askorbik asit
MDHA	Monodehidroaskorbik asit
DHA	Dehidroaskorbik asit
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
MDA	Malondialdehit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit



## 1. GİRİŞ

Tuzluluk, özellikle sulama yapılan tarımsal alanlarda bitkisel verim için her zaman önemli bir tehdittir. Bitkilerin tuzlu koşullara karşı toleransı değişkenlik gösterir fakat tarımsal bitki türleri genellikle deniz suyunda bulunan tuz konsantrasyonunun üçte birine tolerans gösteremez (Flowers 2004). Toprak tuzluluğu bu nedenle besin üretimi için önemli bir tehdit teşkil etmektedir. İnsan nüfusunun 2050 yılına kadar 9,3 milyara çıkması ön görülmektedir (Flowers 2004). Günümüzde mevcut dünya nüfusu için yeterli gıda olmasına rağmen, 800 milyondan fazla insan yetersiz beslenmektedir (Flowers2004).

Su kıtlığı ve sulanan arazilerin yetersiz drenajı, olumsuz ekonomik, çevresel ve sosyal etkileri olan mahsullerin büyümesini ve üretkenliğini önemli ölçüde baltalamaktadır (Pannell 2001; Munns & Gilliam 2015). Bu nedenle toprak tuzluluğu en büyük tehditlerden biridir (Flowers 2004). Toprak çözeltisinde aşırı tuz birikimi su ve besin alınımını önemli ölçüde azaltır. Bu topraktaki aşırı tuz birikimi ozmotik strese, iyon toksisitesine, besin degesizliğine ve su eksikliğine yol açar (Flowers 2004). Stresin olmadığı koşullar altında bitkiler, enerjinin çoğunu bitki büyüme gelişimi ve üremes için gerekli süreçlerde kullanır. Fakat, kaynaklar stresin yanıtlarına aktarıldığında, artan tuzluluk seviyeleri ile birlikte kaynak tahsisi değişir (Zörb ve ark, 2019).



Şekil 1.1 Fotosentez enerji biyokütleye dönüşümü

Tuzluluktan kaynaklanan verim kayıpları, tarım ve diğer biyo temelli endüstriler üzerinde yüksek seviyelerde ekonomik kayıplara uğratar. Toprak tuzluluğunun sulanan arazi üzerindeki tahmini ekonomik etkisinin yılda 27 milyar ABD Dolarını aştığı ön görülmektedir. Birçok tarım alanı bazı yıllarda sıfır verim riskiyle karşı karşıya kalmaktadır. Toprak yapısı tuzluluğun etkisiyle bozulduktan sonra, o arazinin tarımsal olarak kullanılması hemen hemen imkansızdır (Qadir ve ark, 2014).

Dünya kıtasal tuzluluk değerleri (milyon ha); Amerika 146.9, Afrika 80.5, Asya 319.3, Avustralya 357.3, Avrupa 50.8 toplam 954.8 ha'dır. Türkiye'de ise 1.5 milyon ha'dır (Birleşmiş Milletler gıda ve tarım örgütü, 2008). Tuzdan etkilenen toprakların miktarı ve sürekli genişlemesi endişe vericidir. Bu durum sürdürülebilir tarımsal üretime önemli bir tehdit olarak görülmektedir. Orta Asya'daki Aral Denizi Havzası'nda (Kazakistan, Kırgız Cumhuriyeti, Tacikistan, Türkmenistan ve Özbekistan) (Qadir ve ark, 2009) sulanan arazinin %50'ye kadar tuzluluktan etkilenmiştir. Avustralya'da yapılan bir araştırmaya göre, 2 Mha tarım arazisinin tuzluluk belirtileri gösterdiğini ve yaklaşık 820.000 ha arazinin bitkisel ürün üretimi için uygun olmadığını gösterilmiştir (Avustralya İstatistik Bürosu, 2004). Küresel ölçekte, şu anda ekilebilir arazinin her dakika 3 hektarının ikincil kaynaklı tuzlanma nedeniyle verimsiz hale geleceği tahmin edilmektedir (Zhu ve ark, 2005).

### **1.1. Tuz Stresi**

Toprak tuzluluğu, dünya çapında tarımsal ürün üretkenliğini azaltan önemli abiyotik streştir. Tuz stresi, bitki büyümesini ve gelişimini olumsuz yönde etkiler. Tuz stresi altında, tohum çimlenmesi, kök ve gövde uzaması ve bitkilerin biyokütle birikimi önemli ölçüde engellenir (Liang ve ark, 2014).

Ozmotik stres, bitki tuzlu toprağa maruz kaldığında bitkinin büyümesini anında etkiler (Horie ve ark, 2011). Fakat iyon toksisitesi, bitkinin iyon dengesini ve büyümesini koruyamayacağı bir eşiğe ulaştığında daha sonra ortaya çıkar. İyon toksisitesi ve ozmotik stres, oksidatif strese neden olabilen birincil streslerdir. Tuz stresi ayrıca fotosentezde bir azalmaya neden olur (Munns ve ark, 2006). Bunun

sonucunda dünya çapında mahsul veriminde önemli bir düşüş olmaktadır (Rengasamy, 2010). Bitkiler stresle mücadele etmek için çok sayıda fizyolojik ve biyokimyasal ve moleküler seviyede stratejiler geliştirmiştir. Örneğin, tuzun yapraklarda yoğunlaşmasını önlemek için tuzun bitkiye alımının engellenmesi buna bir örnektir. Ancak, aynı zamanda dokularda ozmotik düzenleme için hücrelere tuz alması da gerekmektedir. İki durum arasında hassas bir denge vardır. Tuzlu topraklardaki bitkiler, yaprak konsantrasyonları hızla toksik konsantrasyonlara yükselmemesi için tuzun neredeyse tamamını (yaklaşık% 98) dışlamalıdır (Munns ve ark, 2019).

### **1.1.1. Ozmotik stres**

Toprak tuzluluğundaki bir artıştan sonra yaprak büyüme oranı azalır. Bu temel olarak tuzun kökler etrafındaki ozmotik etkisinde kaynaklanmaktadır. Toprak tuzluluğundaki ani bir artış, yaprak hücrelerinin su kaybetmesine neden olur, fakat bu hücre hacmi kaybı ve turgor geçicidir. Ozmotik ayarlama sayesinde saatler içinde hücreler orijinal hacim ve turgorlarına geri döner, fakat buna rağmen hücre uzama oranları azalır (Fricke ve ark, 2002). Günler geçtikçe, hücre uzamasındaki ve hücre bölünmesindeki azalma daha küçük yaprak görünümüne yol açar. Orta derecede tuzluluk stresi için, yanal sürgün gelişiminin engellenmesi haftalar içinde belirgin hale gelir ve aylar boyunca üreme gelişimi üzerinde erken çiçeklenme veya çiçek sayısının azalması gibi etkiler vardır. Bu süre zarfında çok sayıda yaşlı yaprak ölebilir. Ancak genç yaprakların üretimi devam etmektedir. Bitki büyümesindeki tüm bu değişiklikler, tuzun ozmotik etkisine verilen tepkilerdir ve kuraklık tepkilerine benzer (Munns ve Tester, 2008). Tuzluluğa karşı en dramatik ve kolaylıkla ölçülebilen bütün bitki tepkisi, stomalara ait açıklıkta bir azalmadır.

### **1.1.2. İyonik stres**

İyonların protein stabilitesi üzerindeki etkisi, proteinler ve iyonlar arasındaki kimyasal etkileşimlerden, iyonların enzimlerin substrat veya ko-faktörleri olarak görev alması gibi etkileşimlerden kaynaklanabilir (Zhao, 2005).



$\text{SO}_4^{2-} > \text{citrate}^{3-} > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$  ( $\text{Na}^+$  tuzları), Katyonlar  $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+}$  ( $\text{SO}_4^{2-}$  tuzları)(Huang ve ark, 2001).Başka bir çalışmada Monovalent katyonların üre ve termal denatürasyona karşı glikoz oksidazın stabilize edilmesindeki etkinliği: Anyonlar  $\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$  ( $\text{Cl}^-$  tuzları)(Ahmad ve ark, 2001). Domuz kalbi mitokondriyal malat dehidrojenazın tuzlarla(0.05-2.0 M) termal kararlılığı ve kuaterner yapısı: Anyonlar  $\text{citrate}^{3-} > \text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{tartrate}^{2-} > \text{PO}_4^{3-} > \text{F}^- > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^-$  ( $\text{Cs}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  ve  $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$  tuzları)(Jensen ve ark, 1997).

Hofmeister serisini yakından takip eden iyonlar, örnekte gösterildiği gibi enzimler üzerinde inhibisyon veya aktivasyon uygulayabilir. Örneğin, *Halobacterium cutirubrum*'dan menadion redüktaz gibi halofilik enzimler, yüksek aktivitelerini ve stabilitelelerini korumak için yüksek konsantrasyonlarda tuz gerektirir (Lanti ve Stevenson, 1970). Bunun yanında, Meldrum ve Roughton' nın iyon özgüllüğü ile ilgili yaptıkları çalışmada, memelilerde kırmızı kan hücrelerinde keşfedilen bir enzim olan karbonik anhidrazın aktivitesine odaklanmış ve sonuçların çoğu Hofmeister serisiyle ve birkaç istisna dışında iyon kosmotropisite sırası ile tutarlı olduğunu göstermiştir (Meldrum ve Roughton, 1930).

Kosmotropik anyonlar (sitrat veya fosfat gibi) bir proteazın aktivitesini 10 kattan fazla artırabilir (Zhao,2005) . Subtilisin Carlsberg'in liyofilizasyon sırasında aktivasyon derecesinin, kosmotropik  $\text{CH}_3\text{COONa}$  solüsyonu kullanıldığında tuzsuz solüsyona göre 2800 kat olduğunu ve optimum aktivasyonun farklı tuzların ikili karışımları kullanılarak sağlanabileceği görülmüştür (Ru ve ark, 2021). Bazı basit tuzların ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  ve  $\text{CsCl}$  gibi) bile dihidrofolat redüktazlar (Gloss, 2002) ve HIV-1 proteazın (Porter ve ark ,2001) stabilitesini arttırabilir. Multivalent anyonlar daha güçlü kosmotroplardır, bu nedenle daha iyi enzim stabilizatörleri veya aktivatörlerdir (Tablo 1). Foe ve Trujillo tarafından yapılan çalışmada iki değerlikli anyonların ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ,  $\text{SO}_3^{2-}$  ve  $\text{MnO}_4^{2-}$  gibi) domuz karaciğeri fosfofruktokinaz için aktivatörler olmasına rağmen tek değerlikli anyonların olmadığı gösterilmiştir (Foe ve Trujillo, 1980). Sülfat, sitrat ve asetat prostata özgü antijenin (PSA) aktivitesini birkaç yüz

kat artırabilirken, katyonlar ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  ve  $\text{Mg}^{2+}$ ) hafif bir etkiye sahiptir (Huang ve ark, 2001).

NaCl konsantrasyonları (50-200 mM) aralığında halofitik Sodom bitkisinin rubisco aktivitesi, Gilboa bitkisine göre tutarlı bir şekilde daha yüksekti (Solomon, 1994). NaCl'nin Phaseolus vulgaris'teki fotosentetik aktiviteyi stoma kapanmasından bağımsız olarak ve RuBP rejenerasyon potansiyeli üzerinde bir etki yoluyla RuBP havuz boyutunu azaltarak azalttığını gözlemlendi (Seeman ve Sharkey, 1982). O. sativa FruP2ase aktivitesine 200 mM NaCl'den sonra enzim aktivitesinde dik bir düşüş gözlemlenmiştir ve aktivite 500 mM'de %80'den fazla azalmıştır (Chatterjee ve ark, 2013).

### 1.1.3. Tuza tolerans mekanizmaları

Normal koşullar altında, ROS'un üretimi ve süpürülmesi bir denge halindedir. Tuz stresi, kuraklık, düşük sıcaklıklar, ısı şoku ve yüksek ışık stresi gibi birçok stres bu dengeyi bozar ve ROS birikimini artırır. Bitkilerde, ROS sürekli olarak ağırlıklı olarak kloroplastlar, mitokondri ve peroksizomlarda üretilir (Pang ve Wang, 2008). Bu moleküller, genellikle belirli bölmelerle sınırlı olan farklı antioksidan savunma bileşenleri tarafından temizlenir (Alscher ve ark, 1997). ROS üretimi ve temizliği arasındaki denge, olumsuz çevresel faktör tarafından bozulabilir. Bu dengesizliğin bir sonucu olarak, hücre içi ROS seviyeleri hızla yükselebilir (Tsugane ve ark, 1999). ROS konsantrasyonundaki hızlı artışa oksidatif stres adı verilir (Apostol ve ark, 1989).

### 1.1.4. Glikofit ve Halofitik karşılaştırılması

Yakın geçmişte, bitkilerin tuzlulukla baş etmek için kullandıkları moleküler mekanizmaları anlamaya çalışmak için önemli çalışmalar yapılmıştır. Bununla birlikte bu çalışmaların çoğu, arabidopsis, çeltik, domates ve mısır gibi glikofit bitkiler (tuza duyarlı bitkiler) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Glikofitlerle karşılaştırıldığında, halofitler (tuza dirençli veya tuza dayanıklı bitkiler) tuz stresine başarılı bir şekilde uyum sağlamak için en iyi model sistemi sağlayabilir (Shabala, 2013).

Tuzluluk toleransına göre bitkiler; glikofitler ve halofitler olarak iki temel gruba ayrılabilir. Halofitler genellikle yüksek tuz konsantrasyonlarını tolerans gösterebilir hatta tüm yaşam döngülerini 200 mM NaCl'den daha yüksek tuz konsantrasyonlarında tamamlayabilirler (Flowers ve ark, 1986; Flowers ve Colmer 2008). Fakat çoğu glikofitler 100 mM'nin üzerindeki NaCl konsantrasyonlarında büyümesi ciddi şekilde inhibe olmaktadır (Glenn ve ark, 1999).

Halofitler, karasal bitki türlerinin en fazla% 2'sini temsil eder ve doğal olarak evrimleşmiş tuza toleranslı bitkilerdir (Flowers ve Colmer, 2008). Halofitik türler tuzlu ortamlarla mücadele edebilen ve hatta bundan fayda sağlayabilen yüksek verimli ve tamamlayıcı morfolojik, fizyolojik ve anatomik özellikler geliştirmiştir (Flowers ve ark, 1977; Flowers ve Colmer, 2008; Shabala ve Mackay, 2011). Tüm halofitler, tuzlu koşullar altında büyüdüklerinde dokularında ozmotik ayarlama yapabilirler. Bu ayarlamaları  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  gibi inorganik iyonları kullanma yeteneklerinden kaynaklanmaktadır (Apse ve Blumwald, 2007).

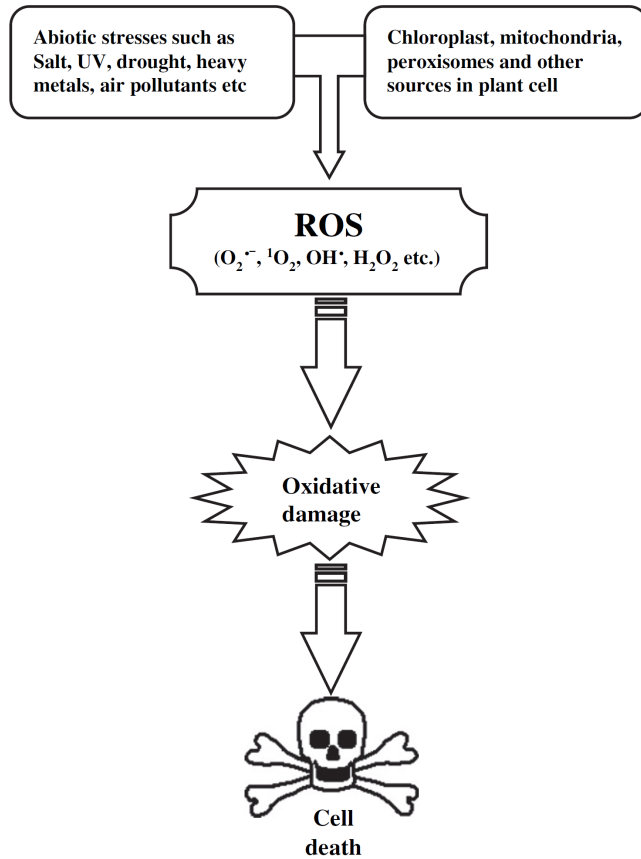
Bitkiler tuzluluğa maruz kaldıklarında, iyonlar (tipik olarak  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$ ) dış su potansiyelini düşürür böylece turgor azalır. Bununla beraber sitoplazmada aşırı birikerek bitki büyümesinin ve gelişiminin engellenmesine sebebiyet verir (Greenway ve Munns, 1980). Tuzlu ortamlara adaptasyon ve büyüme için hem glikofitler hem de halofitler tarafından çok sayıda benzer hücresel mekanizma kullanılır (Flowers ve diğerleri, 1986). Fakat, halofitler,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  'nin vakuolar bölmeleri özel olarak tuzlu ortamlar için uyarlanmıştır. Moleküler düzeyde halofitlerin yüksek tuz adaptif kapasitesi, tuz toleransı sağlayan genlerin artan ifadesine veya tuza yanıt olarak bu genlerin ekspresyonunu düzenleme kapasitesinin daha yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir (Cushman ve ark, 1990; Casas ve ark, 1992). Halofit proteinleri homolog glikofit proteinlerinden daha aktiftir. Bu nedenle halofitler yüksek tuza karşı glikofitlerden çok daha iyi adapte olmuşlardır (Das ve Strasser 2013, Himabindu ve ark, 2016).

*Eutrema parvulum* veya diğer adıyla *Schrenkiella parvula*, Brassicaceae ailesine aittir ve model bitki *Arabidopsis thaliana*'nın yakın akrabasıdır (German ve Al-Shehbaz, 2010). *Eutrema parvulum* halofitik bir bitkidir ve 600 mM gibi

yüksek konsantrasyonlarda NaCl'ye tolerans gösterebilir. Kısa yaşam döngüsüne sahip olması, küçük bir genoma sahip olması ve yüksek miktarda tohum üretimine sahip oldukları ve genetik olarak dönüştürülebilir oldukları için abiyotik stres tolerans mekanizmalarını ortaya çıkarmak için mükemmel modeldir. Bu nedenle *Eutrema parvulum* halofit model olarak kullanıldı (Zhu, 2001).

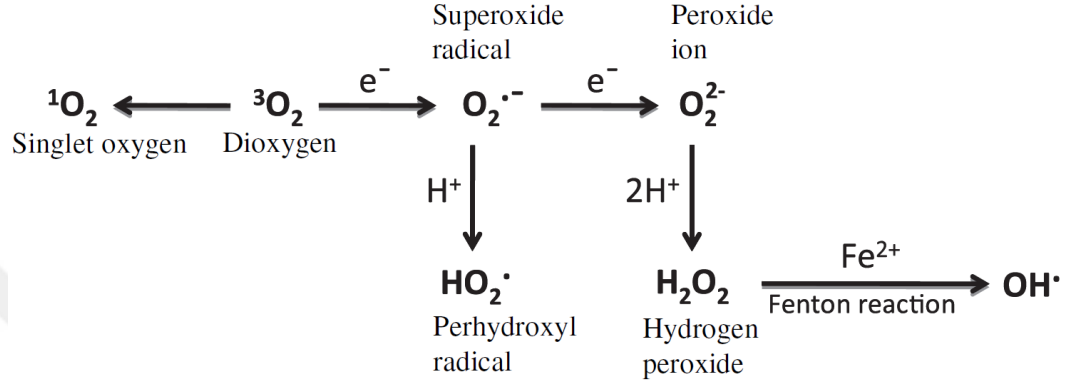
## 1.2. Tuz stresine bağlı oksidatif stres

Oksidatif stres, tuz stresi gibi birincil etkilerin bir sonucu olarak ikincil stres olarak ortaya çıkar. Tuz stresi, bitki hücrelerine zararlı olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) yüksek konsantrasyonlarda birikmesine neden olur. Membran lipidleri, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara uğrar (Gómez ve ark, 1999; Hernández ve ark, 2001).



Şekil 1.3 Biyotik ve abiyotik strese bağlı olarak ROS oluşumu (Sarvajeet ve Narendra 2010)

Atmosferik oksijen nispeten reaktif olmamasına rağmen,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^\cdot$  içeren ROS'a neden olabilir (Franks, 2002).  $O_2^-$  'nin tek elektron indirgenmesi,  $O_2^-$  oluşumuna neden olur. Düşük pH'da, bir  $O_2^-$  nin eklenen elektronun  $H_2O_2$  oluşumuyla sonuçlanır. Ek olarak, bakır ve demir gibi geçiş metallerinin varlığında, Haber-Weiss mekanizması veya Fenton reaksiyonu yoluyla en reaktif kimyasal tür olan  $OH^\cdot$ 'den üretilebilir (Sarvajeet ve Narendra 2010).



Şekil 1.4 Haber-Weiss mekanizması (Sarvajeet ve Narendra, 2010)

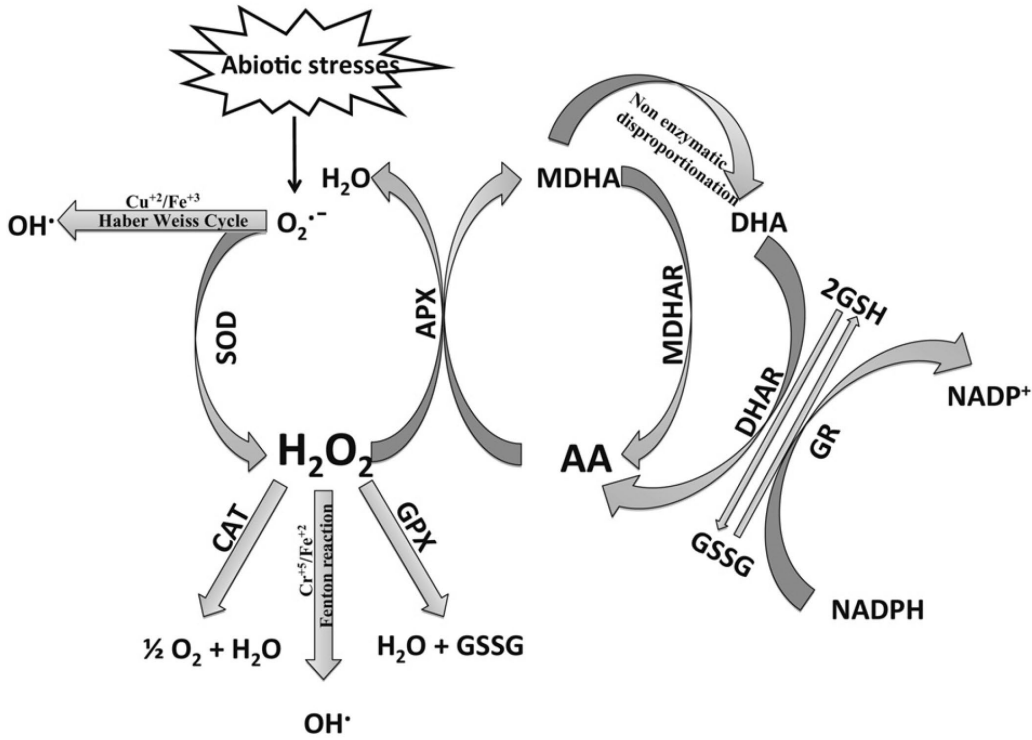
Bitkiler ROS üretimi ve süpürme arasındaki dengeyi korumak için, ROS'a karşı temizleme sistemleri geliştirmiştir. Bu sistemler hem enzimatik hem de enzimatik olmayan (antioksidanlar) sistemleridir. Başlıca ROS süpürücü enzimler arasında SOD, askorbat peroksidaz (APX), CAT, glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR) ve peroksiredoksinler (Prxs) bulunur. Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise askorbik asit (AA), glutatyon (GSH) ve karotenoidler bulunur. Aşağıda her organelle özel ROS üretim ve antioksidan savunma mekanizmaları ile ilgili detaylı bilgi sunulacaktır.

### 1.2.1. Kloroplast

Işık altında kloroplastlardaki oksijen basıncı diğer organellerden çok daha yüksektir. Bu nedenle ROS mekanizmasının odak noktası olarak kabul görür. Kloroplast  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  'nin üreticidir (Davletova ve diğerleri, 2005). Kloroplastta ROS' un ana üretim merkezi; tilakoidler, PSI ve PSII'nin reaksiyon merkezleridir (Pang ve Wang, 2008).

Süperoksit( $O_2^-$ ), plastokinon(PQ) havuzundaki plastosemikion ( $Q^-$ ), ferredoksin (Fd) veya PSI içindeki elektron taşıma zincirindeki demir-kükürt redoks merkezleri tarafından tek elektron indirgenmesiyle oluşur (Dat et al; 2000). Oluşan  $O_2^-$  kendiliğinden ya da SOD ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dönüştürülür. ROS üretimi,  $CO_2$  fiksasyonunu sınırlayan tuz stresinin yanı sıra bu koşulların yüksek ışık stresi kombinasyonu ile beraber daha da artar (Mittler ve ark, 2004).

SOD tarafından üretilen  $H_2O_2$ , APX ile suya indirgenir ve askorbik asit (AsA), monodehidroaskorbat radikaline (MDHA) oksitlenir. Daha sonra, MDHA, indirgenmiş ferredoksin (Miyake ve Asada,1994) veya kloroplastik MDHA redüktaz ile katalize edilen NAD(P)H ile doğrudan AsA'ya indirgenir. MDA doğrudan AA'ya indirgenemezse, iki MDHA molekülü kendiliğinden dehidroaskorbat (DHA) ve AsA'ya dönüşebilir. DHA daha sonra DHA redüktaz ile katalize edilen indirgenmiş glutatyon (GSH) ile AA'ya indirgenir (Shimaoka ve ark, 2003;). Bu nedenle, AA'nın rejenerasyonunun herhangi bir yolunda, PSII'deki sudan türetilen yarımlar, oksijenin tek değerlikli indirgenmesi için ve diğer yarısı da  $H_2O_2$ 'yi indirgemek için indirgeyici güç olarak kullanılır. Bu döngü su-su döngüsü olarak adlandırılır (Asada,2006).



Şekil 1.5 Asada-Halliway reaksiyonu ( Sarvajet ve Narendra, 2010)

### 1.2.2. Mitokondri

Mitokondriyal elektron taşıma zinciri, dört elektron taşıma kompleksi (kompleksler I – IV) içerir. Fakat süperoksit ( $O_2^-$ )'in üretiminin büyük kısmından sorumlu bileşenler kompleks I (NADH dehidrogenaz) ve kompleks III (sitokrom  $bc_1$ )'dür (Boveris ve Chance 1997, Takeshiga ve Minakami 1979). Solunum zincirinden üretilen  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'ye indirgenir.  $H_2O_2$  diğer ROS çeşitlerine göre nispeten daha az toksik bir bileşiktir ve diğer hücresel kısımlara yayılabilir (Greene 2002, Sweetlove ve Foyer 2004). Yeşil dokuda mitokondrideki ROS üretimi, memeli hücrelerindeki mitokondriye kıyasla çok düşüktür. Bunun bir nedeni, bitki mitokondrilerinin bir alternatif oksidaza (AOX) sahip olması ve ubikuinon (UQ) havuzunun oksitlenmesinde sitokrom  $bc_1$  kompleksiyle rekabet etmesidir (Apel ve Hirt, 2004).

Tuz stresi, mitokondriyal elektron taşıma zinciri bozarak ROS miktarını artırarak oksidatif strese neden olur (Hernandez ve ark, 1993). Mitokondride üretilen ROS, mitokondriyal lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar verebilir. Bu nedenle, aşırı üretilen ROS temizlenmelidir.  $O_2^-$ 'den  $H_2O_2$  üretimini katalize eden mitokondriyal Mn-SOD, mitokondriyal elektron taşıma zincirinden üretilen  $O_2^-$ 'yi temizlemenin ilk adımıdır (Kliebenstein ve diğerleri 1998; Møller 2001). Sonuç olarak  $H_2O_2$ , AsA-GSH döngüsü (Jiménez ve diğerleri 1997) ve mitokondriyal APX tarafından uzaklaştırılır. PRXler ayrıca mitokondriyal  $H_2O_2$ 'yi de süpürebilirler. PRXler, indirgeyici kaynaklar olarak indirgenmiş tiyoredoksinleri kullanır ve bunlar da tiyoredoksin redüktazlar tarafından indirgenir (Sweetlove ve Foyer 2004).

Bitki mitokondrileri mitokondriyal elektron taşıma sistemi süperoksit üretimini kontrol edebilir. Bunu iki mekanizma ile yapabilir. Bunlardan ilki, ubikuinon havuzunu oksitleyerek indirgenme durumunu kontrol edebilen AOX proteini ile gerçekleşmektedir. (Maxwell ve diğerleri 1999). İkincisi ise ayırma proteini (uncoupling protein=UCP) ile membrandan proton sızıntısını kolaylaştırılmasıdır. Sonuç olarak mitokondriyal elektron taşıma sisteminin inhibisyonunu ortadan kalkmış olur (Hourton-Cabassa ve diğerleri, 2004; Sluse ve Jarmuszkiewicz, 2006) bu sonucunda ROS oluşumu en aza inmektedir.

### 1.2.3. Peroksizom

Bitki hücrelerinde, peroksizomlar hücre içi  $H_2O_2$  üreten başlıca organeldir. (del Rio ve ark, 2006). Bunlardan ilki fotorespirasyon sırasında glikolatın glikolat oksidaz ile katalize edilerek  $H_2O_2$  üretilmesidir. Flavin oksidazların enzimatik reaksiyonu olan yağ asidi  $\beta$ -oksidasyonu da  $H_2O_2$  üretebilmektedir (Baker ve Graham 2002). Tuz stresi, peroksizomların lipid peroksidasyonunu artırabilir (Mittova ve ark, 2003). Tuzlulukla bağlantılı olan stomatal kapanma, peroksizomal oksidatif stres neden olur. Bu koşullar altında, fotorespiratuar peroksizomal glikolat oksidaz, ROS oluşum oranını artırır ve oksidatif strese sebep olur (Smirnoff, 1993).

AA-GSH döngüsünün intraperoksizomal dağılımı ve işlevi de tanımlanmıştır (del Río ve ark, 2006). DHAR ve GR, peroksizom matrisinde bulunur APX ve MDAR ise peroksizomal membranın sitozolik tarafına bulunur. Yaprak peroksizomal membranında APX ve MDAR'ın olması, bu membrana bağlı antioksidan enzimlerin peroksizomal metabolizma ile ikili bir tamamlayıcı işlevi gösterir. İlk olarak, MDAR, peroksizomal metabolizma için sabit bir  $NAD^+$  tedarikini sürdürmek için  $NADH$ 'yi yeniden okside eder. İkincisi olarak ise zara bağlı antioksidan enzimler,  $H_2O_2$ 'nin peroksizomlardan sızmasını önler (del Río ve ark, 2002).

Tuzluluk, yabani tuza toleranslı domates türü *Lycopersicon pennellii*'nin kök peroksizomlarında AA ve GSH seviyelerini ve SOD, APX, CAT ve MDAR aktivitelerini yükseltir (Mittova ve ark, 2004).

### 1.2.4. Apoplast

Apoplast ve hücre duvarındaki ROS detoksifikasyonundan sorumlu enzimatik bileşenler yalnızca kısmen bilinmektedir. Castillo ve Greppin' nin yaptıkları çalışmada apoplastta AA-GSH döngüsünün antioksidan enzimlerini tespit edememişlerdir. (Castillo ve Greppin, 1988). Bununla birlikte, SOD aktivitesinin değil, aynı zamanda hem arpa (*Hordeum vulgare*) hem de yulaf

(*Avena sativa*) yapraklarının apoplastında AA-GSH döngüsü ve CAT varlığı da tespit edilebilmiştir (Luwe 1996; Vanacker ve ark 1998). Farklı organellerin kendi özel ROS temizleme sistemleri vardır. Farklı bölmelerin ilk başta kendi ROS temizleme sistemleri tarafından korunduğu ve daha sonra bitki hücrelerini oksidatif hasardan korumak için bir şekilde koordineli olarak çalıştıkları düşünülmektedir. Hücrelerdeki ROS seviyesinin düzenlenmesinde farklı hücrel bölmelerden gelen ROS süpürme yollarının koordineli işlevi, hücrel hasarı önler ve ROS sinyalini kontrol eder (Pang ve Wang, 2008)

### 1.2.5. Süperoksit dizmutaz(SOD)

Çeşitli çevresel streslerin sıklıkla artan ROS oluşumuna yol açtığı iyi bilinmektedir, burada SOD'nin bitki stres toleransında önemli olduğu ve yüksek ROS seviyelerinin toksik etkilerine karşı ilk savunma hattını sağladığı önerilmiştir. SOD'ler,  $O_2^-$  'nin dismutasyonunu katalize eder ve bir  $O_2^-$   $H_2O_2$  'ye indirgenir ve diğeri  $O_2$ 'ye oksitlenir (Gill, ve Tuteja, 2010).



Bu reaksiyon,  $O_2^-$  'yi giderir ve dolayısıyla metal katalizli Haber-Weiss tipi reaksiyon yoluyla  $OH^-$  oluşumu riskini azaltır.

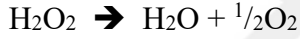
SOD'lar, metal kofaktörlerine göre üç türe ayrılır. Bunlar, farklı hücrel bölmelerde lokalize olan bakır / çinko (Cu / Zn-SOD), manganez (Mn-SOD) ve demir (Fe-SOD)'dir.

*A. thaliana* genomunda, üç FeSOD geni (FSD1, FSD2 ve FSD3), üç Cu / ZnSOD geni (CSD1, CSD2 ve CSD3) ve bir MnSOD geni (MSD1) bildirilmiştir (Kliebenstein,1999). Fe-SOD,  $H_2O_2$  'ye duyarlıdır. Bu izozimlerin hücre altı dağılımı da belirgindir. Mn-SOD, ökaryotik hücrelerin peroksizomlarında ve mitokondrilerinde bulunur (del Rio, 2003). Bazı Cu / Zn-SOD izozimleri sitozolik fraksiyonlarda ve ayrıca yüksek bitkilerin kloroplastlarında bulunur (del Rio, 2002) Fe-SOD izozimleri ise mevcut olduklarında (Alscher ve Erturk,2002) genellikle kloroplast bölmesiyle ilişkilidir (Gill ve Tuteja, 2010).

SOD'ların yukarı regülasyonu, biyotik ve abiyotik stresin neden olduğu oksidatif stresle baş etmede rol oynar ve stres ortamı altında bitkilerin yaşamını sürdürmesinde kritik bir öneme sahiptir. Çeşitli bitkilerde tuz stresi altında SOD aktivitesinde önemli artış gözlenmiştir. Ayrıca tuz stresi altında Cu / ZnSOD ve MnSOD izozimlerinin aktivitelerinde *Hordeum vulgare* (Guo ve ark, 2004), *Oryza Sativa* (Hsu ve Kao, 2004) *Triticum aestivum* (Khan, 2007), *Brassica juncea* (Mobin ve Khan, 2007) gibi bitkilerde gözlemlenen ciddi artışlar mevcuttur.

### 1.2.6. Katalaz(CAT)

CAT'lar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'yi doğrudan H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub> 'ye ayırma özelliğine sahiptir. Stresli koşullar sırasında ROS detoksifikasyonu için vazgeçilmez bir öneme sahiptir.

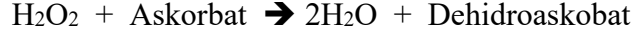


CAT, tüm enzimler için kataliz hızı en yüksek olandır. CAT molekülü, 60 saniyede 6 milyondan fazla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülünü H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ye parçayabilir. CAT, yağ asitlerinin oksidasyonu, fotorespirasyon ve pürin katabolizmasında rol oynayan oksidazlar tarafından peroksizomlarda oluşturulan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin uzaklaştırılmasında büyük bir öneme sahiptir (Polidoros ve ark,1999). *A. thaliana*'da, ayrı 3 izoformu (CAT1, CAT2 ve CAT3) ile bağımsız olarak düzenlendiği tespit edilmiştir (Demirevska ve ark, 2010).

Hsu ve Kao 'nın yaptığı çalışmada, çeltik fidelerinin ısı şoku olmayan koşullar altında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile ön işlemden geçirilmesinin CAT aktivitesinde bir artışa neden olduğunu bildirilmiştir (Hsu ve Kao, 2007). Benzer şekilde Kukreja ve arkadaşları, tuzluluk stresini takiben *C. arietinum* köklerinde CAT aktivitesindeki artış gözlemlenmiştir (Kukreja ve ark, 2005). Sharma ve Dubey'nin yaptığı çalışmada kuraklık stresi uygulamasında pirinç fidelerinde CAT aktivitesinde bir azalma olduğunu gözlenmiştir (Sharma ve Dubey, 2005).

### 1.2.7. Askorbat Peroksidaz(APX)

APX yüksek bitkilerde, alglerde, euglenada ve diğer organizmalarda hücreleri ROS'dan temizlemede en önemli rolü oynadığı göz önünde tutulmaktadır. APX, su-su ve ASH-GSH döngülerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'nin süpürülmesine dahil olur ve askorbata elektron vericisi olarak kullanır.



APX ailesi, tilakoid (tAPX) ve glioksizom membran formlarının (gmAPX), kloroplast stromal çözünür form (sAPX), sitozolik form (cAPX) dahil olmak üzere en az beş farklı izoformdan oluşur (Noctor ve Foyer, 1998). APX, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için CAT'dan daha yüksek bir ilgiye sahiptir. Stres sırasında ROS düzenlenmesinde ciddi bir yere sahiptir. Bitkilerde farklı stres koşulları sırasında APX ekspresyonu ve aktivitesinde artış gerçekleşir (Gill ve Tuteja, 2010).

Sharma ve Dubey'nin yaptığı çalışmada hafif kuraklık stresli bitkilerin, kontrol yetiştirilen bitkilerden daha yüksek kloroplastik-APX aktivitesine sahip olduklarını ancak aktivitenin daha yüksek kuraklık stresi seviyesinde düştüğünü bulmuşlardır (Sharma ve Dubey, 2005). Koussevitzky ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sitozolik APX1'in bitkilerin kuraklık ve yüksek sıcaklık stresi kombinasyonuna karşı korunmasında anahtar bir rol oynadığını gösterilmiştir (Koussevitzky ve ark, 2008).

### 1.2.8. Glutasyon Redüktaz(GR)

GR, hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunan bir flavo-protein oksidoredüktazdır (Romero-Puertas ve ark, 2006). ASH-GSH döngüsünün bir enzimidir ve ROS'a karşı savunma sisteminde önemli bir role sahiptir. Genel olarak kloroplastlarda lokalize olmasına rağmen bu enzimin küçük bir miktarı mitokondri ve sitozolde de lokalizedir (Creissen ve ark,1994). GR, GSSG'nin disülfid bağıını indirgeyerek bitkilerde birçok metabolik düzenleyici ve antioksidatif süreçte yer alan bir molekül olan GSH'ye indirgenmesini katalize

etmektedir. Bu sebeple GSH havuzunu muhafaza edebilmek için oldukça önemli bir rol oynar (Reddy ve Raghavendra, 2006; Chalapathi Rao ve Reddy, 2008).



GR ve GSH, bir bitkinin çeşitli stresler altındaki toleransını belirlemede önemlidir(Chalapathi Rao ve Reddy, 2008). Srivastava ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada,  $\text{Cu}^{2+}$  stresi altında *A. doliolum*'da GR aktivitesinde düşüş olmasına rağmen tuz stresi altında arttığı bildirilmiştir( Srivastava ve ark, 2005). Sharma ve Dubey'in yaptığı çalışmada, kuraklık stressine maruz kalan *Oryza sativa* fidelerinde GR aktivitesinde önemli bir artış olduğunu belirtmişlerdir(Sharma ve Dubey, 2005). Bir diğer çalışmada, oksidatif strese karşı GR'nin olası mekanizmasını anlamak için %30 ila %70 daha az GR aktivitesine sahip transgenik *N. tabacum* bitkilerinde oksidatif strese karşı artan hassasiyet gösterilmiştir. GR'nin GSH'nin rejenerasyonunda önemli bir rol oynadığı ve bundan dolayı AsA havuzunu da koruyarak oksidatif strese karşı direnci arttırdığı bilinmektedir (Ding ark, 2009).

### 1.2.9. Peroksidaz(POX)

POX iki gruba ayrılabilir; elektron vericisi olarak AA kullanan POX (sınıf I) ve elektron vericisi olarak fenolikleri kullanan POX (Sınıf 111) (Banci, 1997). Askorbik asit POX izozimleri esas olarak kloroplastlarda, sitozolde (Asada, 1992) ve peroksizomlarda (Alvarez ve ark., 1998, Yamaguchi ve ark, 1995) lokalizedir.

AA varlığında peroksidaz (POX) substratları olarak kullanıldığında, fenolikler başlangıçta POX tarafından oksitlenir ve oluşan fenoksil radikalleri AA üreten monodehidroaskorbik asit ve dehidroaskorbik asit tarafından indirgenir. Bitki hücrelerinde AA'nın oksidasyon formları AA'ya indirgendiğinden, fenolikler / AA / POX sistemleri, fenoliklerin oksidasyon ürünlerini biriktirmeden  $\text{H}_2\text{O}_2$  'yi temizleyebilir(Takahama ve Oniki, 2000). POX çok işlevlidir. POX, normal büyüme sırasında ikincil hücre duvarlarında biriken hücre duvarı oluşumuna katılır (Sato et al, 1993). Ayrıca fenol POX, vakuollerde ve apoplastta (Takahama ve Oniki 1992) AA ile işbirliği yaparak  $\text{H}_2\text{O}_2$  'yi süpürür.

### 1.2.10. NADPH oksidazlar (NOX)

NADPH oksidazlar (NOX), bir tür reaktif oksijen türü (ROS) olan süperoksitlerin üretimini katalize eder. Bitkilerde NOX homologları, solunum patlaması oksidaz homologları (Rboh) olarak adlandırılmıştır ve ayrıca patojenlere yanıt olarak ROS üretimine de katılırlar (Sagi ve Fluhr, 2001).

Memeli NADPH oksidazının bir bitki homologue olan solunum patlaması oksidaz homologue (RBOH),  $O_2$  'yi  $O^{2-}$  'ye dönüştürür (Torres ve Dangl, 2005). Bitki RBOH'leri multigen ailesini oluşturur (Suzuki ve ark, 2011).

Arabidopsis ve pirinç genomları sırasıyla 10 ve 9 RBOH genine sahiptir (Torres ve Dangl, 2005). Her homolog, geniş bir biyolojik süreçlerde özel bir rol üstlenir (Marino ve ark, 2012). Örneğin, At-RBOHB tohum olgunlaşmasını düzenler (Müller ve ark, 2009). At-RBOHD ve At-RBOHF, bağışıklık tepkisini düzenler (Torres ve ark, 2002). Bazı RBOH'lar çoklu işlevlere sahiptir (Suzuki ve ark, 2011). Örneğin, At-RBOHD, bağışıklık tepkisinde ve stomatal kapanmada ROS üretimine aracılık eder (Zhang ve ark, 2009) ve ayrıca dış uyaranlara verilen yanıtlar sırasında (Miller ve ark, 2009) ve lignin üretiminde (Denness ve ark, 2011) sistemik sinyal iletiminde önemli bir rol üstlenir. Ayrıca, At-RBOHD mutantında anoksik (anaerobik) koşullar altında fidelerin hayatta kalma oranı azalır (Pucciariello ve ark, 2012).

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

#### 2.1.1. Tohumların temini, sterilizasyonu ve ekimi

Çalışmamızda Tuz Gölü çevresinden elde edilen bitkilerden *E. parvulum* ve *A. thaliana*'nın Col-0 ekotipi tohumları kullanılmıştır. Kullanılan tohumlar laboratuvarımızda var olan stoklardan tedarik edilmiştir. *A. thaliana* ve *E. parvulum* tohumları %70 konsantrasyondaki etanolde yarım dakika boyunca bekletilmiştir. İşlemin devamında deiyonize su (dI-H<sub>2</sub>O) ile arıtılmıştır. Daha sonra 5 dakika boyunca %5 derişimindeki NaOCl'de bekletilmiş ve tekrar deiyonize su (dI-H<sub>2</sub>O) ile arıtılmıştır.

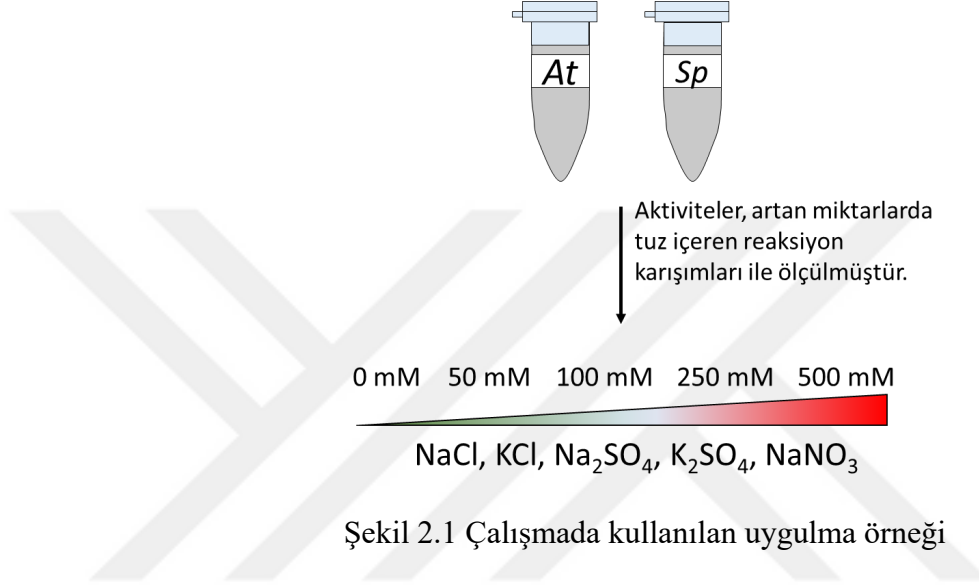
Tohumlar *A. thaliana* ve *E. parvulum* tohumları 7:2:1 toprak:vermikulit:perlit karıştırılarak hazırlanan karışımın eşit oranda saksılara aktarılmasının ardından her saksıya 4'er tohum olacak şekilde ekilmiştir.

Tohumlar 7 gün ışısız ortamda çimlendirilmiştir. Çimlenen bitkiler 8 saat karanlık/ 16 saat aydınlık periyodunda 25/23 °C'de nem oranı % 70 olan 350 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> ışık yoğunluğunda büyütülmüştür (Hoagland ve Arnon, 1950).

#### 2.1.2. Bitkilerin yetiştirilmesi, deneme deseni

Büyüme sesnasında bitkiler 48 saatte bir ½ kuvvet Hoagland çözeltisi ile alttan sulanmıştır. *A. thaliana*'nın *E. parvulum* bitkisine göre büyüme daha hızlıdır. Bu sebeple, uygulamalar esnasında bitkilerin fizyolojik yaşlar bakımından benzeşim göstermesi amacıyla *A. thaliana* bitkileri *E. parvulum* bitkilerine göre 2 hafta geç ekilmiştir. Bitkilerin büyüme esnasında herhangi bir tuz uygulaması yapılmamıştır.

Uygulama şu şekilde yapılmıştır. İlk olarak aşağıda detaylarıyla anlatıldığı şekilde enzim ekstraktları hazırlanmış ve ardından yine aşağıda detaylarıyla verilen reaksiyon karışımlarına farklı tuzlar değişik konsantrasyonlarda karıştırılmıştır. Kullanılan konsantrasyonlar 50-100-250-500 mM tuzlar ise NaCl, KCl,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$  olarak seçilmiştir eklendi. Yapılan uygulama Şekil 2.1’de özetlemiştir.



### 2.1.3. Enzim ekstraksiyonu ve analizleri

Örnekler (0.1 g) sıvı azot ile havanda dövüldükten sonra 0.1 mM EDTA, 0.1% (w/v) Triton X-100 ve PVP (1% w/v) ihtiva eden 50 mM Tris-HCl (pH 7.8) ile homojenize edilmiştir. APX aktivitesinin tayin etmek için homojenizasyon tamponuna 5 mM askorbat ilave edilmiştir. Homojenize olan örnekler  $10,000 \times g$ 'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar enzim aktivitelerinin ölçümü için alınmıştır. Spektrofotometrik analizler Shimadzu UV 1700 spektrofotometre değerlendirilmiştir.

CAT (EC 1.15.1.1) aktivitesi 240 nm'de  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin absorbansın düşüş hızı ölçülerek saptanmıştır(Bergmeyer, 1970). POX (EC 1.11.1.7) aktivitesi 465 nm absorbanstaki yükseliş hızı olarak saptanmıştır. 0,001 L hacimde 60 saniyede örnekteki  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin moleküllere ayrılma oranı ile saptanmaktadır (Herzog ve

Fahimi, 1973). APX (EC 1.11.1.11) aktivitesi askorbat oksitlendikçe 290 nm absorbansın düşüş hızı olarak saptanmaktadır ve hesap edilirken askorbatın sönüm katsayısı olarak  $2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  kullanılarak saptanmaktadır (Nakano ve Asada, 1981). GR (1.6.4.2) enzim aktivitesi için NADPH'ın oksidasyonu 340 nm absorbansta gözlenmiştir. NADPH sönüm katsayısı olarak  $6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  kullanılarak saptanmaktadır (Foyer ve Halliwell, 1976).

#### 2.1.4. İstatistik analizleri

Deneyler ikişer olacak şekilde yenilenmiştir. Her tekrarda 3 kopya olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (n=6). Sonuçlar ortalama olarak ifade edilmiştir. Hata çubukları standart ortalamanın standart hatasını(SE) göstermek için değerlendirilmiştir. ( $\pm$  SEM). Gruplar t-test kullanılarak her türün 0 mM tuz içeren grubuyla karşılaştırılmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> katalaz(CAT) aktivitesi üzerine etkisi

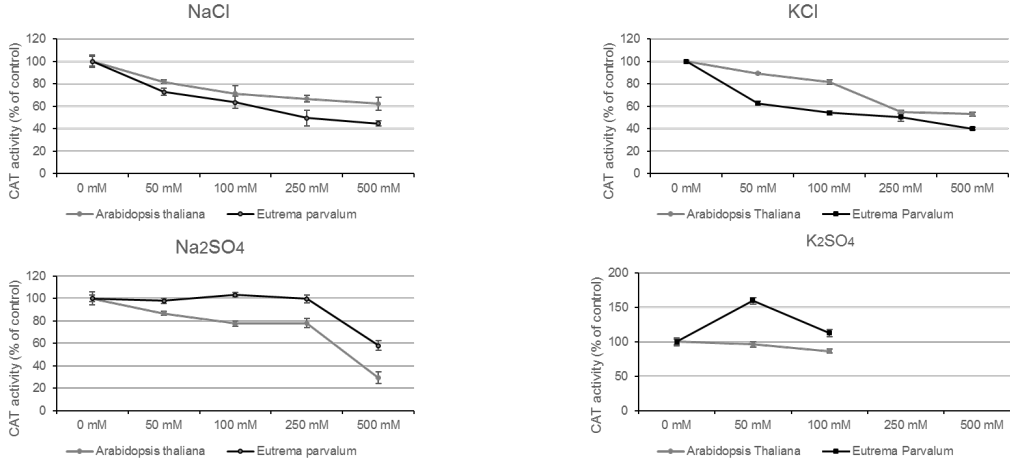
*A. thaliana* bitkisinde uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %19, %29, %44, %48 oranında bir azalmaya neden olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %18, %37, %51, %66 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %14, %33, %33, %71 oranında bir azalmaya neden olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250 mM'da kayda değer bir değişim gözlenmemiştir. Fakat 500 mM'da %47 oranında düşüş gözlenmiştir.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %11, %19, %46, %47 oranında bir azalmaya neden olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %38, %46, %50, %60 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında 50 mM, 100 mM'da sırasıyla %4, %15 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. 150, 250, 500 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında 240 nm'de girişim yaptığından ölçüm yapılamamıştır. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan 50 mM, 10mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında sırasıyla %59, %12 oranında bir artışa sebep olmuştur.

NaNO<sub>3</sub> ve KNO<sub>3</sub> tuzları 240 nm'de girişim yaptığından ölçüm yapılamamıştır.



Şekil 3.1 NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> katalaz(CAT) aktivitesi

### 3.2. NaCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> peroksidaz(POX) aktivitesi üzerine etkisi

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %5, %15, %20, %49 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %9, %11, %18, %31 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %29, %27, %28, %29 oranında bir artışa sebep olmuştur.

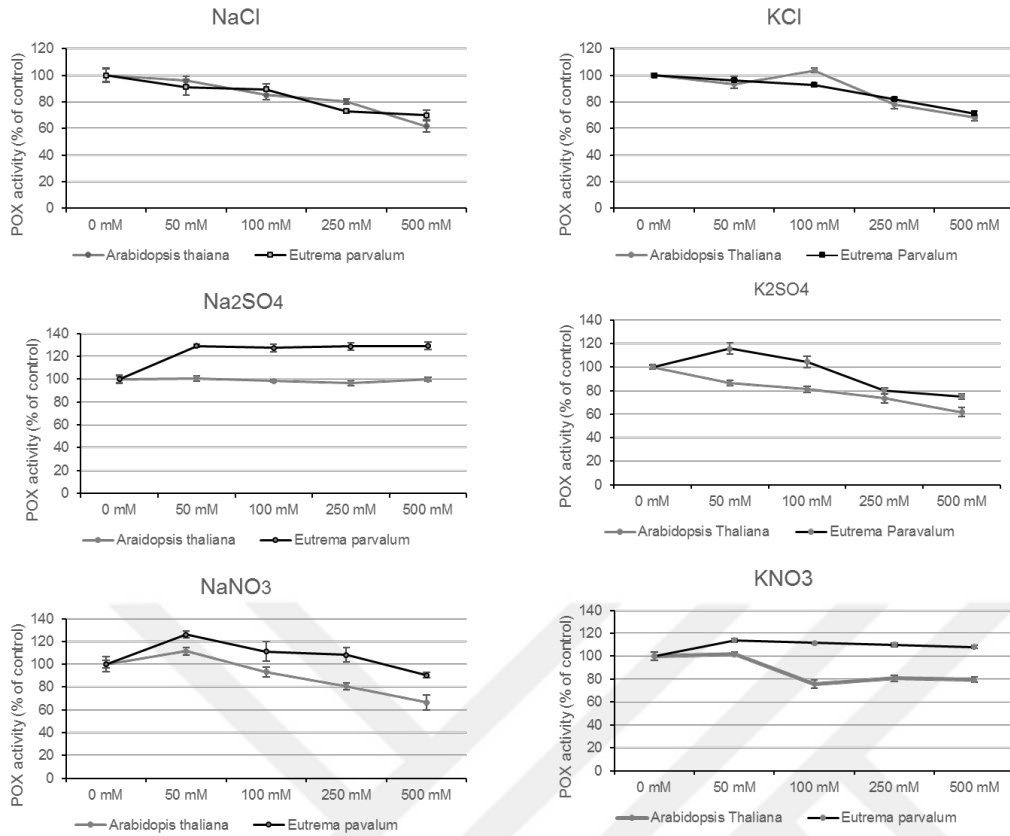
*A. thaliana* bitkisinde uygulanan NaNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarından 50 mM konsantrasyonda %11 oranında artış gözlenmiştir. Fakat 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %7, %20, %34 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarından 50, 100, 250, mM'da sırasıyla %26, %11, %8 oranında bir artışa sebep olmuştur. Fakat 500 mM'da %10 oranında bir azalma gözlenmiştir.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100 mM'da anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Fakat 250, 500 mM'da

sırasıyla %22, %32 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100 mM'da anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Fakat 250, 500 mM'da sırasıyla %18, %29 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $K_2SO_4$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %14, %19, %27, %39 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $K_2SO_4$  konsantrasyonlarından 50, 100, mM'da sırasıyla %15, %4 oranında bir artışa sebep olmuştur. Fakat 250, 500 mM'da sırasıyla %21, %26 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $KNO_3$  konsantrasyonlarından 50 mM'da anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %15, %20, %21 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $KNO_3$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %13, %11, %9, %8 oranında bir artışa sebep olmuştur.



Şekil 3.2 NaCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> peroksidaz(POX) aktivitesi

### 3.3. NaCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> askorbat peroksidaz(APX) aktivitesi üzerine etkisi

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %10, %17, %34, %54 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %13, %23, %43, %60 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

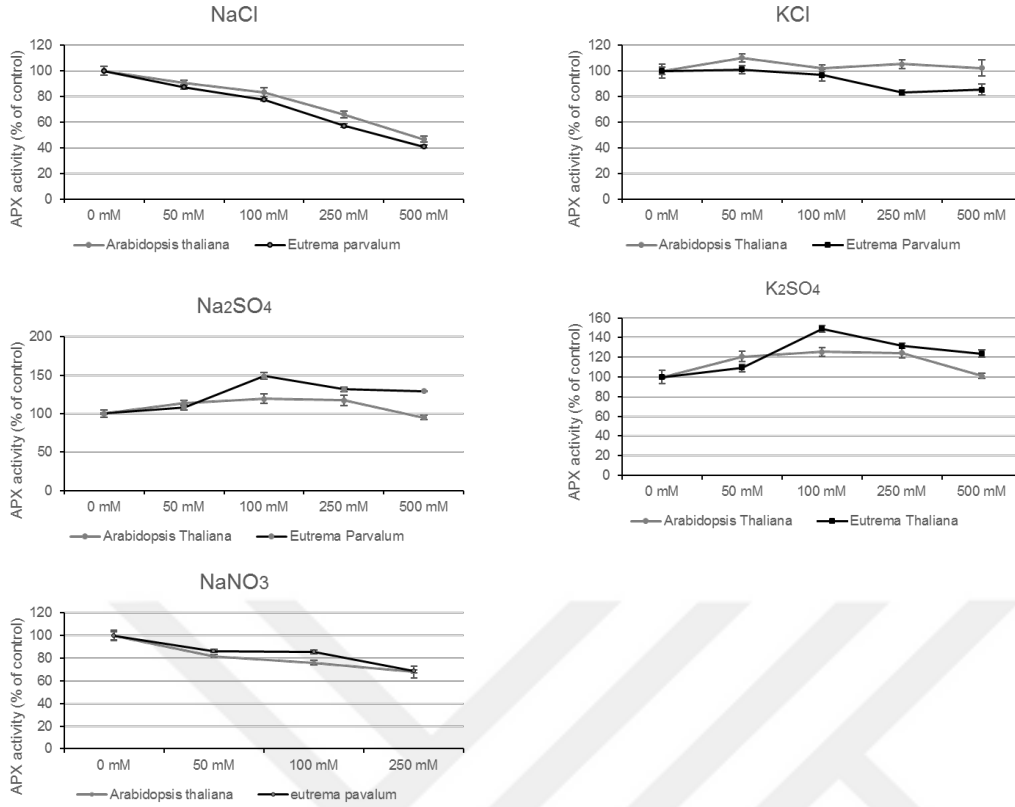
*A. thaliana* bitkisinde uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50, 100, 250 mM'da Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarında 50, 100, 250 Mm'da sırasıyla %13, %19, %17 oranında bir artışa sebep olmuştur. 500 Mm'da anlamlı bir fark gözlenmemiştir. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %8, %48, %31, %29 oranında bir artışa sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $\text{NaNO}_3$  konsantrasyonlarında 50, 100, 250 mM'da sırasıyla %18, %24, %33 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. Fakat 500 mM'da girişim yaptığından ölçülmemiştir. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $\text{NaNO}_3$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, mM'da sırasıyla %14, %15, %32 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. Fakat 500 mM'da girişim yaptığından ölçülmemiştir.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da kontrol grubuna göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100 mM'da kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Fakat 250, 500 mM'da sırasıyla %17, %15 oranında bir artışa sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $\text{K}_2\text{SO}_4$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250 mM'da sırasıyla %20, %25, %24 oranında bir artışa sebep olmuştur. Fakat 500 mM'da kontrole göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $\text{K}_2\text{SO}_4$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %9, %48, %31, %23 oranında bir artışa sebep olmuştur.

$\text{KNO}_3$  tuzları 290 nm'de girişim yaptığından ölçüm yapılamamıştır.



Şekil 3.3 NaCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> askorbat peroksidaz(APX) aktivitesi

### 3.4. NaCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> glutatyon redüktaz(GR) aktivitesi üzerine etkisi

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %22, %38, %53, %77 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan NaCl konsantrasyonlarından 50 mM'da %5 oranında artmıştır. Fakat 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %10, %39, %67 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50 mM'da %9 oranında artışa sebep olmuştur. Fakat Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100, 250, 500 Mm'da sırasıyla %5, %35, %57 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonlarından 50 mM'da %24 oranında

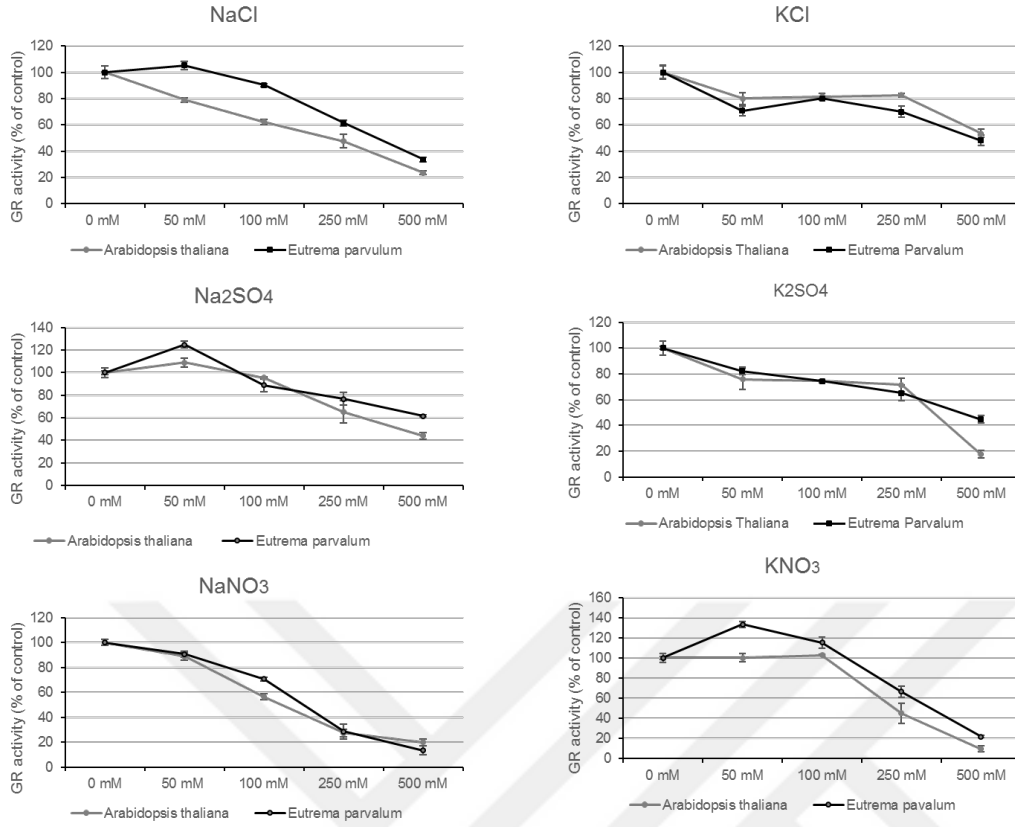
artışa sebep olmuştur. Fakat 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %11, %24, %39 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $\text{NaNO}_3$  konsantrasyonlarında 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %22, %46, %73, %81 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $\text{NaNO}_3$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %10, %20, %72, %87 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %20, %19, %18, %47 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan KCl konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %30, %20, %31, %52 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $\text{K}_2\text{SO}_4$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %25, %26, %29, %83 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $\text{K}_2\text{SO}_4$  konsantrasyonlarından 50, 100, 250, 500 mM'da sırasıyla %18, %26, %35, %56 oranında bir azalmaya sebep olmuştur.

*A. thaliana* bitkisinde uygulanan  $\text{KNO}_3$  konsantrasyonlarından 50 ve 100 mM'da kontrole göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Fakat 250, 500 mM'da sırasıyla %55, %61 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. *E. parvulum* bitkisindeki uygulanan  $\text{KNO}_3$  konsantrasyonlarından 50, 100 mM'da sırasıyla %33, %15 oranında bir artışa sebep olmuştur. Fakat 250, 500 mM'da sırasıyla %36, %79 oranında azalmaya neden olmuştur.



Şekil 3.4 NaCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> glutatyon redüktaz(GR)

#### 4. TARTIŞMA

Glikofit bitkilerde tuz stresinin iyonik etkisinin şiddetlenmesi ve hücre içinde Na ya da Cl gibi iyonların yüksek miktarda birikmesi ile bitki büyümesi ve performansında şiddetli bir düşüş gözlenmektedir. Hücre içi iyon kompartmantasyonunu glikofitlere göre daha etkin şekilde gerçekleştirebilen halofitik bitkilerde ise büyümedeki bu düşüş daha yüksek konsantrasyonda da ya da daha uzun süreli maruziyette gözlenebilmektedir. İyonik etkinin en önemli etkilerinden birisi hücre içinde farklı bölmelerde bulunan enzimlerin (i) substratlarına olan ilgileri, (ii) yapılarının stabilitesi ve (iii) katalitik hızları üzerine etkilere sahip olmasıdır. Tüm bu etmenler metabolizmada aksamalara neden olabilmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar tuz stresine bağlı yüksek iyon kuvvetinin çeltik ve Arabidopsis gibi glikofitlerde, grana yığınının bozulmasına neden olarak, zayıf PSII aktivitesine neden olduğu gösterilmiştir (Rahman ve diğerleri, 2000; Peharec Štefanić ve diğerleri, 2013). Ancak tuzlu ortamlara adapte olmuş halofitik bitkilerin enzimlerinin yüksek iyon kuvvetinde enzim aktivitelerindeki değişimler çok iyi bilinememektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar özellikle fotosentetik enzimlerin karşılaştırılması üzerinedir. Örneğin, çeltikten (*Oryza sativa*) saflaştırılan kloroplastik fruktoz-1,6-bisfosfataz (FruP2az), *in vitro* olarak NaCl'ye yakın halofitik akrabası *Porteresia coarctata*'ya ait FruP2ase'dan daha duyarlıdır (Ghosh ve ark, 2001). Tuza duyarlı çeltik çeşidi IR26'dan gelen enzim, 25 mM NaCl tarafından %50 inhibe edilirken, *P. coarctata*'dan gelen eşdeğer enzim, 25 ila 400 mM arasındaki geniş bir NaCl aralığında sadece %10 oranında inhibe olmaktadır. Glikofitlerden elde edilen Ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisco), FruP2az kadar tuza duyarlı görünmemektedir. Fasulyede (*Phaseolus vulgaris*) ve mısırda (*Zea mays*), Rubisco aktivitesi, halofit *Atriplex spongiosa*'ya benzer şekilde, sadece 250 mM NaCl'nin üzerindeki tuz konsantrasyonlarında %50'nin altına düşmüştür (Osmond ve Greenway, 1972). Benzer şekilde, *Tamarix jordanis* isimli halofit bitkiden elde edilen Rubisco ve deniz çayırları (*Halophyla stipulaceae* ve *Halodule uninervis*) 200 mM NaCl tarafından %50 oranında inhibe edilmiştir (Beer ve ark, 1980; Solomon ve ark, 1994).

Uyumlu bileşiklerin eklenmesi, *T. jordanis* Rubisco için inhibisyonu azaltmıştır (Solomon ve ark, 1994). Halofilik siyanobakteri *Aphanothece halophytica*'dan izole edilen Rubisco, 200 mM KCl'de %50 oranında inhibe edilmiştir ancak inhibisyon, betain gibi uyumlu bileşiklerin eklenmesiyle tamamen ortadan kaldırılabilir (Incharoensakdi ve ark, 1986). Uyumlu çözünenlerin sentezinin halofitlerde glikofitlerden daha yüksek olduğu göz önüne alındığında (Bose ve ark, 2014), Rubisco aktivitesinin halofitlerde inhibe olmadığı varsayılabilir. Ayrıca, bazı halofitler (örneğin *Porteresia coarctata*, *Eutrema halophila* ve *Suaeda salsa*), (i) Rubisco aktivaz miktarını artırarak ve (ii) Rubisco aktivazının thylakoid membrana bağlanmasıyla (i) glikofitlerden daha yüksek bir Rubisco aktivasyon durumu gösterdiği bilinmektedir ( Sengupta ve Majumder, 2009; Li ve ark, 2011; Wiciarz ve ark, 2015). İkinci adım, ATP sınırlayıcı bir ortamda Rubisco tarafından CO<sub>2</sub> fiksasyonunu iyileştirdiği öne sürülen fotosistem I'in (PSI) yakınında Rubisco aktif formunun yenilenmesini sağlar (Chen ve ark, 2010). Çeltiğin halofitik bir akrabasından elde edilen kloroplastik FruP2az'ın çeltiğe göre tuza daha dayanıklı olduğuna dair kanıtlar vardır, bu da halofit çeltiğin kloroplastlarının stromadaki yüksek NaCl konsantrasyonlarını tolere edebileceğini göstermektedir (Bose ve ark, 2017). Bu tez çalışmasında ise tuz stresine toleransta önemli rollere sahip antioksidan savunma enzimlerinin aktiviteleri üzerine farklı iyonların etkileri ilk defa incelenmiştir.

CAT aktivitesi *A. thaliana*'da NaCl ve KCl'den daha az etkilenmiştir Bu durum *E. parvulum* CAT enziminin Cl iyonlarına karşı daha hassas olabileceğini göstermektedir. Bunun yanısıra Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tuzunda Na miktarı NaCl'ye göre 2 kat daha fazla olmasına karşın CAT aktivitesi 250 mM derişime kadar düşüş göstermemiştir. Bu durum SO<sub>4</sub>'ün CAT enzimini stabilize edici özelliğini ortaya koymaktadır. Ancak bu stabilize edici etki *E. parvulum*'da *A. thaliana*'ya göre daha yüksektir.

POX aktivitesi NaCl ve KCl tuzlarında her iki türde de benzer şekilde düşüşe neden olmuştur ancak hem Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hem de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> *E. parvulum*'da enzim aktivitesinde artışa neden olmuştur. Bu etki *A. thaliana*'da gözlenmemiştir. Benzer bir durum NaNO<sub>3</sub> ve KNO<sub>3</sub> için de geçerlidir.

APX aktivitesi her iki bitki türünde de Na'dan daha fazla etkilenmiştir. SO<sub>4</sub> diğer enzimlere benzer olarak APX aktivitesini E. parvulum'da arttırmıştır. Benzer bir artış A. thaliana'da da gözlenirse de E. parvulumda daha şiddetlidir.

E. parvulum GR aktivitesi A. thaliana ile karşılaştırıldığında NaCl tuzuna daha dirençlidir. 250 mM NaCl konsantrasyonuna kadar E. parvulum GR aktivitesinde düşüş gözlenmezken A: thaliana'da 100 mM NaCl ile aktivitede %40 düşüş gözlenmiştir. KCl tuzu ile benzer farklılaşma oluşmamıştır. Bu durum E. parvulum GR enziminin yüksek Na'lı ortamlarda daha etkin çalıştığını göstermektedir. Türler arası bir diğer farklılık ise KNO<sub>3</sub> ile GR aktivitesinin E. parvulum bitkisinde artmasıdır.

## 5. SONUÇ

Elde edilen bulgular, bitkilerde antioksidan savunma mekanizması ve ROS sinyalizasyonunun düzenlenmesi konsantrasyona ve uygulanan tuzlara bağlı olarak değişmektedir. Halofit ve glikofit bitkilerin uygulamalara yanıtları ise bazı önemli noktalarda farklılıklar ön plandadır. Bunlardan birincisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> süpürücü enzim olan CAT aktivitesinde, NaCl uygulamasının *E. parvulum*'da *A. thaliana*'a göre daha güçlü olduğudur. KCl uygulamasının *A. thaliana*'da *E. parvulum*'a göre daha güçlü olduğudur. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> uygulamasının *E. parvulum*'da *A. thaliana*'a göre daha güçlü olduğudur. K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> *E. parvulum*'da *A. thaliana*'a göre oldukça güçlü olduğudur.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> süpürücü enzim olan POX aktivitesinde, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve KNO<sub>3</sub> uygulamalarında *E. parvulum*'da *A. thaliana*'a göre oldukça güçlü olduğudur.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> süpürücü enzim olan APX aktivitesinde Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> uygulamasında *E. Parvulum* ve *A. thaliana* normal aktivitesinin üzerine çıkmıştır.

GR aktivitesinde Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve KNO<sub>3</sub> *E. parvulum*'da *A. thaliana*'a göre oldukça güçlü olduğudur. Sunulan sonuçlara göre *E. parvulum*'a stres koşullarına *A. thaliana*'a göre çok daha uyumlu olduğudur ve böylece oksidatif stres ile daha iyi mücadele edebildiğidir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ahmad, A., Akhtar, M. S., & Bhakuni, V.** (2001). Monovalent cation-induced conformational change in glucose oxidase leading to stabilization of the enzyme. *Biochemistry*, *40*(7), 1945-1955.
- Alscher, R. G., Donahue, J. L., & Cramer, C. L.** 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiologia Plantarum*, *100*(2), 224-233.
- Alscher, R. G., Erturk, N., & Heath, L. S.** 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of experimental botany*, *53*(372), 1331-1341.
- Alvarez, M. E., Pennell, R. I., Meijer, P. J., Ishikawa, A., Dixon, R. A., & Lamb, C.** 1998. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell*, *92*(6), 773-784.
- Apel, K., & Hirt, H.** 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *55*, 373-399.
- Apostol, I., Heinstejn, P. F., & Low, P. S.** 1989. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells: role in defense and signal transduction. *Plant physiology*, *90*(1), 109-116.
- Apse, M. P., & Blumwald, E.** 2007. Na<sup>+</sup> transport in plants. *FEBS letters*, *581*(12), 2247-2254.
- Asada, K.** 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant physiology*, *141*(2), 391-396.
- Badawi, G. H., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., Kawano, N., Tanaka, K., & Tanaka, K.** 2004. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. *Plant Science*, *166*(4), 919-928.
- Banci, L.** 1997. Structural properties of peroxidases. *Journal of biotechnology*, *53*(2-3), 253-263.
- Barrett-Lennard, E. G.** 2003. The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. *Plant and soil*, *253*(1), 35-54.
- Bergmeyer, H. U.,** 1970, *Methoden der enzymatischen Analyse. Bd 2.* Vlg. Chemie.
- Broadbent, P., Creissen, G. P., Kular, B., Wellburn, A. R., & Mullineaux, P. M.** 1995. Oxidative stress responses in transgenic tobacco containing altered levels of glutathione reductase activity. *The Plant Journal*, *8*(2), 247-255.
- Castillo, F. J., & Greppin, H.** 1988. Extracellular ascorbic acid and enzyme activities related to ascorbic acid metabolism in *Sedum album* L. leaves after ozone exposure. *Environmental and Experimental Botany*, *28*(3), 231-238.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Collins, K. D.** 2004. Ions from the Hofmeister series and osmolytes: effects on proteins in solution and in the crystallization process. *Methods*, 34(3), 300-311.
- Davletova, S., Schlauch, K., Coutu, J., & Mittler, R.** 2005. The zinc-finger protein Zat12 plays a central role in reactive oxygen and abiotic stress signaling in Arabidopsis. *Plant physiology*, 139(2), 847-856.
- Del Río, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M., Gómez, M., & Barroso, J. B.** 2002. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1255-1272.
- del Río, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., & Barroso, J. B.** 2006. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant physiology*, 141(2), 330-335.
- Demirevska, K., Simova-Stoilova, L., Fedina, I., Georgieva, K., & Kunert, K.** 2010. Orizasistatinin tepkisi Tütün bitkilerini kuraklığa, ısıya ve hafif strese dönüştürdüm. *Tarım Bilimi ve Mahsul Bilimi Dergisi* , 196 (2), 90-99.
- Denness, L., McKenna, J. F., Segonzac, C., Wormit, A., Madhou, P., Bennett, M., ... & Hamann, T.** 2011. Cell wall damage-induced lignin biosynthesis is regulated by a reactive oxygen species-and jasmonic acid-dependent process in Arabidopsis. *Plant physiology*, 156(3), 1364-1374.
- DeVoe, H., & Kistiakowsky, G. B.** (1961). The enzymic kinetics of carbonic anhydrase from bovine and human erythrocytes. *Journal of the American Chemical Society*, 83(2), 274-280.
- Elstner, E. F.** 1991. Oxygen radicals—biochemical basis for their efficacy. *Klinische Wochenschrift*, 69(21), 949-956.
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D.** 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179(4), 945-963.
- Flowers, T. J.,** 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental botany*, 55(396), 307-319.
- Foe, L. G., & Trujillo, J. L.** 1980. Quaternary structure of pig liver phosphofructokinase. *Journal of Biological Chemistry*, 255(21), 10537-10541.
- Foyer, C. H., Descourvieres, P., & Kunert, K. J.** 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell & Environment*, 17(5), 507-523.
- Franks, F. (Ed.).** 2012. *The physics and physical chemistry of water* (Vol. 1). Springer Science & Business Media
- Franks, F.** 2002. Protein stability: the value of ‘old literature’. *Biophysical chemistry*, 96(2-3), 117-127.
- Fricke, W., & Peters, W. S.** 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology*, 129(1), 374-388.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gapińska, M., Skłodowska, M., & Gabara, B.** 2008. Effect of short-and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(1), 11.
- German, D. A., & Al-Shehbaz, I. A.** 2010. Nomenclatural novelties in miscellaneous Asian Brassicaceae (Cruciferae). *Nordic Journal of Botany*, 28(6), 646-651.
- Ghassemi, F., Jakeman, A. J., & Nix, H. A.** 1995. *Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies*. CAB international.
- Gill, S. S., & Tuteja, N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gill, S. S., & Tuteja, N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gill, S. S., & Tuteja, N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Glenn, E. P., Brown, J. J., & Blumwald, E.** 1999. Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical reviews in plant sciences*, 18(2), 227-255.
- Gómez-Gómez, L. ve Boller, T.** 2000. FLS2: Arabidopsis'te bakteriyel elisitör flagellinin algılanmasında rol oynayan bir LRR reseptörü benzeri kinaz. *Moleküler hücre*, 5 (6), 1003-1011.
- Greenway, H., & Munns, R.** 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual review of plant physiology*, 31(1), 149-190.
- Grene, R.** 2002. Oxidative stress and acclimation mechanisms in plants. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 1.
- Hansford, R. G., Hogue, B. A., & Mildaziene, V.** 1997. Dependence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 29(1), 89-95.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., & Charoensataporn, R.** 2003. Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science Asia*, 29(2), 109-113.
- Hernandez, J. A., Corpas, F. J., Gomez, M., del Rio, L. A., & Sevilla, F.** 1993. Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 89(1), 103-110.
- Hernández, JA, Ferrer, MA, Jiménez, A., Barceló, AR, & Sevilla, F.** 2001. Bezelye yapraklarının apoplastında antioksidan sistemler ve O<sub>2</sub>·-/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi. Minör damarlarda tuza bağlı nekrotik lezyonlarla ilişkisi. *Bitki fizyolojisi*, 127 (3), 817-831.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Herzog, V., and Fahimi, H. D.**, 1973, A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3, 3'-diaminobenzidine as hydrogen donor, *Analytical biochemistry*, 55(2), 554-562.
- Himabindu, Y., Chakradhar, T., Reddy, M. C., Kanygin, A., Redding, K. E., & Chandrasekhar, T.** 2016. Salt-tolerant genes from halophytes are potential key players of salt tolerance in glycophytes. *Environmental and Experimental Botany*, 124, 39-63.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I.** 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, 347(2nd edit).
- Horie, T., Kaneko, T., Sugimoto, G., Sasano, S., Panda, S. K., Shibusaka, M., & Katsuhara, M.** 2011. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant and Cell Physiology*, 52(4), 663-675.
- Hossain, M. A., Hasanuzzaman, M., & Fujita, M.** 2010. Up-regulation of antioxidant and glyoxalase systems by exogenous glycinebetaine and proline in mung bean confer tolerance to cadmium stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16(3), 259-272.
- Hourton-Cabassa, C., Matos, A. R., Zachowski, A., & Moreau, F.** 2004. The plant uncoupling protein homologues: a new family of energy-dissipating proteins in plant mitochondria. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(4), 283-290.
- Hsu, Y. T., & Kao, C. H.** 2004. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regulation*, 42(3), 227-238.
- Hsu, Y. T., & Kao, C. H.** 2007. Toxicity in leaves of rice exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant and Soil*, 298(1), 231-241.
- Huang, X., Knoell, C. T., Frey, G., Hazegh-Azam, M., Tashjian, A. H., Hedstrom, L., ... & Timasheff, S. N.** (2001). Modulation of recombinant human prostate-specific antigen: activation by Hofmeister salts and inhibition by azapeptides appendix: thermodynamic interpretation of the activation by concentrated salts. *Biochemistry*, 40(39), 11734-11741.
- Huang, X., Knoell, C. T., Frey, G., Hazegh-Azam, M., Tashjian, A. H., Hedstrom, L., ... & Timasheff, S. N.** 2001. Modulation of recombinant human prostate-specific antigen: activation by Hofmeister salts and inhibition by azapeptides appendix: thermodynamic interpretation of the activation by concentrated salts. *Biochemistry*, 40(39), 11734-11741.
- Indra, A., Menezes, P. W., Sahraie, N. R., Bergmann, A., Das, C., Tallarida, M., ... & Driess, M.** 2014. Unification of catalytic water oxidation and oxygen reduction reactions: amorphous beat crystalline cobalt iron oxides. *Journal of the American chemical society*, 136(50), 17530-17536.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jensen, WA, Armstrong, JM, De Giorgio, J., & Hearn, MT** (1997). Domuz kalbi mitokondriyal malat dehidrojenaz ve mısır yaprağı fosfoenolpiruvat karboksilazının farklı tuzlar, amino asitler ve polioller ile stabilizasyonunun termodinamik analizi. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Yapısı ve Moleküler Enzimoloji*, 1338 (2), 186-198.
- Jiang, M., and Zhang, J.**, 2002, Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid-and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings, *Planta*, 215(6), 1022-1030.
- Jimenez, A., Hernandez, J. A., del Río, L. A., & Sevilla, F.** 1997. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant physiology*, 114(1), 275-284.
- Khan, N. A., Samiullah, Singh, S., & Nazar, R.** 2007. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193(6), 435-444.
- Kliebenstein, D. J., Monde, R. A., & Last, R. L.** 1998. Superoxide dismutase in Arabidopsis: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization. *Plant physiology*, 118(2), 637-650.
- Koussevitzky, S., Suzuki, N., Huntington, S., Armijo, L., Sha, W., Cortes, D., ... & Mittler, R.** 2008. Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of Arabidopsis thaliana to stress combination. *Journal of Biological Chemistry*, 283(49), 34197-34203.
- Kukreja, S., Nandwal, A. S., Kumar, N., Sharma, S. K., Unvi, V., & Sharma, P. K.** 2005. Plant water status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of Cicer arietinum roots as affected by salinity. *Biologia plantarum*, 49(2), 305-308.
- Lanyi, J. K., & Stevenson, J.** 1970. Studies of the Electron Transport Chain of Extremely Halophilic Bacteria: IV. Role of Hydrophobic Forces in The Structure of Menadione Reductase. *Journal of Biological Chemistry*, 245(16), 4074-4080.
- Liang, W., Cui, W., Ma, X., Wang, G., & Huang, Z.** 2014. Function of wheat Ta-UnP gene in enhancing salt tolerance in transgenic Arabidopsis and rice. *Biochemical and biophysical research communications*, 450(1), 794-801.
- Luwe, M.** 1996. Antioxidants in the apoplast and symplast of beech (*Fagus sylvatica* L.) leaves: seasonal variations and responses to changing ozone concentrations in air. *Plant, Cell & Environment*, 19(3), 321-328.
- Malan, C., Greyling, M. M., & Gressel, J.** 1990. Correlation between CuZn superoxide dismutase and glutathione reductase, and environmental and xenobiotic stress tolerance in maize inbreds. *Plant Science*, 69(2), 157-166.
- Marino, D., Dunand, C., Puppo, A., & Pauly, N.** 2012. A burst of plant NADPH oxidases. *Trends in plant science*, 17(1), 9-15.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Maxwell, D. P., Wang, Y., & McIntosh, L.** 1999. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(14), 8271-8276.
- Meldrum, N. U., & Roughton, F. J.** 1933. Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. *The Journal of physiology*, 80(2), 113-142.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F.** 2004. Bitkilerin reaktif oksijen gen ağı. *Bitki biliminde eğilimler*, 9 (10), 490-498.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M., & Volokita, M.** 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of experimental botany*, 55(399), 1105-1113.
- Miyake, C., & Asada, K.** 1994. Ferredoxin-dependent photoreduction of the monodehydroascorbate radical in spinach thylakoids. *Plant and Cell Physiology*, 35(4), 539-549.
- Mobin, M., & Khan, N. A.** 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 601-610.
- Møller, I. M.** 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual review of plant biology*, 52(1), 561-591.
- Munns, R.** 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.
- Munns, R., & Gilliam, M.** 2015. Salinity tolerance of crops—what is the cost?. *New phytologist*, 208(3), 668-673.
- Munns, R., Husain, S., Rivelli, A. R., James, R. A., Condon, A. T., Lindsay, M. P., ... & Hare, R. A.** 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. In *Progress in Plant Nutrition: Plenary Lectures of the XIV International Plant Nutrition Colloquium* (pp. 93-105). Springer, Dordrecht.
- Müller, K., Carstens, A. C., Linkies, A., Torres, M. A., & Leubner-Metzger, G.** 2009. The NADPH-oxidase AtrbohB plays a role in Arabidopsis seed after-ripening. *New Phytologist*, 184(4), 885-897.
- Noctor, G., & Foyer, C. H.** 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279.
- Pang, C. H., & Wang, B. S.** 2008. Oxidative stress and salt tolerance in plants. In *Progress in botany* (pp. 231-245). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Pannell, D. J.** 2001. Dryland salinity: economic, scientific, social and policy dimensions. *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics*, 45(4), 517-546.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Panta, S., Flowers, T., Lane, P., Doyle, R., Haros, G., & Shabala, S.** 2014. Halophyte agriculture: success stories. *Environmental and experimental botany*, 107, 71-83.
- Polidoros, A. N., & Scandalios, J. G.** 1999. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiologia Plantarum*, 106(1), 112-120.
- Porter, D. J., Hanlon, M. H., Carter, L. H., Danger, D. P., & Furfine, E. S.** 2001. Effectors of HIV-1 protease peptidolytic activity. *Biochemistry*, 40(37), 11131-11139.
- Prasad, T. K., Anderson, M. D., & Stewart, C. R.** 1994. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. *Plant Physiology*, 105(2), 619-627.
- Pucciariello, C., Parlanti, S., Banti, V., Novi, G., & Perata, P.** 2012. Reactive oxygen species-driven transcription in *Arabidopsis* under oxygen deprivation. *Plant Physiology*, 159(1), 184-196.
- Puntarulo, S., Sánchez, R. A., & Boveris, A.** 1988. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. *Plant physiology*, 86(2), 626-630.
- Qadir, M., Noble, A. D., Qureshi, A. S., Gupta, R. K., Yuldashev, T., & Karimov, A.** 2009, May. Salt-induced land and water degradation in the Aral Sea basin: A challenge to sustainable agriculture in Central Asia. In *Natural Resources Forum* (Vol. 33, No. 2, pp. 134-149). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Qadir, M., Quillérrou, E., Nangia, V., Murtaza, G., Singh, M., Thomas, R. J., ... & Noble, A. D.** 2014, November. Economics of salt-induced land degradation and restoration. In *Natural resources forum* (Vol. 38, No. 4, pp. 282-295).
- Ramana, K. V., & Srivastava, S. K.** 2010. Aldose reductase: a novel therapeutic target for inflammatory pathologies. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 42(1), 17-20.
- Rao, A. C., & Reddy, A. R.** 2008. Glutathione reductase: a putative redox regulatory system in plant cells. In *Sulfur assimilation and abiotic stress in plants* (pp. 111-147). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Rao, K. M., Raghavendra, A. S., & Reddy, K. J. (Eds.).** 2006. *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Springer Science & Business Media.
- Rodríguez-Serrano, M. A. R. Í. A., ROMERO-PUERTAS, M. C., Zabalza, A. N. A., Corpas, F. J., Gomez, M., Del Rio, L. A., & Sandalio, L. M.** 2006. Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) roots. Imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation in vivo. *Plant, Cell & Environment*, 29(8), 1532-1544.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ru, M. T., Wu, K. C., Lindsay, J. P., Dordick, J. S., Reimer, J. A., & Clark, D. S.** 2001. Towards more active biocatalysts in organic media: Increasing the activity of salt-activated enzymes. *Biotechnology and bioengineering*, 75(2), 187-196.
- Rus, A., Yokoi, S., Sharkhuu, A., Reddy, M., Lee, BH, Matsumoto, TK, ... & Hasegawa, PM** 2001. AtHKT1, bitki köklerine Na<sup>+</sup> girişini kontrol eden bir tuz toleransı belirleyicisidir. *Ulusal Bilimler Akademisi Bildirileri*, 98 (24), 14150-14155.
- Sagi, M., & Fluhr, R.** 2001. Superoxide production by plant homologues of the gp91phox NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiology*, 126(3), 1281-1290.
- Satir, O., & Berberoglu, S.** 2016. Crop yield prediction under soil salinity using satellite derived vegetation indices. *Field crops research*, 192, 134-143.
- Sato, M., & Bremner, I.** 1993. Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(3), 325-337.
- Shabala, S.** 2013. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Annals of botany*, 112(7), 1209-1221.
- Shabala, S., & Mackay, A.** 2011. Ion transport in halophytes. *Advances in botanical research*, 57, 151-199.
- Sharma, P., & Dubey, R. S.** 2005. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. *Journal of plant physiology*, 162(8), 854-864.
- Shimaoka, T., Miyake, C., & Yokota, A.** 2003. Mechanism of the reaction catalyzed by dehydroascorbate reductase from spinach chloroplasts. *European Journal of Biochemistry*, 270(5), 921-928.
- Sluse, F. E., Jarmuszkiewicz, W., Navet, R., Douette, P., Mathy, G., & Sluse-Goffart, C. M.** 2006. Mitochondrial UCPs: new insights into regulation and impact. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1757(5-6), 480-485.
- Snapp, S. S., Shennan, C., & Van Bruggen, A. H. C.** 1991. Effects of salinity on severity of infection by *Phytophthora parasitica* Dast., ion concentrations and growth of tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill. *New Phytologist*, 119(2), 275-284.
- Spickett, C. M., Smirnoff, N., & Ratcliffe, R. G.** 1993. An in vivo nuclear magnetic resonance investigation of ion transport in maize (*Zea mays*) and *Spartina anglica* roots during exposure to high salt concentrations. *Plant Physiology*, 102(2), 629-638.
- Suzuki, N., Miller, G., Morales, J., Shulaev, V., Torres, M. A., & Mittler, R.** 2011. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Current opinion in plant biology*, 14(6), 691-699.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sweetlove, L. J., & Foyer, C. H.** 2004. Roles for reactive oxygen species and antioxidants in plant mitochondria. In *Plant mitochondria: from genome to function* (pp. 307-320). Springer, Dordrecht.
- Sweetlove, L. J., & Foyer, C. H.** 2004. Roles for reactive oxygen species and antioxidants in plant mitochondria. In *Plant mitochondria: from genome to function* (pp. 307-320). Springer, Dordrecht.
- Takahama, U., & Oniki, T.** 1992. Regulation of peroxidase-dependent oxidation of phenolics in the apoplast of spinach leaves by ascorbate. *Plant and Cell Physiology*, 33(4), 379-387.
- Takahama, U., & Oniki, T.** 2000. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions. *Journal of Plant Research*, 113(3), 301-309.
- Torres, M. A., & Dangl, J. L.** 2005. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. *Current opinion in plant biology*, 8(4), 397-403.
- Torres, M. A., & Dangl, J. L.** 2005. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. *Current opinion in plant biology*, 8(4), 397-403.
- Torres, M. A., Dangl, J. L., & Jones, J. D.** 2002. Arabidopsis gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(1), 517-522.
- Tsugane, K., Kobayashi, K., Niwa, Y., Ohba, Y., Wada, K., & Kobayashi, H.** 1999. A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *The Plant Cell*, 11(7), 1195-1206.
- Vanacker, H., Harbinson, J., Ruisch, J., Carver, T. L. W., & Foyer, C. H.** 1998. Antioxidant defences of the apoplast. *Protoplasma*, 205(1), 129-140.
- Vashev, B., Gaiser, T., Ghawana, T., de Vries, A., & Stahr, K.** 2010. Biosafor project deliverable 9: Cropping potentials for saline areas in India, Pakistan and Bangladesh. *University of Hohenheim, Hohenheim, Germany*.
- Vlot, A. C., Liu, P. P., Cameron, R. K., Park, S. W., Yang, Y., Kumar, D., ... & Klessig, D. F.** 2008 Identification of likely orthologs of tobacco salicylic acid-binding protein 2 and their role in systemic acquired resistance in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal*, 56(3), 445-456.
- Von Hippel, P. H., & Schleich, T.** 1969. Ion effects on the solution structure of biological macromolecules. *Accounts of Chemical Research*, 2(9), 257-265.
- Walaas, E., & WALAAS, O.** (1956). Kinetics and equilibria in flavoprotein systems. *Acta Chem. Scand*, 10(1).

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wang, H. Y., Yang, Y., Su, J. Y., Shen, J. L., Gao, C. F., & Zhu, Y. C.** 2008. Assessment of the impact of insecticides on *Anagrus nilaparvatae* (Pang et Wang)(Hymenoptera: Mymanidae), an egg parasitoid of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Crop Protection*, 27(3-5), 514-522.
- Wiggins, P. M.** 1990. Role of water in some biological processes. *Microbiological Reviews*, 54(4), 432-449.
- Wiggins, P. M.** 1997. Hydrophobic hydration, hydrophobic forces and protein folding. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 238(1-4), 113-128.
- Wright, D. B., Banks, D. D., Lohman, J. R., Hilsenbeck, J. L., & Gloss, L. M.** 2002. The effect of salts on the activity and stability of *Escherichia coli* and *Haloferax volcanii* dihydrofolate reductases. *Journal of molecular biology*, 323(2), 327-344.
- Xue, D. W., Chen, M. C., Zhou, M. X., Chen, S., Mao, Y., & Zhang, G. P.** 2008. QTL analysis of flag leaf in barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(12), 938-943.
- Yamaguchi, K., Mori, H., & Nishimura, M.** 1995. A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal and leaf peroxisomal membranes in pumpkin. *Plant and Cell Physiology*, 36(6), 1157-1162.
- Yeo, A. R., & Flowers, T. J.** 1980. Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* L. Dum.: evaluation of the effect of salinity upon growth. *Journal of Experimental Botany*, 31(4), 1171-1183.
- Yeo, A. R., & Flowers, T. J.** 1986. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Functional Plant Biology*, 13(1), 161-173.
- Zhang, G. F., Yang, Z. B., Wang, Y., Yang, W. R., Jiang, S. Z., & Gai, G. S.** 2009. Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) processed to different particle sizes on growth performance, antioxidant status, and serum metabolites of broiler chickens. *Poultry science*, 88(10), 2159-2166.
- Zörb, C., Geilfus, CM and Dietz, KJ.,** 2019, Salinity and crop yield. *Plant biology*, 21, 31-38.

## ÖZGEÇMİŞ

2012' e Erdem Beyazıt Lisesi' nde orta öğrenim hayatını bitirmiştir. Dokuz Eylül Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği Bölümü, 2017 yılında mezun olmuştur. 2018 yılında lisansüstü eğitimine, Doç. Dr. Barış Uzilday danışmanlığında, Ege Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji A.B.D.'de başlamıştır.





## TEŞEKKÜRLER

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca ve tez sürecimde bilgisini, deneyimini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Barış UZİLDAY'a, tez dönemimde bilgisi, laboratuvar deneyimini, ve paylaşımcı tavrıyla beni cesaretlendiren, desteğini her zaman hissettiğim Sayın Doç. Dr. Rengin ÖZGÜR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarında ve ders dönemimde hep beraber çalıştığım Halil Onur TOPALOĞLU'na, MERVE KAHRAMAN'a ve GÜLÇİN SEVİM'e teşekkürlerimi sunarım.

Yaptığım analizlerde yardımlarından ve desteğinde dolayı TOLGA YALÇINKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim yaşamım boyunca beni her yönden destekleyen, arkamda duran, babam Veli, annem Tavizel'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.