



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSPANAK (*Spinacia oleracea* L.) BİTKİSİNDE TUZ STRESİ İLE
EPİBRASSİNOLİD ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Serhat SEVEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

Danışman

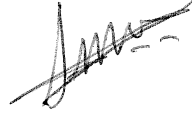
Yrd. Doç. Dr. Serap SAĞLAM

Temmuz, 2017

İSTANBUL

Bu çalışma, 19.07.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Yrd. Doç. Dr. Serap SAĞLAM(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



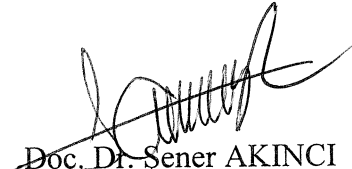
Prof. Dr. Orhan KÜÇÜKER
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Muammer ÜNAL
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Doç. Dr. Şener AKINCI
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi



20.04.2016 tarihli resmi gazetede yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 55504 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen, anne özverisi ve şefkati ile motivasyonumu her zaman diri tutan, ayrıca bu yönüyle, bu zor süreçte beni psikolojik açıdan rahatlatan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Serap SAĞLAM'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında, her türlü imkânı sağlayan Anabilim Dalı Başkanımız kıymetli hocam Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ'e, bilgi ve tecrübelerini büyük bir hevesle, bize her fırsatta aktaran Prof. Dr. Muammer ÜNAL hocama teşekkür ederim.

Çalışmalarımın yükünü içtenlikle ve büyük bir gayretle omuzlayan, çalışma arkadaşlarım; Hümeysra ÖZEL ve Ayça ÇALIŞ'a, ayrıca Tuğçe ERÜRKER'e ve Araş. Gör. Nihal GÖREN SAĞLAM'a teşekkür ederim.

Daima yanımda olan, bu çalışmanın her kelimesinde, her anında emeği olan sevgili eşim Esmâ Sultan KÜÇÜK SEVEN'e, yaşam mücadelemde beni yalnız bırakmayan, bildiği ve sahip oldukları ne varsa hayatıma sunan değerli aileme teşekkür ederim.

Temmuz 2017

Serhat SEVEN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	vi
ÖZET.....	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. İSPANAK HAKKINDA GENEL BİLGİLER	4
2.1.1. Morfolojik Özellikleri	4
2.1.2. Ispanak Üretiminin Dünyadaki ve Türkiye'deki Durumu	5
2.1.3. Ispanağın Beslenmedeki Önemi.....	6
2.2. STRES.....	7
2.2.1. Toprak Tuzluluğu.....	7
2.2.2. Tuz Stresinin Bitkiler Üzerine Olan Etkileri.....	9
2.2.2.1. Organ Düzeyinde Etkileri	11
2.2.2.2. Hücresel Düzeyde Etkileri.....	11
2.2.2.3. Organel Düzeyinde Etkileri	13
2.2.2.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Antioksidatif Enzimler Üzerine Etkileri	14
2.2.3. Tuz Tolerans Mekanizmaları	15
2.2.3.1. Tuz İçeriğinin Regülasyonu	16
2.2.3.2. İyon Homeostasisının Düzenlenmesi ve SOS Sinyal İletim Yolu	17
2.2.3.3. Düzenleyici Osmolitlerin Biyosentezi	19
2.2.3.4. Antioksidatif Enzimlerin Aktivitesi	19
2.2.3.5. Bitkilerde Tuzluluk Stresinin İlgili Genlerin İfadesi Üzerine Etkileri	20
2.2.3.6. Bitki Hormonlarının İndüksiyonu	20
2.3. BRASSİNOSTEROİDLER (BR).....	21
2.3.1. Keşfi, Tanımı ve Kimyasal Yapısı	21
2.3.2. Biyosentezi ve Taşınması.....	23

2.3.3. BR Sinyal İletim Modeli	25
2.3.4. BR lerin Taşınması.....	26
2.3.5. BR lerin Fizyolojik Etkileri.....	26
2.3.6. BR lerin Diğer Bitki Hormonları ile Olan İlişkileri.....	27
2.3.6.1. BR ile Absisik Asit Asit (ABA) İlişkisi	28
2.3.6.2. BR ile Etilen İlişkisi.....	28
2.3.6.3. BR ile Gibberellin İlişkisi.....	28
2.3.6.4. BR ile Oksin İlişkisi.....	28
2.3.6.5. BR ile Sitokinin İlişkisi.....	29
3. MALZEME VE YÖNTEM	30
3.1. MALZEME.....	30
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	30
3.1.2. Fidelerin Yetiştirilmesi	31
3.1.3. Tuz (NaCl) ve 24-epibrassinolid (24-eBL) Uygulamaları.....	32
3.2. YÖNTEM.....	32
3.2.1. Uygulama Öncesi ve Sonrası Taze Ağırlığın Ölçülmesi, Aradaki Farkın Saptanması.....	32
3.2.2. Total Klorofil Miktarı Tayini.....	33
3.2.3. Çözünabilir Total Protein Miktarının Tayini.....	33
3.2.4. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Tayini.....	34
3.2.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini.....	34
3.2.6. Membran Permeabilitesindeki Değişikliklerin Ölçülmesi.....	34
3.2.7. İstatistiksel Analizler.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. TAZE AĞIRLIK MİKTARINDA OLUŞAN FARKLAR	36
4.2. TOTAL KLOROFİL MİKTARINDAKİ DEĞİŞİMLER.....	38
4.3. ÇÖZÜNEBİLİR TOTAL PROTEİN MİKTARINDAKİ DEĞİŞİMLER.....	39
4.4. PEROKSİDAZ (POD) AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLER.....	41
4.5. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD) AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLER.....	42
4.6. MEMBRAN PERMEABİLİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLER	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	46
KAYNAKLAR.	55
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 2.1:** Tuzluluktan etkilenmiş bir tarımsal alan.9
- Şekil 2.2:** Bitki tuz stresi ile ilgili olan biyokimyasal fonksiyonlar (Parida ve Das, 2005).16
- Şekil 2.3:** İyon dengesinin SOS sinyal iletim yolu, tuz stresi ve kalsiyum düzeyleri tarafından düzenlenmesi (Türkan ve Demiral, 2009).18
- Şekil 2.4:** *Brassica napus* bitkisi ve brassinolid (BL) hormonunun kimyasal yapısı (Kutschera ve Wang, 2012).22
- Şekil 2.5:** BL biyosentez yolu (Zhao ve Li, 2012).24
- Şekil 2.6:** BR reseptörü BRI1'in domain yapısı (Savaldi-Goldstein ve Chory; 2006). .25
- Şekil 3.1:** Araştırmada kullanılan ıspanak tohumlarının genel görünümü.31
- Şekil 4.1:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin gelişimi.36
- Şekil 4.2:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin gövde gelişimi.37
- Şekil 4.3:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin taze ağırlık değişimi.37
- Şekil 4.4:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total klorofil miktarı ($p<0,05$).39
- Şekil 4.5:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total protein miktarındaki değişimler ($p<0,05$).40
- Şekil 4.6:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki POD aktivitesinde meydana gelen değişimler ($p<0,05$).42
- Şekil 4.7:** 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler ($p<0,05$).43

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Ispanakta ele alınan bazı elementlerin taze ve kuru ağırlıktaki miktarları (mg/100g) (Dağlıoğlu, 1996).	6
Tablo 2.2: Harran Ovası tuzluluk durumu (Dinç ve diğ., 1988; Çullu ve diğ., 2002).....	9
Tablo 4.1: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin taze ağırlık artışı ($p<0,05$).	37
Tablo 4.2: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total klorofil miktarı ($p<0,05$).	38
Tablo 4.3: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total protein miktarı ($p<0,05$).	40
Tablo 4.4: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki POD aktivitesi ($p<0,05$).	41
Tablo 4.5: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki SOD aktivitesi ($p<0,05$).	43
Tablo 4.6: 30 gün boyunca NaCl içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerinin membran permeabilitesi değişimi ($p<0,05$).	44

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
µg	: Mikrogram
Ca	: Kalsiyum Elementi
Cl	: Klor
g	: Gram
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
Mg	: Miligram
mM	: Milimolar
Na	: Sodyum Elementi
°C	: Santigrat Derece

Kısaltmalar	Açıklama
24-eBL	: 24-epibrassinolid
ABA	: Absisik Asit
BL	: Brassinolid
BR	: Brassinosteroid
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
eBL	: Epibrassinolid
FAO	: Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
NBT	: Nitro-Blue Tetrazolium
POD	: Peroksidaz
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TIBA	: 2,3,5-triiodobenzoik asit

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSPANAK (*Spinacia oleracea* L.) BİTKİSİNDE TUZ STRESİ İLE EPİBRASSİNOLİD ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Serhat SEVEN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serap SAĞLAM

Toprak tuzluluğu, bitkilerin büyümesini ve ürün verimini etkileyen çok önemli abiyotik stres koşuludur. Tuzluluk koşuluna bağlı olarak fotosentetik aktivite, taze ağırlık, total protein miktarı azalmaktadır. Brassinosteroidler (BR), bitki hormonları grubuna dâhil olan steroid yapıda bulunan yeni bir hormon grubudur. BR ler hücre bölünmesi ve genişlemesi, ksilem farklılaşması, gövde uzaması, kök büyümesi ve senesens gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli roller oynamaktadır. Ayrıca son yıllarda, BR lerin çevresel strese maruz kalan bitkiler üzerinde iyileştirici bir etkiye sahip oldukları da bildirilmiştir. Ispanak (*Spinacia oleracea* L.), tuzluluğa orta derecede duyarlı olan ve dünya çapında önemli oranda tüketimi olan bir bitkidir. Şimdiye kadar tuz stresi altındaki ıspanak fidelerine BR nin etkisi üzerine çok az çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmada, tuz stresine maruz bırakılan fidelere brassinosteroidlerin aktif formu olan 24-epibrassinolid (eBL) püskürtülerek fide gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla fideler Hoagland, Hoagland+eBL, Hoagland+NaCl, Hoagland+NaCl+eBL olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Ön deneyler sonucunda 150 mM NaCl ve 10^{-9} M eBL uygun konsantrasyonlar olarak belirlenmiştir. Bu çalışma sonunda, tuz stresine

maruz bırakılan ve eBL uygulanan ıspanak fidelerindeki biyokimyasal analizler sonucunda eBL nin, tuz toksisitesinde hafifletici etki yaptığı saptanmıştır.

Bu araştırma, bitkilerin değişen iklim koşullarına uyum sağlaması için tarım ve bahçecilik alanında kullanılmak üzere alternatif uygulamalar geliştirmesi açısından önem taşımaktadır.

Temmuz 2017, 89 sayfa.

Anahtar kelimeler: Tuz stresi, epibrassinolid, ıspanak, fide gelişimi, senesens.



SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SALINITY STRESS AND EPIBRASSINOLIDE IN SPINACH (*Spinacia oleracea* L.) SEEDLINGS

Serhat SEVEN

İstanbul University

Graduate School of Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Serap SAĞLAM

Soil salinity is a very important abiotic stress condition that effects plant growth and crop yield. Photosynthetic activity, fresh weight, total protein amount decreases due to salinity condition. Brassinosteroids (BR) are a new group of hormones in the steroidal structure that is involved in the plant hormone group. BRs plays an important role in various physiological processes such as cell division and expansion, xylem differentiation, shoot elongation, root growth and senescence. It has also been reported in recent years that BR shave a curative effect on the plants exposed to environmental stress. Spinach (*Spinacia oleracea* L.) is a plant that is moderately susceptible to salinity and consumes considerable amounts of all around the world. Very little work has been done on the effect of BR on the spinach seedlings under salt stress until now.

In this study, the effect on seedling development was examined by spraying 24-epibrassinolide (eBL), the active form of brassinosteroids, on the seedlings exposed to salt stress. For this purpose, seedlings are divided into four groups such as Hoagland, Hoagland+eBL, Hoagland+NaCl, Hoagland+NaCl+eBL. As a result of preliminary tests, 150 mM NaCl ve 10^{-9} M eBL were determined as appropriate concentrations. At the end of this study, biochemical analyzes of spinach seedlings exposed to salt stress and applied to the eBL revealed that eBL had alleviated effect on salt toxicity.

This research is significant for the development of alternative practices for use in agriculture and gardening in order to adapt plants to changing climate conditions.

July 2017, 89 pages.

Keywords: Salt stress, epibrassinolide, spinach, seedling development, senescence.



1. GİRİŞ

Karbondioksit (CO₂), metan (CH₄), azot oksit (N₂O) gibi gazların atmosfere salınması sonucunda ortaya çıkan sera etkisi sebebiyle, dünyada yıl boyunca kara, hava ve denizde ölçülen ortalama sıcaklık artışına “küresel ısınma” denir. Yeryüzünde küresel ısınma sebebiyle ortaya çıkan iklim değişiklikleri 20. yüzyılın sonlarında hissedilmeye başladığı ve 21. yüzyılda da önemini koruyacağı, bilim insanlarınca önemle belirtilmektedir. Küresel ısınma sonucu ortaya çıkabilecek olası etkiler değerlendirildiğinde Türkiye'nin riskli ülkeler içerisinde bulunacağı, yüksek sıcaklık ve yüksek kurak iklim kuşağı etkisinde kalacağı düşünülmektedir. Küresel ısınmanın etkileri sonucunda ortaya çıkması olası olan tarımsal kuraklıktan bütün bölgelerimizin etkileneceği düşünülmektedir. Gelecek yıllarda daha sıcak ve kurak bir döneme girecek olan Türkiye'de suyun toprakta muhafaza edilmesi çok daha fazla önemli hale gelmiştir.

Diğer yandan insanların doğal kaynakları tüketme konusunda savurgan davranması, bunun sonucunda da doğal dengelere zarar vermesi oldukça önemli sorunlar yaratmıştır. Bu sorunların başında canlı türlerin kaybolması, açlık, susuzluk, bitki örtüsünün ve toprağın zarara uğratılması, son yıllarda ciddi şekilde ortaya çıkan iklim değişikliği, ozon tabakasının delinmesi ve incelmeye, çevre kirlenmesi gelmektedir.

Sıcaklık artışına bağlı sorunların başında topraklarda oluşan kuraklık gelmektedir. Hem küresel ısınmadan kaynaklı hem de tarım alanlarının kötü kullanımı sonucu oluşan kuraklık, tuzlanma gibi önemli bir sorunu ortaya çıkarmıştır.

Yağış alan alanlarda, yağış sebebiyle toprak bünyesinde doğal olarak bulunan tuzlar yer altı suları ve akarsulara taşınır, daha sonra da deniz ve/veya göllere kadar ulaşır. Bu sebeple yağış alan topraklarda genelde tuz birikimi olmamaktadır.

Yağışı az ve sıcak alanlarda tarımsal verim ve üretimi daha yüksek seviyelere çıkarmak amacıyla toprak içerisine herhangi bir kontrol olmadan rasgele iletilen sular, yapılarında kendiliğinden bulunan tuzu toprağın yapısına dâhil etmektedirler. Fazla miktarda

verilmekte olan bu su, ayrıca taban suyunun yükselmesine sebep olarak, toprak ve taban suyu içerisinde yer alan tuzları da yukarı doğru harekete geçirmektedir. Sıcaklığın etkisi ile beraber toprak yüzeyine kadar getirdiği tuzları burada bırakarak, hızla buharlaşarak, toprak yüzeyinde tuzlanma oluşturur, tarımsal üretimi kısıtlar ve verimin düşmesine yol açar. Ülkemiz toprakları incelendiğinde sodyumlu, borlu ve tuzlu topraklar İç Anadolu Bölgesi başta olmak üzere 1,6 milyon hektar alan kaplamaktadır. Güney ve batı bölgelerimiz topraklarının fazla sulamaları sonucunda toprak kalitesi düşmüştür. Tuzlanma ile, hastalık ve zararlı görülme oranlarında da artış ve verim düşüşü görülmeye başlamıştır.

Stres, çevresel ve biyolojik etkilerin, bağımsız olarak veya beraber, bitkilerin fizyolojik döngülerinde görülebilir değişiklikler oluşturması olarak tanımlanmaktadır (Kadioğlu, 1999). Bitkinin büyüme ve gelişmesini sınırlandıran, hatta bitkinin ölümüne neden olan stres faktörleri abiyotik ve biyotik olarak ikiye ayrılır. Abiyotik stres faktörleri; kuraklık, sıcaklığın uygun olmayışı, tuzluluk, ağır metal, besin yetersizliği, radyasyon gibi iken; bakteri, virüs ve fungusları içeren patojenler ile böcekler biyotik stres faktörleridir. Bitkinin istenildiği şekilde büyüme ve gelişmesinin sağlanması, bitkinin direnç gösterebilecek düzeye kadar stres etmenlerinden arındırılmış ortamlarda yetiştirilmesiyle mümkündür. Ne var ki günümüzde nüfus artışına bağlı olarak ortaya çıkan tarım alanlarının azalması ve yanlış tarımsal uygulamalar, sanayileşme, küresel ısınma ve çiftçilerin bilinçsiz uygulamaları bitkiler için uygun yetişme ortamını sağlamaya oldukça az imkân vermektedir. Bu çerçeveden bakıldığında hem ekosistemin temelini oluşturan hem de tüm canlıların besin ihtiyacının önemli bir bölümünü karşılayan bitkilere uygun ortamı sağlamamız elzemdir.

İklim sebebi ile ortaya çıkan olumsuzluklardan ülkemiz tarımının en az seviyede etki görmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Bitkilerin buldukları ortamda karşılaştıkları olumsuzluklar arasında olan tuzluluk karşısında çeşitli çözüm önerileri söz konusudur. Örneğin, stresten etkilenen bitkiler üzerine, bitki hormonlarının nasıl etki ettiği yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Brassinosteroidler, birçok bilim insanı tarafından yeni bir bitki hormonu olarak kabul edildiğinden (Srivastava, 2002), strese maruz kalan bitkiler üzerinde nasıl etki etkiye sahip olduğu araştırılması gereken bir konudur. Bu konu ile ilgili olarak çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada, 150 mM NaCl konsantrasyonlu Hoagland Besi çözeltisinde yetiştirilerek tuz stresine maruz kalan *Spinacia oleracea* L. (ıspanak) fidelerine ekzojen olarak uygulanan 24-epibrassinolidin etkisi incelenmiştir. Farklı konsantrasyon uygulamalarından sonra etki oluşturan en uygun konsantrasyon 10^{-9} M eBL konsantrasyonu olarak saptanmıştır. Bitkinin tümüne (kök hariç) püskürtme yoluyla uygulanan 10^{-9} M eBL çözeltisinin tuz stresine karşı iyileştirici etki gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu araştırmada, *Spinacia oleracea* L. (ıspanak) fideleri 4 gruba ayrılmıştır.

1. grup: Tuz stresine maruz kalmayan ve hormon uygulaması yapılmayan Hoagland çözeltisinde yetiştirilen kontrol grubu,
2. grup: Tuz stresine maruz kalmayan ancak hormon uygulaması yapılan Hoagland çözeltisinde yetiştirilen deney grubu,
3. grup: Tuz stresine maruz bırakılan ve hormon uygulaması yapılmayan Hoagland çözeltisinde yetiştirilen deney grubu,
4. grup: Tuz stresine maruz bırakılan ve hormon uygulaması yapılan Hoagland çözeltisinde yetiştirilen deney grubu,

Bunlardan 2. ve 4. gruptaki fidelerin tüm kısımlarına püskürtme yoluyla hormon uygulaması yapılmışken, diğer gruplara sadece distile su püskürtülmüştür. Bu uygulamalar sonucu morfolojik açıdan farklar oluşması beklenmiş ve tüm bitkide stres parametreleri olarak total klorofil, total protein miktarı ve membran permeabilitesindeki değişikliklerin yanısıra peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, küresel ısınma sonucu artan kuraklık ve bilinçsiz sulamalar sonucu oluşan tuzlu topraklarda yetişmek zorunda kalan bitkinin direnci üzerine eBL'nin etkisini incelemek, mekanizmasına dair yol gösterici bazı bilgiler elde etmektir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. İSPANAK HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Ülkemizde büyük miktarlarda üretimi yapılan ıspanak, bol yağış alan Doğu Karadeniz Bölgesi'nde kısıtlı, diğer bölgelerimizde bol miktarlarda yetiştirilebilen yapraklı sebzedir. İspanak ülkemizin sıcak bölgelerinde yaz sonlarına doğru ve kışın, soğuk bölgelerde ise ilkbahar ve kış dönemlerinde yetiştirilir. Aslında serin iklim sebzesidir. Kış mevsimi süresince her bölgemizde tüketilir. Uzun gün bitkisi olan ıspanaklarda, gün uzunluğu arttıkça generatif faza geçiş hızlanır ve bu nedenle bitki gelişimi durur. Bitkinin en iyi gelişebildiği sıcaklık aralığı 15-20°C'dir. Dondurulmuş şekilde pazarlanabilmesinin yanısıra çocuk maması ve çorba sanayiinde kullanım alanı bulmuş olması da üretimini pozitif açıdan etkileyen unsurlardır.

Tek yıllık bir sebze olarak bilinen ıspanağın anavatanı Batı Asya'da yer alan Güney Türkistan ve Kafkasya ile Nepal'dir. İspanak 2000 m rakımlarına kadar yetiştiriciliği yapılan bir sebze türüdür. Kültürü yapılarak tüketilen ıspanağın *Spinacia tetandra* Roxb'dan gelişim gösterdiği kabul edilmektedir. Belirtilen bu türün İran, Afganistan ve Türkistan'da sebze şeklinde tüketildiği bildirilmiştir. İspanak üretimi Kuzey Avrupa ülkeleri de dahil olmak üzere büyük ölçüde kuzey yarım kürede yapılmaktadır (Vural ve diğ., 2000).

2.1.1. Morfolojik Özellikleri

Tek yıllık bir sebze olan ıspanak bitkisinin gelişmiş bir kazık kök sistemi vardır. İspanağın kazık kökleri toprakta bir engelle karşılaşmazsa toprağın 80-100 cm derinliklerine kadar uzayabilir. İspanaklarda gövde rozet şeklinde ve otsu bir yapıya sahiptir. İspanak bitkisi generatif faza geçtiğinde gelişmeye başlar. Gövde, otsu yapıya sahip olduğu için kolaylıkla zarar görebilir. İspanaklarda bitkinin boyu 40-80 cm arasında değişmektedir. Güneşlenme süresi uzayıp, ışık yoğunluğu arttıkça bitki boyunda kısalma görülür.

Ispanaklarda yenilen kısımlar yapraklar olduğundan dolayı, yaprak yapıları oldukça büyük önem taşımaktadır. Ispanak bitkisinin yaprakları şekil, renk, etlilik, kıvrıcılık, büyüklük, yaprak sapı uzunluğu, yaprak sapının toprakla yaptığı açı yönünden önemli farklılıklara sahiptir. Belirtilen bu özellikler ıspanak yetiştiriciliğinde yetiştirme amacına göre istenilen özellikler olmakla beraber kış dönemi içerisinde örtü altında, (yüksek yastıklar ve soğuk seralarda) yetiştiriciliği yapılan Minsterlende ve Viroflay gibi çeşitlerde ise renk açık yeşil olmaktadır. Bu sebeple kış döneminde zorunlu olarak bu çeşitler yetiştirilmektedir. Juliana, Viking ve Matador çeşitlerinin yaprakları koyu yeşil renge sahiptir. Yaprakların şekilleri de, çeşitlere açısından çeşitlilik göstermektedir. Yuvarlağa yakın olan oval yapraklı çeşitler ile beraber yaprak uçlarının sivri olduğu çeşitlerde mevcuttur. Etli yaprak ıspanak çeşitlerinde yaprakların şekli genelde ovaldır. Ispanak çeşitleri yaprak yüzeyi açısından farklılık gösterir. Bu açıdan değerlendirildiğinde yaprak yüzeyi düz olanlar ve yaprak yüzeyi kıvrımlı olanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Belirtilen bu çeşitlerin yetiştiriciliği Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın bir şekilde görülmektedir.

Ispanakların meyveleri, tohum olarak adlandırılmaktadır. Ancak aslında aken meyveye sahiptir. Tohumlar bej, kahverengi ve yeşilimsi-kahverengi ve renklerinde olabilmektedir. Tohumlar genellikle 3-3,5 mm çapına sahiptir. Tohum normal koşullar altında 6-8 gün içerisinde 16-25°C sıcaklıkta çimlenmektedir. Değişik koşullara göre ıspanak tohumlarının çimlenme süresi bir aya kadar uzayabilmektedir. Ispanak tohumları çimlenme yeteneklerini 4-5 yıl kadar muhafaza ederler (Vural ve diğ., 2000).

2.1.2. Ispanak Üretimini Dünyadaki ve Türkiye'deki Durumu

2013 yılında Türkiye'deki ıspanak üretim miktarı, dünyadaki üretim miktarı içerisinde 4. sırada yer almıştır. 2013 yılında dünya genelinde 23.231.898 ton* ıspanak üretilirken, bu üretimin 220.274 tonu** Türkiye'de gerçekleşmiştir. Bu rakam dünya üretimindeki payımızın %1 olduğunu göstermektedir (FAO*, TÜİK**, 2013). Yıllara göre ülkemizdeki ıspanak üretimi incelendiğinde; 2011 yılında 221.632 ton, 2012 yılında 222.225 ton, 2013 yılında 220.274 ton ve 2014 yılında 207.676 ton olduğu tespit edilmiştir (TÜİK, 2014). 2015 yılında ise ülkemizde 208.403 ton ıspanak üretilmiştir (TÜİK, 2015).

2.1.3. Ispanağın Beslenmedeki Önemi

Ispanak, vitamin ve mineral maddeler yönünden zengin sebzelerden biridir. 100 g'da 25 cal enerji, 3,6 g karbonhidrat, 3 g protein, 0,3 g yağ, 0 kolesterol, 2,1 g lif, 38 mg P, 170 mg Ca, 2,2 mg Fe, 50 mg Na, 500 mg K, 8.100 IU A vitamini, 0,07 mg B1 vitamini, 0,14 mg B2 vitamini, 0,5 mg B3 vitamini, 150 mcg folik asit, 28 mg C vitamini ve 1,7mg E vitamini bulunmaktadır (Anon., 2008). Bu özelliklerinden dolayı ıspanak, insan sağlığı ve beslenme açısından çok önemlidir. Çocuk, genç ve ileri yaş grubunun diyetlerinde ıspanak önemli bir yer tutar. Anemik hastaların beslenmesinde de aklı gelen ilk bitki ıspanaktır. Ayrıca göğüs hastalıklarında, ağız ve boğaz ağrılarında, şeker hastalıklarında, şişmanlık ve kabızlığa karşı halk arasında kullanılmaktadır. Bileşiminde bulunan sodyum, potasyum ve bilhassa magnezyum, çocukların ve gençlerin gelişmeleri üzerinde önemli rol oynamaktadır. A ve C vitaminleri bakımından zengindir ve içerdiği folik asit sebebiyle kansızlık tedavisinde iyi bir takviyedir ve kalbin dostudur. Bu nedenle, özellikle çiğ olarak hazırlanan salatası, sağlık açısından son derece yararlıdır (Anon., 2007). Buna karşın, bileşiminde fazla bulunan oksalik asit, nitrit ve nitrat sebebiyle zehirlenmelere neden olabilir. Hasat zamanı geçmiş, hasattan sonra ya da pişirildikten sonra çok bekletilmiş ıspanakların tüketilmesi doğru değildir (Sağlam, 2005).

Ispanak antioksidan bileşikleri bol miktarda içerdiği için yaygın olarak kullanılan bir diyet sebzesidir (Aritomi ve Kawasaki, 1984; Aritomi ve diğ., 1986; Ferreres ve diğ., 1997; Gil ve diğ., 1999).

Dağlıoğlu (1996)'na göre taze ve kurutulmuş ıspanak yapraklarında bulunan bazı besin elementlerinin durumu Tablo 2.1'de sunulmuştur.

Tablo 2.1: Ispanakta ele alınan bazı elementlerin taze ve kuru ağırlıktaki miktarları (mg/100g) (Dağlıoğlu, 1996).

Element	Taze yaprak	Kurutulmuş yaprak
Demir	7,53	4,20
Sodyum	0,67	41,33
Potasyum	470,00	454,33
Fosfor	314,33	87,00
Kalsiyum	160,67	46,00

2.2. STRES

Biyolojik ve çevresel etkilerin beraber veya tek başlarına, bitkilerin fizyolojik işleyişlerinde görünür farklılıklar oluşturması olayı stres olarak tanımlanmaktadır (Kadıoğlu, 1999). Gürel ve Avcıoğlu (2001)'na göre stres, bitkilerin fizyolojik etkinliklerini (büyüme, gelişme ve metabolizma gibi) olumsuz yönde etkileyen durumlardır.

Stres etmenleri, bitkilere olan etkilerini genellikle aynı anda ve birlikte göstermektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Stres faktörlerinin, kaynaklarına göre biyotik ve abiyotik stres etmenleri olacak şekilde iki farklı grup altında incelenebilir. Abiyotik stres faktörleri arasında; sıcak, soğuk, tuzluluk, kuraklık, su fazlalığı, radyasyon, bazı kimyasallar, rüzgâr ve topraktaki besin maddesi yetersizliği gibi çevresel faktörler olarak sayılabilir. Biyotik stres faktörleri arasında ise; virüs, bakteri ve fungusları içeren patojenler, böcekler ve herbivorlar sayılabilir (Mahajan ve Tuteja, 2005).

Abiyotik stres faktörlerinden kuraklık %26 oranında bir paya sahiptir. Diğer faktörler incelendiğinde mineral stresinin %20 olduğu, don ve soğuk stresinin %15 olduğu, kalan diğer bütün stres faktörleri ise %29 paya sahip olup sadece %10'luk bir alan herhangi bir stres faktöründen etkilenmemektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Mineral stresinin büyük bir bölümünde tuzluluk yer almaktadır. Dünya üzerinde tuzluluk problemi ya da riski taşıyan milyonlarca hektar alan bulunduğu bildirilmiştir (Çulha ve Çakırlar, 2011).

Gerek doğal ortamlarında gerekse de yetiştirme koşullarında, bitkiler çoğu zaman stres ile karşı karşıya kalmaktadırlar. Bir bitkinin bütünü ya da bazı bölümleri strese karşı dirençliyken, genç fideler ve meristematik dokular strese karşı duyarlıdır (Kocaçalışkan, 2008).

2.2.1. Toprak Tuzluluğu

Toprak tuzluluğu; yarı kurak ve kurak iklim alanlarında yıkanıp yeraltı sularına geçen çözünebilir tuzların yüksek taban suyu ile beraber kapillarite aracılığıyla toprak yüzeyine yükselmesi, buharlaşma sonucunda da suyun topraktan ayrılarak tuzun toprak

yüzeyinde ve/veya yüzeye yakın bölümlerinde birikmesini ifade eden bir olaydır (Ergene, 1982; Kara, 2002) (Şekil 2.1).

Tuzluluk, oluşma nedenlerine göre primer ve sekonder tuzluluk olarak iki grupta incelenir. Primer tuzluluk özellikle ana kayaçların ayrışması, okyanuslar ve iklimsel faktörler sebebiyle oluşur. Sekonder tuzluluğun oluşum sebepleri ise, tarımsal bölgelerdeki aşırı ve yanlış sulama, yoğun otlama, bitki örtüsünün zarar görmesi ve toprakların bazı kimyasallar ile kirletilmesidir (Çulha ve Çakırlar, 2011).

Tuzluluğun ortaya çıkma mekanizması incelendiğinde; Na^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} 'un klorür, sülfat ve karbonatlarla bir araya gelmesi ile beraber; özellikle NaCl , Na_2CO_3 , Na_2SO_4 , CaCl_2 , MgSO_4 , MgCl_2 gibi tuzların yoğun birikimi sonucunda ortaya çıkmaktadır (Çolak ve diğ., 2011).

FAO/UNESCO tarafından sunulmuş bir raporda, dünyada 954 milyon hektar toprakta tuz sorunu olduğu ve bu sebeple verimin azaldığı belirtilmiştir (Sönmez, 2011). Ülkemizde tuzluluk tehdidi bulunan yaklaşık olarak 4,2 milyon hektar alanın yer aldığı düşünülmektedir (Sönmez, 2012). Küresel ısınma başta olmak üzere, aşırı ve düzensiz yağışlar, buharlaşmanın yükselmesi ve kötü tarım uygulamaları sebebiyle topraktaki tuzluluğun önümüzdeki 25 yılda ekim/dikim alanlarını %30 seviyesinde düşüreceği belirtilmiştir (Koyuncu, 2012).

Yaklaşık olarak 230 milyon hektar kadar sulanabilen tarım alanlarının 1/3'ünde, toprak tuzluluğu sebebiyle üretim mümkün olmamaktadır (Oldeman ve diğ., 1991; Ghassemi ve diğ., 1995). Belirtilen tuzlu bölgelerin %15,57'si Afrika'da, %5,07'si Avustralya'da, %0,57'si Meksika ve Orta Amerika'da, %1,8'i Kuzey Amerika'da, %20,21'i Güney Amerika'da, %26,7'si Kuzey ve Orta Asya'da, %24,25'i Güney Asya'da ve %5,82'si Güney Doğu Asya'da yer almaktadır (Massoud, 1974). Ülkemiz ise 1,5 milyon ha bölgede tuzluluk sorunuyla mücadele etmektedir. Bu bölgelerin %60'ı tuzlu, %19,6'sı orta seviyede tuzlu, %0,4'ü orta seviyede alkali, %12'si hafif tuzlu-alkali, %8'i ise orta seviyede tuzlu-alkali olarak gruplandırılmaktadır (Anon., 2008).



Şekil 2.1: Tuzluluktan etkilenmiş bir tarımsal alan (<https://ucrtoday.ucr.edu/22974> ziyaret tarihi: 23.04.2017).

Harran Ovası içerisinde sulama öncesinde (1964-1965) yürütülen arazi tasnif etüdü çalışmaları neticesinde 8513 ha'lık bir bölgenin tuzlu, 3289 ha'lık bir alanın tuzlu-sodyumlu ve 33 ha'lık bir bölgenin de sodyumlu olduğu bildirilmiştir (DSİ, 1971). Sulamanın 1995 yılında başlamasıyla birlikte tuzlu toprak oranında artış görülmüş, 2000 yılı itibariyle tuzlu alan oranı 11430 hektara yükselmiştir (Çullu ve diğ., 2002).

Tablo 2.2: Harran Ovası tuzluluk durumu (Dinç ve diğ., 1988; Çullu ve diğ., 2002).

Tuzluluk Sınıfı	1987 Yılı Alan (ha)	2000 Yılı Alan (ha)
Hafif Tuzlu	2788	4814
Orta Tuzlu	2219	3912
Şiddetli Tuzlu	542	2676
Toplam	5550	11430

2.2.2. Tuz Stresinin Bitkiler Üzerine Olan Etkileri

Bitkilerin tuz stresine yanıtı; bitkinin gelişme dönemine, ortamdaki tuz konsantrasyonuna, tuza maruz kalma süresi ve şiddetine, ışık, sıcaklık ve toprak

tekstürü gibi ortam koşullarına, farklı bitki türlerine ve tür içerisindeki genotiplere bağlı olarak değişebilmektedir (Greenway ve Munns, 1980; Marschner, 1995).

Bitkiler tuzlu bölgelerde hayatta kalma ve gelişim seviyelerine göre iki gruba ayrılmaktadırlar. 1. Halofitler, 2. Glikofitler.

1. Halofitler: Yüksek oranda tuz miktarına sahip topraklarda yaşamlarını devam ettirebilen bitkilerdir. Bu bitkiler 300 mM NaCl konsantrasyonundan daha fazla tuzlulukta bile yaşayabilmektedirler (Zhu, 2007).

2. Glikofitler: Bitkiler 200 mM'ın aşığındaki tuz miktarlarında zarar görüyorsa, böyle bitkiler glikofit olarak adlandırılır. Bu bitkiler 100-200 mM NaCl konsantrasyonunda bile canlılığını sürdüremezler.

Yüksek bitkilerin hemen hemen tamamı ve hatta tarım için önemli olan çoğu bitki glikofit bitkiler grubunda yer almaktadır. Bu bitkiler yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşamlarını devam ettirememektedirler (Torun, 2012).

Tuz stresi sonucunda; bitkilerin büyümesi ve gelişmesi osmotik ve iyon stresine bağlı şekilde engellenmektedir (Parida ve Das, 2005). Özellikle kök rizosferinde tuz seviyesinin yükselmesi ile beraber öncelikle osmotik stres oluşmaktadır. Dış koşullara bağlı olarak oluşan osmotik stres, kullanılabilir su seviyesinin düşmesine neden olmaktadır. Bu durum "fizyolojik kuraklık" olarak tanımlanır (Tuteja, 2007). Osmotik stresin devamında oluşan iyon stresi aşamasında, ortamda yükselen Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının K⁺, Ca²⁺ ve NO³⁻ gibi bazı besin elementleri ile rekabet oluşturması sebebiyle, bitkilerde besin elementi eksikliği ya da besin dengesizliği oluşmaktadır (Hu ve Schmidhalter, 2005). Tuzluluk, bitkiler üzerindeki primer etkisini (doğrudan etki) osmotik ve iyon stresi oluşturarak göstermektedir. Sekonder etkisini (dolaylı etki) ise bu stres etmenleri sonucunda bitkilerde oluşan yapısal zararlanmalar ve toksik bileşiklerin sentezlenmesi şeklinde gösterir. NaCl'nin neden olduğu önemli sekonder etkiler; DNA, protein, klorofil ve zar işlevine zarar veren reaktif oksijen türlerinin (ROT) sentezi; fotosentezin engellenmesi; metabolik toksisite; K⁺ alımının engellenmesi ve hücre ölümü olarak sayılabilir (Botella ve diğ., 2005; Hong ve diğ., 2009).

2.2.2.1. Organ Düzeyinde Etkileri

Tuz stresi, hücre bölünmelerini ve uzamasını etkilemektedir. Böylece bitkilerin kök ve gövde hücre sayılarının, mitoz bölünme aktivitesinin ve hücre bölünme oranının düşmesine sebep olmaktadır (Bursens ve diğ., 2000).

NaCl'ye doğrudan maruz kalan fidelerde primer kök sisteminin büyümesi, hücre genişlemesinin ve hücre döngüsünün baskılanması sebebiyle doğrudan engellenmektedir (Wang ve diğ., 2009b). Kök tüyleri ise yükselen tuz seviyesine bağlı olarak aktivitelerini kaybetmektedir ve yok olmaktadır (Ali ve diğ., 1999). Kök sistemi tuzluluğa doğrudan maruz kalmasına rağmen, yaprak büyümesi tuz stresine karşı kök büyümesine göre daha duyarlıdır. Bu nedenle tuz stresinde bitkilerde kök oranı gövde oranına nispeten artış göstermektedir. Belirtilen bu artışın mekanizması halen ortaya çıkarılamamasına rağmen, tuzluluk karşısında yaprak ile kökün hücre duvarlarında çeşitli değişimlerin oluşması buna sebep olarak gösterilmektedir (Munns ve Tester, 2008). Ayrıca, tuza direnç gösteren bazı bitkilerin kök endodermisindeki hücrelerin arasında fazla tuzun içeriye girişini engelleyen mumsu yapılar bulunduğu da bildirilmiştir (Özen ve Onay, 2013).

Tuz stresi bitkinin birçok gelişim aşamasına etki göstermesine rağmen, en çok etkilenen evre tohum üretim safhası, dolayısıyla da tohum verimidir (Khatun ve Flowers, 1995).

2.2.2.2. Hücresel Düzeyde Etkileri

Tuz stresi altında apoplastta yüksek miktarda Na⁺ birikmektedir. Biriken bu Na⁺, hücre çeperinin yapısında bulunan pektin gibi yapısal bileşenlerin iyonik bağlantılarını bozup ya da apoplastik enzimleri olumsuz şekilde etkileyerek hücre duvarının temel görevlerini yürütmesini engellemektedir (Rengel, 1992).

Tuz stresinin hücre zarı üzerinde de olumsuz etkileri vardır. Tuz stresi zarın yapısındaki lipid kompozisyonunun değişimine neden olmakta, bu da zarın yapısını bozmaktadır (Huang, 2006). Bu durum zarın geçirgenliğini, akışkanlığını ve zar proteinlerinin aktivitesini etkilemektedir (Wu ve diğ., 1998). Bununla beraber tuz stresi; lipitlerin parçalanması ve modifikasyonunda da görev alan lipoksigenaz enzim aktivitesinde artış meydana getirmektedir. Bu artış hücre zarında bulunan fosfolipidlerin miktarında azalmayı başlatmaktadır (Huang, 2006).

Fazla seviyede NaCl alınımı hücrede, Na⁺ ve Cl⁻ seviyesinin yükselmesine, Ca⁺², K⁺ ve Mg⁺² miktarlarının ise düşmesine neden olmaktadır (Parida ve Das, 2005). Na⁺, Cl⁻ ve SO₄⁻² gibi iyonların yüksek seviyelerinde birikimine spesifik iyon toksisitesi adı verilir. Na⁺, hücre zarındaki Ca⁺² ile yer değiştirip zarın apoplast bölümünde Na⁺/Ca⁺² iyon oranını artırmaktadır. Böyle bir durumda, hücre zarının fizyolojik ve fonksiyonel yapısı bozulmakta ve hücrenin Ca⁺² dengesi etkilenmektedir (Yokoi ve diğ., 2002). Ayrıca; hücreye giren Na⁺, anyon kanalları aracılığıyla hücre dışındaki Cl⁻ 'un pasif olarak hücreye girişini kolaylaştırmaktadır (Niu ve diğ., 1995; Tuteja, 2007). Bu durum hücre için toksiktir. Normalde, yüksek bitkilerin sitosolü 100-200 mM K⁺ ve 1-10 mM Na⁺ içermektedir ve bu şartlarda metabolik faaliyetler devam etmektedir (Türkan ve Demirel, 2009). Bitki hücrelerinde birçok sitosolik enzimin aktif olabilmesi belli bir Na⁺/K⁺ dengesine bağlıdır (Mahajan ve diğ., 2008). Tuz stresinin artmasıyla birlikte Na⁺/K⁺ dengesi de bozulmaktadır (Tester ve Davenport, 2003). Tüm bu iyonlar bitki büyüme ve gelişimi için gerekli temel elementlerdendir ve osmotik dengenin korunmasında, enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde, protein sentezi döngüsünde, negatif yüklü proteinlerin nötralizasyonunda ve stomaların hareketinde rol almaktadır (Wu ve diğ., 1996).

Tuz stresi, osmotik potansiyeli düşürerek, kullanılabilir su içeriğini azaltmaktadır. Buna bağlı olarak bitkilerde stomalar kapanmakta ve transpirasyon ile su kaybını önlemektedir. Stomaların kapanması, transpirasyonu engellemekte ve stoma iletkenliğinin azalmasına yol açmaktadır. Böylece kloroplastlara giren CO₂ miktarı sınırlanmakta ve Rubisco aktivitesi azalmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Tuz stresi kloroplast tilakoidlerinde yer alan proteinlerin ve hücredeki fotosentetik enzimlerin yapısında değişimlere neden olmaktadır. Böylece elektron taşınımı etkilenmekte ve fotosistem II (PSII) aktivitesi ve fotosentez inhibe olmaktadır (Rita ve Frederick, 2005). Fotoinhibisyon sonucu, PSII boyunca elektron taşınımı engellenir ve PSII'deki serbest oksijenlerden süperoksit radikali sentezlenebilmektedir. Tuz stresi ile klorofillaz enzim aktivitesi artmakta, klorofil klorofillid ile fitole yıkılmaktadır. Ayrıca toplam karotenoid miktarları azalmaktadır (Çulha ve Çakırlar, 2011).

Ayrıca tuz stresi; kloroplastların stromalarında pH'nın düşmesine de neden olabilmektedir. Böylece karbon reaksiyonlarında görev üstlenen enzimlerin aktivitelerini olumsuz yönde etkiler. Bu duruma örnek olarak; Fruktoz-1,6-bisfosfat

enziminin aktivitesi, çok küçük bir pH farklılığında bile önemli seviyede azalmaktadır (Berkowitz, 1998).

2.2.2.3. Organel Düzeyinde Etkileri

Tuz stresinde organel düzeyinde en görünür değişim kloroplastlarda oluşmaktadır (Koyro, 2002).

NaCl'nin kloroplastta oluşturduğu en önemli değişim kloroplastın önemli bölümlerini oluşturan tilakoid ve stromanın şişmesi olarak bilinmektedir. Tilakoidler, hücre içi ROT'larının üretiminde önemli bir görev üstlenmektedir. NaCl'li ortamda kloroplastların ürettiği ROT'lar oksidatif stres oluşumunu hızlandırır ve oluşan OH⁻ (hidroksil radikali) ile H₂O₂ (hidrojen peroksit), tilakoidlerin şişmesine ve dalgalı bir hal almasına yol açmaktadır. Böylece, tuz stresi sonucunda tilakoidlerin nasıl etkilendiği anlaşılmaktadır. (Hernandez ve diğ., 1995; Miyake ve diğ., 2006).

Zhu (2001), yaptığı bir çalışmada tuzluluğun; stomaların kapanmasına bağlı olarak bitkilerde terleme olarak bilinen transpirasyonun ve kloroplastlara CO₂ difüzyonunun düşmesine yol açtığını ve böylece fotosentezi olumsuz şekilde etkilediğini bildirmiştir. Fotosentez gerçekleşen dokularda tuz miktarının yükselmesi, bitişik grana membranlarında yığılmaya, tilakoidlerin büzülmesine ve klorofillerin parçalanmasına yol açmaktadır (Ashraf, 2004). Ayrıca farklı bir çalışmada NaCl'nin çeltik bitkisinde tilakoidlerin şişmesine, lipid damlacıkları ile polisakkarit tanelerinin birikimine ve grana dizilerinin bükülmesine neden olduğu bildirilmiştir (Rahman ve diğ., 2000).

Tuz stresinden önemli seviyede etkilenen bir diğer organel ise mitokondri olarak bilinmektedir. Mitokondride tuz stresi ile beraber ortaya çıkan değişimler; yapısal olarak parçalanma, şişme, kristalarda azalma, vakuol oluşumunda artış ve elektron transportunda azalma olarak bildirilmiştir (Koyro, 2002). Kloroplastlarda olduğu gibi mitokondride de benzer şekilde ROT'lar üretilmektedir. Elektron transport zincirlerinden sızan elektronlarla üretilen ROT'lar (Blokhina ve Fagerstedt, 2010) ve antioksidan enzimlerin aktivitesinde meydana gelen azalmalar (Mittova ve diğ., 2004) sebebiyle oluşan oksidatif stres, mitokondrilerin, NaCl'nin toksik düzeyde birikmesinden hem doğrudan, hem de dolaylı olarak etkilendiklerini ortaya koymaktadır.

Tuz stresi, diğer organelleri de etkilemektedir. Tuz stresinde nukleus boyutunda değişimler, degridasyonlar, endoplazmik retikulumda kısmi şişmeler ve vakuolizasyon; tonoplastta vesikülasyon ve parçalanma ile Golgi aparatında hipertrofi (aşırı büyüme) gözlenmektedir (Katsuharave ve Kawasaki, 1996; Rahman ve diğ., 2000).

2.2.2.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Antioksidatif Enzimler Üzerine Etkileri

Hüresel metabolizmalarda ROT'lar sürekli olarak üretilmekte ve bitki hücreleri bu ROT'ların seviyelerini antioksidanlar ve bazı korunma sistemleriyle düşük seviyede tutmaktadır. Fakat yüksek veya düşük sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, UV, ozon ve SO₂ kaynaklı hava kirliliği, herbisitler, besin eksikliği veya patojen enfeksiyonları gibi çeşitli çevresel stres faktörlerinin etkisi altında antioksidan sistemlerin aktiviteleri düşer. Bu çevresel etmenler ROT'ların sentezlenmesini tetiklemekte ve bu moleküllerin birikimine neden olmaktadır (Breusegem ve diğ., 2001; Mittler, 2002; Jaspers ve Kangasjärvi, 2010).

Ayrıca ROT'lar; bitki gelişiminde önemli görev üstlenen hormonal sinyal üretiminde, hücre çeperi polimer yapısının değişiminde, bitkinin çevreyi algılamasıyla alakalı mekanizmalarda, gen ifadelerinde, fizyolojik ve metabolik düzenlemelerde “oksidatif sinyal molekülü” olarak da görev üstlenmektedir (Swanson ve Gilroy, 2010).

Mitokondri ve kloroplastlarda elektron taşınması esnasında, elektronlar oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit radikal (O₂⁻) ve hidroksil radikal (OH⁻) gibi aktif radikalleri oluştururken, durağan oksijenin enerjisiyle aktive olarak singlet oksijen gibi bir başka oksijen türevini sentezlemektedir. Bu oksijen türevlerinin etkisi ile lipitler, proteinler ve nükleik asitler oksidatif zarara uğramakta ve bunun neticesinde metabolizmada problemler oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1985; Elstner, 1987).

Bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROT) normal şartlarda üretimi ve yıkımı dengede bulunmaktadır. Ancak çevresel stresler altında reaktif oksijen türlerinin üretimi ve antioksidan sistemin baskılama aktivitesi arasındaki denge bozulmaktadır (Harinasut ve diğ., 2003). Tuz stresi; mitokondri ve kloroplastlardaki oksijene elektronların kaçışını artırma yoluyla reaktif oksijen türlerinin miktarını artırmaktadır (Ahmad ve diğ., 2008). Tuz stresi; süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin oluşmasıyla oksidatif hasara neden olmaktadır (Smirnoff, 1993; Türkan ve Demiral, 2009). Stres altında üretilen ROT'ların lipid peroksidasyonu, enzim inaktivasyonu, proteinlerde çapraz bağlanmalar, fotosentez hızında düşme ve DNA'da

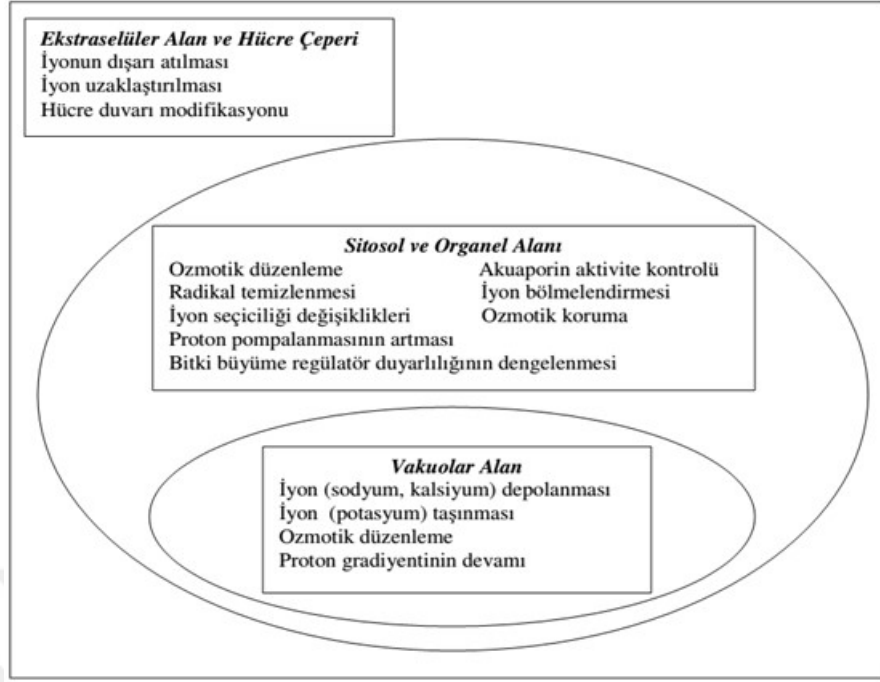
mutasyonlara sebep olan zararlı faktörler olduğu kabul edilmektedir (Alscher ve diğ., 2006).

Bitkiler, tuz stresi sonucu oluşturulan ROT'dan hücreyi korumak için, askorbat, glutatyon, α -tokoferol, karotenoidler gibi antioksidanları ve katalaz (CAT), peroksidaz (POX), glutatyon redüktaz (GR), süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidatif enzimleri kullanmaktadırlar (Zhu, 2005).

Tuzluluğun, değişik bitkilerde antioksidatif sistem üzerine etkileri ile alakalı oldukça fazla araştırma yürütülmüştür. Örneğin, karpuzda yapılan bir çalışmada 100 mM NaCl uygulaması, SOD, CAT, APX ve GR enzim aktivitelerinde yükselişe yol açmıştır. (Yaşar ve diğ., 2008). Bezelyede yürütülen farklı bir çalışmada 70 mM NaCl uygulaması, toleranslı çeşitte Cu/Zn-SOD aktivitesini etkilememiş fakat APX, GR, Mn-SOD, DHAR (dehidroaskorbat redüktaz) ve MDHAR (monodehidroaskorbat redüktaz) aktivitesini yükseltmiştir. Duyarlı çeşitte ise APX, MDHAR ve GR aktivitesi değişmezken, Cu/Zn-SOD aktivitesi düşmüş, DHAR aktivitesi ise yükselmiştir (Hernandez ve diğ., 2000). Pamukta NaCl stresinin SOD, guaikol peroksidaz ve GR enzimlerinin aktivitelerinde yükseliş ve CAT ile APX enzimlerinin aktivitelerinde düşmeye sebep olduğu belirtilmiştir (Parida ve Das, 2005).

2.2.3. Tuz Tolerans Mekanizmaları

Bitkiler tuz stresi ile mücadele edebilmek için farklı biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalar kökler aracılığıyla iyon alınımının kontrolü ve iyonların yapraklara taşınması, hücresel ve tüm bitki düzeyinde iyonların belirli bölgelerde tutulması, uyumlu bileşiklerin sentezi, fotosentetik yolda ve membran yapısında değişme, antioksidan enzimlerin aktivite artışı ve bitki hormonlarının indüksiyonunu içermektedir (Bohnert ve diğ., 1999; Parida ve Das, 2005). Bitki tuz stresi ile ilişkili olan biyokimyasal fonksiyonlar Şekil 2.2 de gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Bitki tuz stresi ile ilgili olan biyokimyasal fonksiyonlar (Parida ve Das, 2005).

2.2.3.1. Tuz İçeriğinin Regülasyonu

Tuzlu alanlarda gelişen bitkiler bünyelerindeki tuz konsantrasyonunu bazı mekanizmalarla düzenlemektedir. Bu mekanizmalar aşağıda sıralanmıştır (Dajic, 2006);

a) Tuzun hücrelere alınmaması ile tuzdan sakınma: Tuzun hücrelere alınmaması, rizosferde yüksek tuz miktarı varlığında kökün belli iyonlar için (Na^+ , Cl^-) düşük geçirgenliğe sahip olmasıyla gerçekleşmektedir. Bu esnada yine de belli bir miktar tuz hücrelere alınmaktadır (Lüttge, 2002). Kökte bu engelleme ultrafiltrasyon denilen (kaspari şeridi) filtre sistemi ile gerçekleştirilmektedir (Botella ve diğ., 2005). Bazı bitkiler, kökleri ile topraktan Na^+ almasına rağmen fazla tuzun kök, gövde ve yaprak ile çiçek sapslarında tutulması sonucu meristemlere, gelişen yapraklara ve genç meyvelere ulaşan tuz miktarı azalmaktadır (Larcher, 1995). Na^+ miktarının kök tarafından düzenlenmesinin kökte iletim hücrelerinde yer alan kontrol noktaları (transport proteinleri vb.) tarafından gerçekleştirildiği bildirilmiştir (Botella ve diğ., 2005).

b) Tuzun eliminasyon (eleme, atma) yoluyla uzaklaştırılması sonucu tuzdan sakınma: Bitkiler, özelleşmiş yapılar aracılığıyla tuzun uzaklaştırılması ve tuz içeren yaprak bölümlerinin dökülmesi sayesinde fazla tuzdan kurtulmaktadır. Bu uzaklaştırma işlemi yaprak epidermisinde lokalize olan tuz salgı tüyleri (trikomdan kökenli) ve tuz bezleri (epidermis hücrelerinin modifikasyonu ile oluşmuş) tarafından

gerçekleştirilmektedir (Munns ve Tester, 2008). Tuz salgı bezleri tuzu dışa salarken, tuz tüyleri fazla tuzu vakuollerinde biriktirmekte ve her iki durumda da tuz aktif dokulardan fizyolojik olarak uzaklaştırılmaktadır (Breckle, 2002).

c) Bitki dokularında sukkulentlik kazanma veya tuzun yeniden dağılımı ile yüksek tuz konsantrasyonunun seyreltilmesi: Sukkulentlik, bitkilerin yaprak dokularındaki fazla NaCl'nin seyrelmesini sağlayan bir mekanizmadır (Glenn ve diğ., 1999). Ayrıca hücre çeperinin elastikiyetine bağlıdır. Sukkulent halofitik bitkilerde oluşan morfolojik ve anatomik değişiklikler; özellikle sünger ve su içeren depo parankimasını oluşturan hücrelerin hacimlerinde ve yaprak kalınlığında artış ve stoma sayısında azalmadır (Dajic, 2006). Tuzun yeniden dağılımı ise transpirasyonun gerçekleştiği, aktif genç dokulardan Na⁺'nın ve Cl⁻'nin tekrar floeme aktarılarak, yapraklardaki tuz miktarının seyreltilmesi ile gerçekleşmektedir (Larcher, 1995). Floeme gönderilen iyonlar, yapraklardan köke (Botella ve diğ., 2005), tuzun atılması için özelleşmiş yapılara ya da fazla tuzu biriktiren yaşlı yapraklara gönderilerek zararsız hale getirilebilmektedir.

2.2.3.2. İyon Homeostasisının Düzenlenmesi ve SOS Sinyal İletim Yolu

Stres altında iken sitoplazmasında yüksek tuz bulduran bitkiler, metabolik fonksiyonlarını devam ettirebilmek için Na⁺'un fazlasını vakuollerinde depolamaktadır (Parida ve Das, 2005).

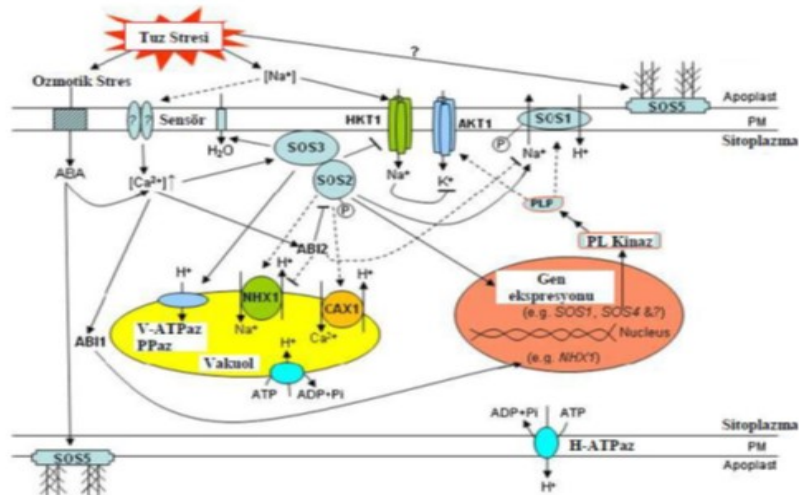
Hayvanların aksine, bitki hücrelerinde Na-ATPaz ya da Na/K-ATPaz olmadığı için iyon ve metabolitlerin taşınımı H-ATPazlar ve H-pirofosfatazlar ile gerçekleştirilmektedir. Stres koşulları altında bitkilerde birtakım düzenlemeler dahilinde H-ATPazlar ve H-pirofosfatazlar aracılığı ile iyonların iletimine bağlı olarak homeostaz sağlanır (Hasegawa ve diğ., 2000).

Bitkilerin dehidrasyona karşılık temel cevap mekanizması, su geçişinde rol oynayan hidrofilik transmembran kanallar olan aquaporinlerin ve iyon taşıma sistemlerinin aktivasyonunu/inaktivasyonunu kapsamaktadır (Zhu, 2000; Munns, 2002).

İyon stresinin ilk algılayıcı faktörleri iyon kanalları, iyon taşıyıcıları ve hücre içi ya da plazma membranı üzerindeki iyonla bağlanan proteinlerdir. Hücre içi depolardan ya da hücre dışından kalsiyum alımının oluşturduğu sitozolik kalsiyum artışı kuraklık, soğuk ve tuz streslerinde sekonder haberci olarak işlev görmektedir. Bitki hücrelerindeki kalsiyum salınımı; stres çeşidine, stresin gelişim derecesine, öncesinde strese maruz

kalıp-kalmadığına ve doku çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Kalsiyum salınımının tuz stresinde çok kısa zamanda meydana gelmesi ve 1-10 dakika kadar devam etmesi, tuz sinyalinin oluşturulmasında başlangıç olaylarından biri olduğu düşünülmektedir (Hirt ve Shinozaki, 2004). *Arabidopsis spp*'de, iyon dengesi ile tuz toleransında rol oynayan ve genetik olarak birbirine bağlı olan SOS1, SOS2 ve SOS3 olmak üzere üç lokus teşhis edilmiştir. SOS (Salt Overly Sensitive: Tuza Aşırı Duyarlı) genlerinin kontrolündeki SOS sinyal iletim yolu, Na^+ ve K^+ iyon dengesini düzenlemektedir (Yokoi ve diğ., 2002).

SOS sinyal iletim yolunun başlangıcının, Ca^{+2} sinyalini tetikleyen hücre içi ya da hücre dışı Na^{+2} fazlalığı olabilme ihtimali muhtemeldir. Bu yolda tuz stresıyla birlikte çıkan sitosolik Ca^{+2} sinyali, Ca^{+2} bağlayan SOS3 proteini tarafından algılanmaktadır. Ca^{+2} -SOS3 proteini bir serin/treoninkinaz olan SOS2 ile etkileşmekte ve SOS2'yi aktive etmektedir. Bu şekilde SOS3-SOS2 kompleksi oluşmaktadır. Aktifleşen SOS2 kinaz, sodyumu sitozolden pompalayacak olan Na^+/H^+ taşıyıcısı SOS1'i fosforillemekte, SOS3-SOS2 kinaz kompleksi SOS1 ve diğer genlerin transkripsiyon seviyesini düzenlemektedir. Buna ilave olarak SOS3-SOS2 kinaz kompleksi NHX1 (hücre içi zar Na^+/H^+ antiporterleri) aktive ederek sodyumun vakuolde tutulmasını sağlayabilmekte ve plazma membranında sodyum taşıyıcısı HKT1 (sodyum girişi taşıyıcısı) aktivitesini inhibe etmekte ve böylece sodyumun hücre içerisine girişini sınırlayabilmektedir (Zhu, 2002; Hirt ve Shinozaki, 2004).



Şekil 2.3: İyon dengesinin SOS sinyal iletim yolu, tuz stresini ve kalsiyum düzeyleri tarafından düzenlenmesi (Türkan ve Demiral, 2009).

2.2.3.3. Düzenleyici Osmolitlerin Biyosentezi

Tuz stresine maruz kalan bitkiler, birbirinin yerine geçebilen bileşenler olarak bilinen osmotik koruyucu bileşikleri biriktirmektedir (Hussein ve diğ., 2008). Bu bileşenler (osmolit) in bir kısmını K^+ gibi temel iyonlar oluştursa da büyük bölümünü organik maddeler oluşturmaktadır (Parvaiz ve Satyawati, 2008). Osmolitler, bitki hücrelerini dehidrasyona karşı korumaktadır ve düşük molekül ağırlığına sahip, toksik olmayan, hücre metabolizmasına zarar vermeyen ve molar konsantrasyonlarda biriken nötral maddelerdir (Djilianov ve diğ., 2005). Osmotik koruyucuların birikim düzeyi, türe özgü sınırlar içinde suyun girişini artırmak için (ya da çıkışını azaltmak için) dış ortamda artan ozmotik basınçla orantılı olarak değişmektedir (Parida ve Das, 2005). Osmotik koruyucular; a) ozmolitler; şekerler, polioller, prolin gibi aminoasitler, b) ısı şoku proteinleri (Heatshock), c) LEA proteinleri; geç embriyogenez bağımlı proteinlerdir. Osmolitler, stres tarafından oluşturulan ROT'un temizlenmesinde rol oynayan osmotik ayarlayıcı olarak görev almaktadır. Sitoplazmada suyun alıkonmasını sağlamakta ve sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırmak suretiyle hücrel yapıları korumaktadırlar (Smirnoff ve Cumbes, 1989).

2.2.3.4. Antioksidatif Enzimlerin Aktivitesi

Tuz stresi, osmotik etkilerinden dolayı su eksikliğine neden olmaktadır. Su eksikliği ise çeşitli ROT'ların oluşumunu tetiklemektedir (Parida ve Das, 2005). Bitkiler, tuz stresi sonucu oluşan ROT'lardan hücreyi korumak maksadıyla çeşitli antioksidan bileşikleri ve antioksidatif enzimleri kullanmaktadır (Zhu, 2005). Tuz stresine maruz kalan bitkilerin antioksidan enzim aktivitesindeki değişimleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Örneğin; mısır bitkisinin duyarlı ve toleranslı genotiplerine 100 mM NaCl uygulanmış, her iki çeşidin yapraklarında SOD, APX, GPX ve GR aktiviteleri kontrole göre artmıştır. Enzim aktivitesindeki artış toleranslı genotiplerde daha belirgindir. CAT aktivitesi, toleranslı genotiplerde azalmıştır (Neto ve diğ., 2006). Tuzluluk stresine maruz kalmış susam çeşitlerinde SOD, POX, CAT, APX ve GR enzim aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir (Koca ve diğ., 2007).

2.2.3.5. Bitkilerde Tuzluluk Stresinin İlgili Genlerin İfadesi Üzerine Etkileri

Bitkiler tuza maruz kaldığı andan itibaren gen anlatımında bazı değişiklikler meydana gelmektedir. Son yıllarda, tuzlu ortamın teşvik ettiği genlerin çoğu izole edilebilmiştir (Sairam ve Tyagi, 2004). Tuz stresine karşı teşvik edilen genler, fonksiyonlarına göre aşağıdaki gibi gruplanmaktadır (Borsani ve diğ., 2003);

- Ozmolitleri sentezleyen genler,
- Hücre bütünlüğünü sağlayan genler,
- Antioksidatif enzimleri kodlayan genler,
- İyon dengesini düzenleyen genler,
- Transkripsiyon faktörlerini kodlayan genler olarak gruplandırılmıştır (Borsani ve diğ., 2003).

Bitkiler, abiyotik stres faktörleri ile mücadele edebilmek için, ilgili genleri aktive ederek stresle ilgili proteinleri üretmektedir. Şaperonlar olarak rol oynayan Sıcak Şoku Proteinleri (Hsps: Heat-Shock Proteins) ve Geç Embriyogenezis (LEA: Late Embryogenesis Abundance) Proteinleri sıcaklık, tuzluluk ve su eksikliği tarafından teşvik edilmektedir (Sairam ve Tyagi, 2004). Koruyucu etkiye sahip LEA proteinleri, ABA ile teşvik edilen proteinlerin bir grubudur. Bu proteinler sistein ile triptofandan yoksun proteinlerdir. Sitoplazmada mevcut olan bu proteinler, stres koşulu boyunca hücrel yapıları korumada rol oynamaktadır. Stres koşullarında lea genleri tarafından anlatılan hidrofilik ve çözünebilir LEA proteinleri suyu bağlayarak, tuz stresi süresince ortaya çıkan su eksikliğinin etkilerinden, hücrel membran ve protein/enzim gibi yapı ve bileşenleri korumada etkin role sahiptir (Yıldız ve diğ., 2010).

2.2.3.6. Bitki Hormonlarının İndüksiyonu

Tuzluluk, kuraklık ve soğuk stresi, absisik asit (ABA) biyosentezinin artışına ve birikimine neden olmaktadır (Borsani ve diğ., 2003). Tuz stresi altında artan ABA, bazı genlerin anlatımını teşvik etmektedir. Pirinç bitkisinde ABA'nın teşvik ettiği genlerin tuz toleransı mekanizmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. ABA; büyümede, fotosentez ürünlerinin taşınmasında NaCl'nin engelleyici etkisini azaltmaktadır. Stres şartları altında ABA, stoma bekçi hücrelerinde iyon akış hızını azaltarak stomada kapanmayı başlatmaktadır (Parida ve Das, 2005). Tuz ve diğer çevresel stres

koşullarında, ABA konsantrasyonu yapraklarda 50 kat artabilmektedir. Yapraklardaki ABA birikimi stomaları kapatmakta, su kaybını azaltmaktadır (Bressan, 2008). İyon dengesinin kontrolünde ABA'nın gerekli olduğu ile ilgili kanıtlar da vardır. Bitki köklerinden K^+ 'un alınması ve birikimi ABA tarafından kontrol edilmektedir. ABA, iyon dengesinde önemli olan Ca^{2+} 'un sitoplazmadaki birikimini teşvik etmektedir (Borsani ve diğ., 2003).

2.3. BRASSİNOSTEROİDLER (BR)

2.3.1. Keşfi, Tanımı ve Kimyasal Yapısı

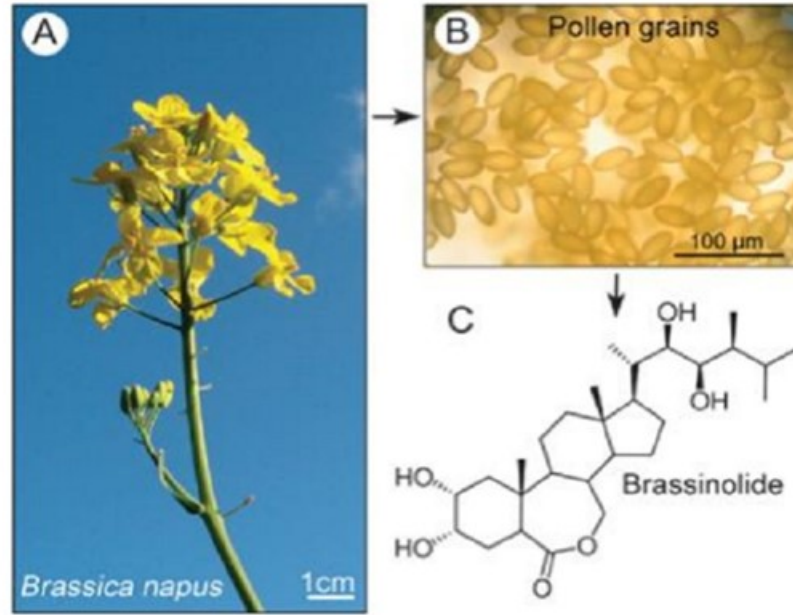
Bitki büyümesini ve gelişimini düzenleyen fitohormonlar oksinler, gibberellinler, sitokininler, absisik asit ve etilen olmak üzere 5 grupta toplanmasına karşılık, son yıllarda brassinosteroidlerin de hormonların altıncı grubu olarak göz önüne alınmasını gerektiren kanıtlar ortaya konmuştur (Rao ve diğ., 2002).

Mitchell ve diğ. (1970), *Brassica napus* (kolza) polenlerinden elde edilen yağlı bir ekstraktın fasulye internodlarında aşırı bir uzamaya neden olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmacılar daha sonra, yaklaşık 60 farklı türün polen ekstraktlarını çeşitli yöntemler kullanarak test etmiş, büyümeyi teşvik edici aktivitelere sahip olduklarını belirlemiştir. Büyümeyi teşvik eden en aktif bileşiği *Brassica* cinsinden ekstre ettikleri için "brassinler" olarak isimlendirmişlerdir. Brassinlerin gerçek kimyasal yapısını belirlemek için Grove ve diğ., (1979) tarafından yürütülen çalışmalar sonucunda 40 kg polenden 4 mg kristal elde edilmiştir. Elde edilen bu aktif bileşik brassinolid (BL) olarak tanımlanmıştır.

Brassinosteroidin 1979 yılındaki keşfinden itibaren 53 angiosperm (kapalı tohumlular) (12 monokotiledon ve 41 dikotiledon), 6 gimnosperm (açık tohumlular), 1 eğreltiotu (*Equisetum arvense*) ve 1 yosun (*Marchantia polymorpha*) olmak üzere 61 türden, kimyasal olarak 69 farklı BR izole edilmiştir (Kutschera ve Wang, 2012). Bunların dışında, tek hücreli yeşil alglerden 2 tür (*Chlorella vulgaris* ve *Hydrodictyon reticulatum*) ve kahverengi alglerden *Cystoseira myrica*'da da brassinosteroid tanımlanmıştır (Hayat ve Ahmad, 2011).

BR ler bitkinin hemen hemen tüm kısımlarında sentezlenebilmektedir. BR ler; çeşitli bitki kısımlarında (polen, tohumlar, yapraklar, gövdeler, kökler ve çiçekler gibi) çok düşük konsantrasyonlarda (nano-gram düzeyler) bulunmaktadır (Fujioka, 1999). BR lerin endogen seviyeleri bitki organ tipine, dokunun yaşına ve türüne göre değişmektedir. Reprodüktif organlar ve büyümekte olan dokular (polen, olgunlaşmamış tohum, gövdeler), olgunlaşmış olan dokulara nispeten daha fazla miktarda BR içermektedir (Yokota ve Takahashi, 1986; Fujioka ve diğ., 1998; Sasse ve diğ., 1998; Schmidt ve diğ., 1998; Shim ve diğ., 1998; Clouse, 2002b). Bitki kısımlarından gövde ve yapraklar genellikle g. taze ağırlık başına 0,01-0,1 ng; polen ve olgunlaşmamış tohumlar ise g. taze ağırlık başına 1-100 ng BR içermektedir (Srivastava, 2002).

BR, 5 α -kolestan iskeletine sahiptir ve çeşitli bitki türlerinden izole edilmiş steroidal bir polihidroksi lakton grubudur. Bu bileşik BL (brassinolid) olarak adlandırılmıştır (Taiz ve Zeiger, 2006) (Şekil 2.4).



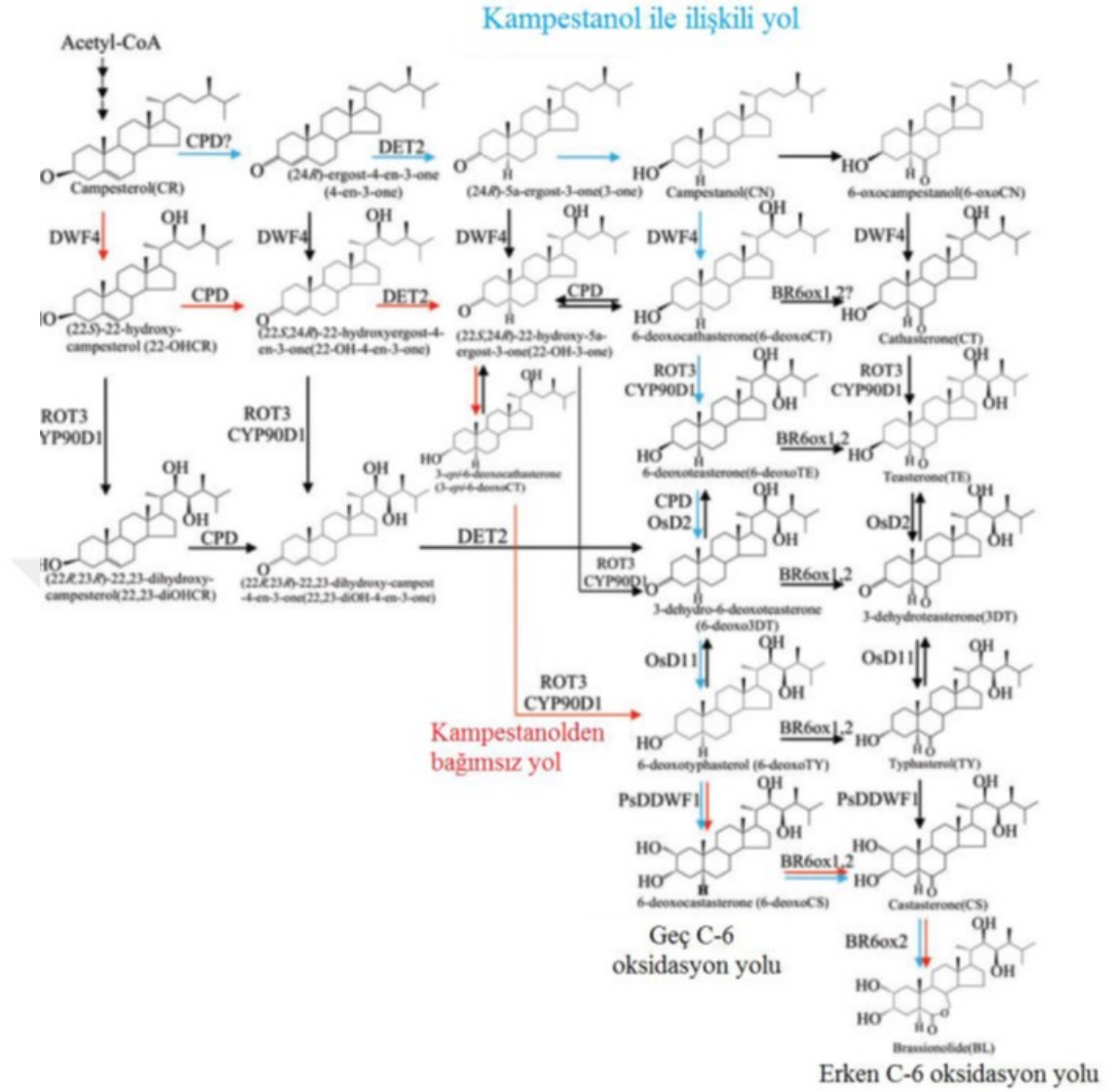
Şekil 2.4: *Brassica napus* bitkisi ve brassinolid (BL) hormonunun kimyasal yapısı (Kutschera ve Wang, 2012).

Brassinosteroidler kolestandan türevlenmektedir. Bu nedenle bitkiler, androjenler, östrojenler, vertebraların kortikosteroidleri ve böcekler ile krustaselerin ekdisteroidleri gibi kolesterolden türevlenen hayvan steroid hormonları ile yapısal benzerlik göstermektedir (Clouse, 2002a; Ashraf ve diğ., 2010; Hayat ve Ahmad, 2011). Kimyasal yapısı incelendiğinde birbirine bitişik olan A, B, C ve D halkaları ile 17.

Karbona bağı bir alkil yan zincirinden oluşmaktadır (Müssig ve Altmann, 1999). Nukleus ve yan zincir, fazla karmaşık olan BR lerin nomenklatürü ile steryokimyasını oluşturan farklı izomerik konfigürasyonlarda çeşitli gruplar taşımaktadır (Mandava, 1988). Yan zincirdeki alkil gruplarının şekline göre bu bileşikler C27, C28 ya da C29 BR ler olarak sınıflandırılmaktadır (Yokota, 1997). Yüksek bitkilerde, C28 grubu BR lerin en yaygın iki tipi olarak BL ve onun keton prokürsörü olan kastasteron (CS) bulunmaktadır (Srivastava, 2002).

2.3.2. Biyosentezi ve Taşınması

Doğal formda bulunan BR ler arasında en yüksek aktiviteye (5 kat daha fazla) sahip olan brassinolid'dir. Brassinolidin biyosentez yolunu aydınlatmak için çeşitli çalışmalar yapılmış (Suzuki ve diğ., 1995; Srivastava, 2002), biyosentez prokürsörünün kampesterol (CR) olduğu ortaya konmuştur. İlk basamakta, CR ün 5,6 çift bağının redüksiyonuyla kampestanol (CN) oluşmaktadır. Sonraki basamakta CN den, BL nin bir adım önceki öncülü olan kastasterona (CS) giden 2 paralel biyosentez yolu vardır. Bu iki biyosentez yolu, erken ve geç C6 oksidasyon yolu olarak adlandırılmaktadır (Choi ve diğ., 1997; Bishop ve Yokota, 2001; Srivastava, 2002). Bu iki yan yolun farklılığı, yan zincirdeki hidroksilasyondan önce ya da sonra C6 oksidasyonunun meydana gelip gelmemesinden kaynaklanmaktadır (Noguchi ve diğ., 2000). Erken C-6 oksidasyon yolunda CN, 6-oksokampestanole okside olmakta ve sonrasında bu yol yan zincirdeki 22. ve 23. karbonların hidroksilasyonu ile devam etmektedir. Bu reaksiyonu takiben, CS yi oluşturmak üzere 3. karbondaki hidroksilin epimerizasyonu ve 2. karbona bir hidroksil eklenmektedir. Farklı yol olan geç C-6 oksidasyon yolunda ise CN, CS yi oluşturmak üzere benzer hidroksilasyon ve epimerizasyon reaksiyonlarından geçerek, 6-deoksokastasteronu oluşturmaktadır. Basamağın en sonunda CS, Baeyer-Villiger tipi oksidasyon aracılığıyla BL ye dönüşmektedir (Yokota, 1997; Sakurai ve diğ., 1999; Srivastava, 2002).

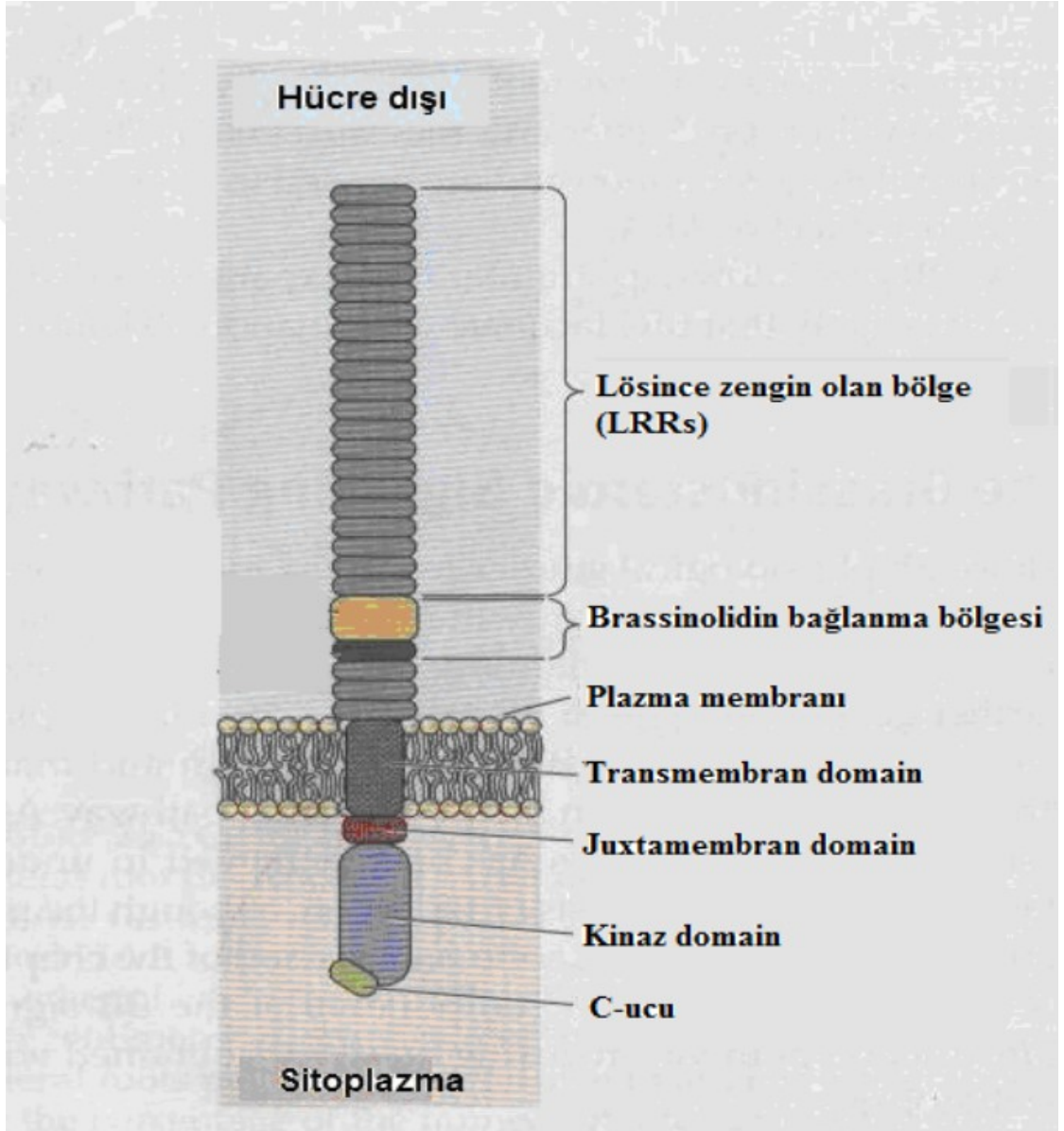


Şekil 2.5: BL biyosentez yolu (Zhao ve Li, 2012).

BL sentezi sırasında izlenen yollar, bitki türleri ve dokular arasında farklılık göstermektedir (Srivastava, 2002). Erken ve geç C6-oksidasyon yolları, bezelye ve Arabidopsis i de kapsayan çok sayıda türde yaygındır (Nomura ve diğ., 1999; Nomura ve diğ., 2001). Domates bitkisinde geç C6-oksidasyon yolu ortaya konmuştur (Bishop ve diğ., 1999; Noguchi ve diğ., 2000). BR lerin tamamı biyolojik olarak aktif değildir. Biyolojik olarak aktif olan ve fizyolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan BR ler; BL, 24-epiBL (24-epibrassinolid) ve 24-HBL (24-homobrassinolid) dir (Rao ve diğ., 2002).

2.3.3. BR Sinyal İletim Modeli

Hücre yüzeyinde brassinosteroid sinyalinin tanınması ve nukleustaki transkripsiyonel aktivasyonuna kadar gerçekleşen aşamalar belirlenmiştir (Gudesblat ve Russinova, 2011). Brassinosteroid, BRI1 (BR insensitive) tarafından algılanmaktadır. BRI1, hücre çeperinin dışına uzanan, LRR (lösince zengin tekrar - leucine rich repeat) yapısı içeren bir reseptör kinazdır.



Şekil 2.6: BR reseptörü BRI1'in domain yapısı. (Savaldi-Goldstein ve Chory; 2006).

2.3.4. BR lerin Taşınması

BR ler, hareket yerlerine yakın yerlerde sentezlenmektedir (Bishop ve Yokota, 2001). BR lerin uzun mesafede taşınmasının, endogen etkiler açısından önemli olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Ancak, kısa mesafede taşınmasının etkileri, polen ve tohumlar açısından önem taşımaktadır (Sasse, 1997). Radyoaktif işaretli BR lerin bitkilere eksogen olarak uygulanması sonucunda pirinç, salatalık ve buğdayda kökten gövdeye doğru (akropetal) taşınmasının ksilem aracılığı ile hızlı bir şekilde gerçekleştiği saptanmıştır (Schlaghaufer ve Arteca, 1991; Yokota ve diğ., 1992; Nishikawa ve diğ., 1994). 14C ile işaretlenmiş 24-epibrassinolidin metabolizması ve taşınması salatalık ve buğday fidelerinde çalışılmıştır. 24-eBL köklere uygulandığında kolayca alınmakta ve yapraklara taşınmaktadır. Yapraklara uygulandığında taşınması köklerden taşınmasına göre daha yavaştır (Fujioka ve Sakurai, 1997).

2.3.5. BR lerin Fizyolojik Etkileri

Farklı abiyotik streslere karşı bitkilere direnç sağlayan brassinosteroidler, büyümeyi teşvik etmenin yanısıra tohum çimlenmesi, rizogenez, çiçeklenme, senesens, absisyon, olgunlaşma gibi farklı gelişim süreçlerine de etki etmektedir (Müssig ve Altmann, 1999; Raove ve diğ., 2002; Michelini ve diğ., 2004). Dikotillerde hipokotil, epikotil ve pedunkul uzamasını teşvik etmektedir (Mandava, 1988). BR lerin büyümede en etkili olduğu doku genç vegetatif dokulardır (Sasse, 1991). Yapılan çalışmalarda BR lerin bezelye epikotillerinde (Clouse ve diğ., 1992), ayçiçeği ve salatalık hipokotillerinde (Katsumi, 1985), *Arabidopsis* pedunkülleri (Clouse ve diğ., 1993) ve buğday koleoptillerinde (Sasse, 1985) uzamayı teşvik ettiği bulunmuştur.

Triticum aestivum (Hayat ve Ahmad, 2003), pirinç (Dong ve diğ., 1989) ve tütünde (Leubner-Metzger, 2001) BR lerin tohum çimlenmesini teşvik ettiği görülmüştür. Çilek yapraklarına BR uygulanmış ve çiçeklerin sayısında artış olduğu saptanmıştır (Pipattanawong ve diğ., 1996).

Ayrıca, BR ler kök büyümesini de artırmaktadır. *Pinus radiata*'nın transplante olmuş fidelerine 24-eBL uygulanmış ve kök kütlelerinde artış gözlenmiştir (Sasse ve Sasse, 1994). Arteca ve Arteca (2001), *Arabidopsis thaliana*'da brassinolid uygulaması ile elde edilen büyüme artışı, diğer fitohormonlardan bağımsız gerçekleşmektedir. Ayrıca şeker

kamışına homobrassinolid uygulanmış ve kök kitlesinde bir artış tespit edilmiştir (Schilling ve diğ., 1991).

BR ler, hem hücre bölünmesi hem de hücre uzamasını etkileyerek büyümeyi teşvik etmektedir (Müssig, 2005). Örneğin, *Helianthus tuberosus*'un kültüre alınan parenkimatik hücrelerinde 24-eBL uygulaması hücre bölünmesinde artışa neden olmuştur (Clouse ve Zurek, 1991). Soya fasulyesi hipokotillerinde yapılan çalışmada ise BR lerin hücre uzamasını teşvik etme yeteneği ortaya konmuştur (Zurek ve diğ., 1994).

BR ler çeşitli abiyotik streslere karşı bitkilerin direncini arttırmaktadır. BR uygulaması, pirinçte (Wang ve Zeng, 1993) düşük sıcaklık stresine; buğday yapraklarında (Kulaeva ve diğ., 1991) yüksek sıcaklık stresine; şeker pancarında (Schilling ve diğ., 1991) kuraklık stresine karşı toleransı artırmıştır. Ayrıca, BR ler yerfıstığı fidelerinin büyümesinde (Vardhini ve Rao, 1999) ve *E. camaldulensis*'in tohum çimlenmesinde tuzluluğun inhibitör etkilerini (Sasse ve diğ., 1995) ortadan kaldırmıştır.

Ayrıca BR ile ilgili yapılan çalışmalarda, domateste meyve oluşumunu arttırdığı (Kamuro ve Takatsuto, 1999), ksilem farklılaşmasını (Clouse ve Sasse, 1998; Müssig ve Altmann, 1999; Altmann, 1999) ve köklenmeyi teşvik ettiği, yaprak absisyonunu geciktirdiği (Iwahari ve diğ., 1990; Ronsch ve diğ., 1993) saptanmıştır. Diğer yandan brassinosteroidlerin polen tüpü büyümesi, epinasti, kök inhibisyonu, etilen biyosentezinin induksiyonu, proton-pompa aktivasyonu ve gen anlatımının düzenlenmesi gibi hücresel yanıtlara neden olabildikleri de rapor edilmiştir (Mandava, 1988; Clouse ve Sasse, 1998). BR in tek başına ya da diğer bitki büyüme düzenleyicileri ile birlikte kullanımı, strese karşı bitkinin daha dayanıklı olmasında oldukça sık kullanılan bir yöntemdir (Divi ve Krishna, 2009; Peleg ve Blumwald, 2011; Hayat ve diğ., 2012).

2.3.6. BR lerin Diğer Bitki Hormonları ile Olan İlişkileri

BR ve diğer bitki büyüme düzenleyicileri arasındaki ilişki, farklı metabolik süreçlerde beraber rol oynayarak bitkide büyüme ve gelişmenin devamlılığını sağlamak şeklinde açıklanabilir (Choudhary ve diğ., 2012).

2.3.6.1. BR ile Absisik Asit (ABA) İlişkisi

Absisik asit ile BR birlikte; tohum çimlenmesi, stomanın kapanması ve çevresel streslere yanıt gibi farklı biyolojik süreçlerde rol alan birçok gen anlatımını düzenlemektedir (Haubrick ve diğ., 2006; Kagale ve diğ., 2007; Acharya ve Assmann, 2009). BR mutantlarında, tohumun çimlenmesinde absisik asidin engelleyici etkisi daha fazla artmıştır (Steber ve McCourt, 2001). Hem BR, hem de absisik asidin stomanın kapanmasını sağladığı ve bu etkiyi NO (nitrik oksit) aracılı gerçekleştirdikleri düşünülmektedir. Kuraklık gibi abiyotik bir streste, absisik asit ve BR nin birlikte uygulanması halinde bitkinin bu strese karşı daha dayanıklı hale geldiği bilinmektedir (Xu, 2007). BR uygulaması ile su stres toleransının arttığı rapor edilmiştir. Burada, BR uygulamasının NO üretimini arttırdığı ve NO aracılığıyla absisik asit biyosentezinin de arttığı belirlenmiştir. Artan absisik asit, su stresi toleransında BR nin etkisini teşvik etmektedir (Zhang ve diğ., 2011).

2.3.6.2. BR ile Etilen İlişkisi

Etilen biyosentezi, hem dışarıdan hem de içeriden kaynaklanan farklı metabolik yollar ile düzenlenmektedir (Wang ve diğ., 2002). ACC (l-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase), bu hormonun biyosentezini sınırlandıran bir moleküldür. BR, ACC aktivitesini düzenleyerek etilen biyosentezini teşvik etmektedir (Hansen ve diğ., 2009). Etilen aracılı büyümede ve strese karşı savunmada BR nin de rol oynadığı gösterilmiştir (Deslauriers ve Larsen, 2010; Cheung ve Wu, 2011).

2.3.6.3. BR ile Gibberellin İlişkisi

BR ile gibberellin arasındaki ilişkinin; bitki gelişimi ve çevresel streslere cevapta oynadığı rolden ibaret olduğu bilinmektedir (Wang ve diğ., 2009a; De Vleeschauwer ve diğ., 2012). Pirincin, gibberellin aracılı savunma mekanizmasında, BR in gibberellin sinyalizasyonunu engellediği de belirlenmiştir (De Vleeschauwer ve diğ., 2012). BR in gibberellin biyosentezini ve sinyalizasyonunu pozitif olarak etkilediği de rapor edilmiştir (Hu ve diğ., 2011).

2.3.6.4. BR ile Oksin İlişkisi

BR uygulamasının, oksin taşınımını artırdığı belirtilmiştir (Li ve diğ., 2005). BR biyosentezinin başlaması için gerekli olan özel sinyallerin birçoğu hala bilinmemekle birlikte, oksinin, *Arabidopsis* bitkisinde BR nin biyosentezi için bir sinyal görevi

gördüğü belirlenmiştir (Chung ve diğ., 2011). Oksin ayıca BR sinyalleşmesini, doğrudan kontrol ettiği de bildirilmiştir (Vert ve diğ., 2008). Stres koşullarında, BR ve oksin etkileşiminin bitkinin dayanıklılığında rol oynadığını belirten çalışmalar da rapor edilmiştir (Choudhary ve diğ., 2010; 2011).

2.3.6.5. BR ile Sitokin İlişkisi

Bitki büyüme ve gelişimi ile birlikte strese karşı toleransta, BR ile sitokin hormonlarının da olumlu etkisi belirlenmiştir (Peleg ve diğ., 2011; Vercruyssen ve diğ., 2011). Bu olumlu etkinin görülebilmesi için sitokin seviyesinin de, BR de olduğu gibi optimum düzeyde olması gerektiği ve yüksek sitokin seviyesinin olumsuz sonuçlara neden olduğu da bildirilmiştir (Ha ve diğ., 2012).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Bitkisel Materyal

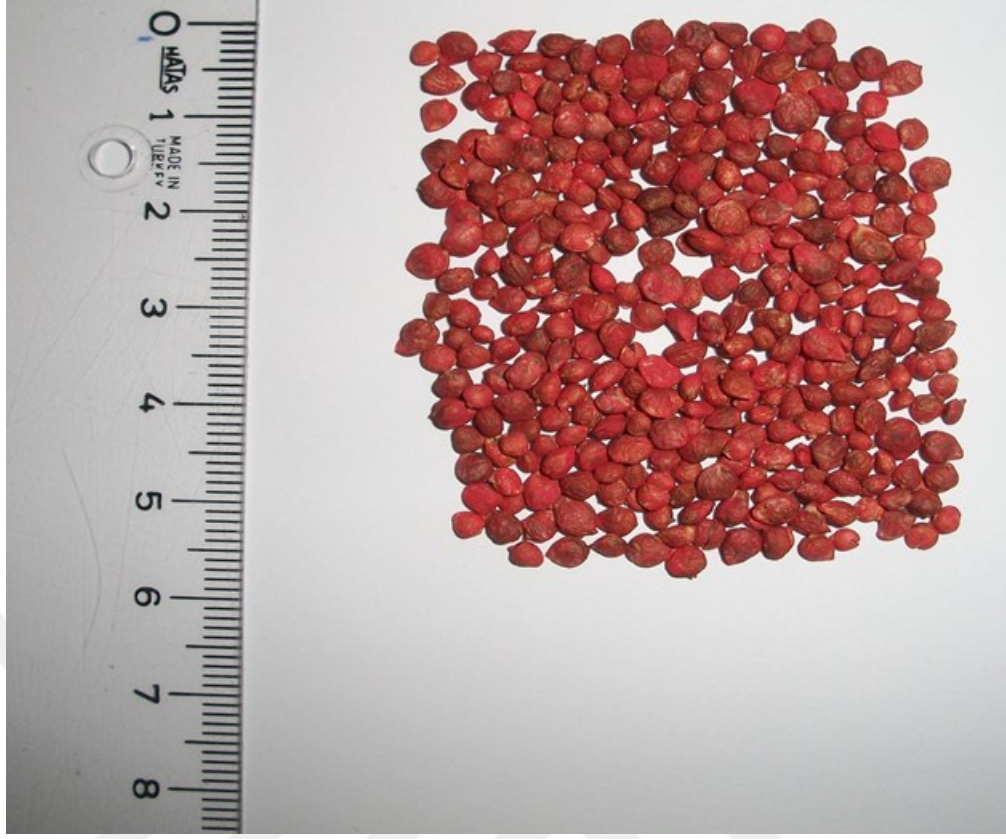
Bu araştırmada materyal olarak Türkiye’de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan Matador (*Spinacia oleracea* var. *matador*) eřidi kullanılmıştır (Şekil 3.1). Ispanak bitkisinin sistematik tanımlaması aşağıda verilmiştir.

Familya: Amaranthaceae

Cins: *Spinacia*

Tür: *Spinacia oleracea* L.

Matador eřidinin yaprakları iri koyu yeşil renkte, oval, kabarcıklı ve kısa saplıdır (Ekinci, 1972). Tohumları büyük, hafif yassı ve üzeri pürüzlüdür (Ekinci, 1972; Türkeş ve İnan, 1992; Deveci ve Şalk, 1995).



Şekil 3.1: Araştırmada kullanılan ıspanak tohumlarının genel görünümü.

3.1.2. Fidelerin Yetiştirilmesi

Tohumlar; akan çeşme suyu altında bir süre tutulduktan sonra nemli perlit içeren plastik kaplara, 1-2 cm derinlikte olacak şekilde ekilmiştir ve 15 saat fotoperiyottaki, 15 ± 2 °C de, 6000 lüks ışık şiddeti altındaki bitki yetiştirme odasına transfer edilmiştir.

Ortalama çimlenme süresi 6-10 gün arasında değişen tohumlar, ilk 7 gün boyunca güneşirı 400-500 ml distile su ile sulanmıştır. Gelişen fideler 8. günden itibaren 15. güne kadar (15. gün dâhil) Hoagland Besin Çözeltisi ile güneşirı olacak şekilde sulanmıştır.

16. gün benzer morfolojik görünüme sahip olan sağlıklı fideler seçilerek su kültürüne alınmıştır. Fideler; Hoagland, Hoagland+ 10^{-9} M eBL, Hoagland+150 mM NaCl ve Hoagland+150 mM NaCl+ 10^{-9} M eBL (150 mM NaCl içeren Hoagland Besin Çözeltisi içeren) olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Her grupta 20 şer adet fide vardır.

Fideler yaklaşık 55 ml hacimli cam deney tüplerine yerleştirilmiş ve kök kısımlarının tamamen çözeltinin içinde kalmasına dikkat edilmiştir. Tüpler dik bir şekilde perlite gömülmüştür. Tüplerin sabit durmasını sağlamak için de perlitin kuru kalmamasına dikkat edilmiştir. Ayrıca köklerin ışık almasını engellemek amacıyla tüpler alüminyum folyo ile kaplanmıştır.

3.1.3. Tuz (NaCl) ve 24-epibrassinolid (24-eBL) Uygulamaları

Bu araştırmada test materyali olarak Sigma-Aldrich firmasından temin edilen ve yeni bitki hormonu olarak kabul edilen BR lerden aktif bileşik olan eBL (Sigma- E1641) absolute etanolde çözündürüldükten sonra kullanılmıştır. Epibrassinolid (CAS: 78821-43-9), $\geq 85\%$ saflıkta 2 mg'lık analitik standartlarda temin edilmiştir.

Uygulanan tuz ve 24-eBL konsantrasyonları ön denemelerden sonra morfolojik etkiye sahip olduğu görülen 150 mM NaCl ve 10^{-9} M eBL konsantrasyonları seçilmiştir.

Tuz konsantrasyonunu sabit tutabilmek amacıyla besin çözeltisi gūnaşırı distile su ile tamamlanmış, haftada bir kez de tüpteki çözelti dökülüp iyice yıkandıktan sonra yeni besin çözeltisi ile doldurulmuştur.

16. günden itibaren 45. güne kadar (30 gün boyunca) bir grup sadece Hoagland solüsyonuna, diğer grup ise Hoagland+NaCl (tuz) solüsyonuna alınmış, her iki grup fidelerin yarısının yapraklarına pūskürtme şeklinde gūnaşırı olacak şekilde eBL uygulaması yapılmıştır. Pūskürtme yapılırken solüsyonun bitki kısımlarının tamamına gelecek şekilde olmasına özen gösterilmiştir. Hasat tarihi, bitkilerin gelişim süreci izlendikten sonra tuz uygulamasının etki gösterdiği 45. gün olarak saptanmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Uygulama Öncesi ve Sonrası Taze Ağırlığın Ölçülmesi, Aradaki Farkın Saptanması

İlk 15 gün perlite yetişen bitkilerin 15. gün su kültürüne alınmadan önce (kök kısmı hariç) taze ağırlığı alınmıştır. Su kültürüne alınan bitkilere 30 gün boyunca hormon uygulaması yapılanlar ile yapılmayanlar arasında oluşabilecek farkı belirlemek amacıyla 45. günün sonunda taze ağırlıklar tekrar ölçülmüş ve aradaki farklar hesaplanmıştır. Tuz

stresine doğrudan maruz kalan kökler, gövde oranına göre artış göstermektedir. Yaprak büyümesi tuz stresine karşı kök büyümesinden daha duyarlıdır (Munns ve Tester, 2008). Bu nedenle fidelerin sadece gövde kısmı çeşitli analizler yapılmak üzere hasat edilmiş, analiz edilmiş ve sonuçlar ortaya konmuştur.

3.2.2. Total Klorofil Miktarı Tayini

45 günlük fideler hasat edilerek çiçek kısımları ve tüm kök kısımları kesildikten sonra, gövdenin (tüm gövde kısımları dâhil) taze ağırlığı alınmıştır. Tartım sonrası fideler bir miktar CaCO_3 tozu ve %90 aseton ile ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler +4 °C de 24 saat karanlıkta bekletildikten sonra 3000 g de, +4 °C de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantların absorpsiyon değerleri, spektrofotometrede 630 nm, 645 nm ve 665 nm dalga boylarında ölçülerek, total klorofil içerikleri $\mu\text{g/g}$ T.A cinsinden tayin edilmiştir (Parsons ve Strickland, 1963).

3.2.3. Çözünabilir Total Protein Miktarının Tayini

Materyalin çiçek ve kök kısımları kesildikten sonra, gövde kısmının taze ağırlığı alındıktan sıvı azot ile muamele edilip ekstre edileceği güne kadar, -80 °C de muhafaza edilmiştir. Analizin yapılacağı gün örnekler 2 şerli gruplar halinde soğuk havanda sıvı azot yardımıyla %2'lik (w/v) polivinilpolipirolidon (PVPP) ve 1 mM EDTA içeren 0,05 M sodyum fosfat tamponuyla (pH 7,8) homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, +4 °C de 14000 devirde, 30 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatanttaki protein miktarının belirlenmesi, Bradford yöntemi (1976) kullanılarak yapılmıştır. Ölçüm Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının asidik şartlarda proteine bağlandığında kırmızı ve/veya yeşil formundan maviye dönüşmesine dayanmaktadır. Bu mavi renk oluşumu, hazırlanan örnekler karanlıkta 20 dakika bekletildikten sonra 595 nm'de ölçülmüştür. Standart olarak Bovine Serum Albumin (BSA) kullanılmıştır. Standart aralığı 0,02-0,2 mg/ml'dir. Elde edilen bitki ekstraktlarının protein miktarları elde edilen bu standart ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Protein miktarları $\mu\text{g/g}$ T.A protein türünden ifade edilmiştir.

3.2.4. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Tayini

Peroksidaz aktivitesini tayin etmek için Birecka ve diğ. (1973) nin uyguladığı yöntem kullanılmıştır. Kök kısımları hariç tüm bitkinin taze ağırlığı alındıktan sonra, total protein miktarının tayininde bahsedildiği gibi fosfat tamponunda (pH 7,8) 2 şerli gruplar halinde ekstre edilip santrifüj edilmiştir. Ölçüm, BioTek Epoch2 mikropate spektrofotometrede yapılmıştır. Santrifüj sonucu elde edilen Süpernatanttan (üst sıvı) 10 µl alınıp mikropatelere konulduktan sonra, üzerine 100 ml'sinde, 6 damla guaikol ve 3 damla H₂O₂ bulunan 0,1 M Na-P tamponundan (pH 5,8) 190 µl eklenerek, 2 dakika içerisinde 10 saniye aralıklarla 470 nm dalga boyunda absorpsiyonu ölçülmüştür. (Blank kuyucuğuna 200 µl Na-P tamponu konulmuştur). Enzim aktivitesi ΔA/g. T.A.x dk olarak ifade edilmiştir.

3.2.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

Süperoksit dismutaz aktivitesi Beauchamp ve Fridowich (1971)'e göre belirlenmiştir. SOD'un fotokimyasal olarak nitro blue tetrazolium (NBT)'un indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin ölçülmesiyle aktivite tayin edilmiştir. Reaksiyon karışımı 50 mM fosfat tamponu (pH 7,8), 33 µM NBT, 10 Mm L-metiyonin, 0,66 Mm EDTA-Na₂, 0,0033 Mm riboflavin içermektedir. Süpernatant seyreltikten sonra karışım 20 dakika 300 µmol m⁻²s⁻¹ ışık şiddeti altında bekletildikten sonra reaksiyon karışımının 560 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin %50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) tanımlanmış ve gövde kısmı örneklerindeki SOD aktiviteleri buna göre belirlenmiştir.

3.2.6. Membran Permeabilitesindeki Değişikliklerin Ölçülmesi

45 günü dolduran bitkiler hasat edilip kök kısımları kesildikten sonra, önce musluk suyu ile ardından saf su ile yıkanıp dikkatli bir şekilde kurulanmıştır. Ardından bitki örnekleri 2 şerli gruplar halinde saf su içerisine konulmuştur. Saf suyun miktarı 0,1 gr örnek için, 10 ml'dir. Örnekler önce 40 derecede 30 dakika bekletilip iletkenlik ölçüm cihazında EC (Electrical Conductivity)'si ölçülmüş (C1), daha sonra 100 °C lik su banyosunda 10 dakika bekletilip EC'si tekrar ölçülmüştür (C2). Çıkan değerler aşağıdaki eşitlikte yerine konularak sonuçlar mS/cm cinsinden ifade edilmiştir. (Premchandra ve diğ., 1990; Sairam, 1994). (MSI: Membran Stabilite İndeksi).

MSI: $[1-(C1/C2)] \times 100$

3.2.7. İstatistiksel Analizler

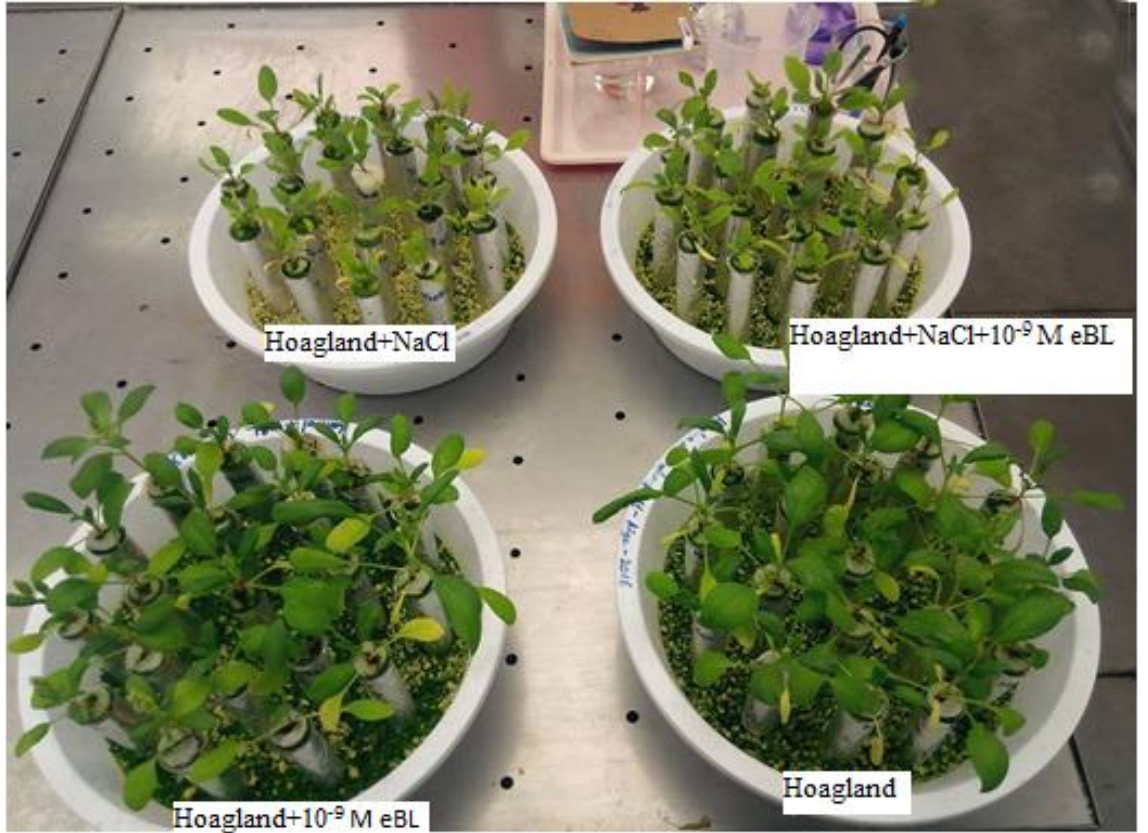
Analizlerin sonucunda elde edilen veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 10.0) paket programı içerisinde yer alan Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) ile analiz edilerek, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortalamalar arasındaki farklar $p < 0,05$ önemli olarak tespit edildi.



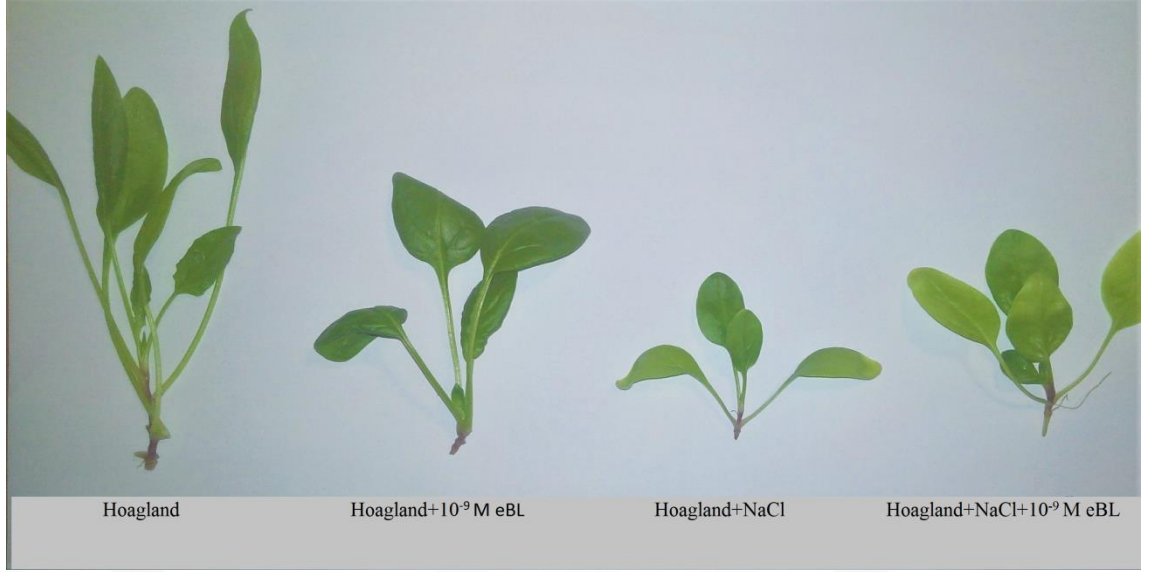
4. BULGULAR

4.1. TAZE AĞIRLIK MİKTARINDA OLUŞAN FARKLAR

15 günlük ıspanak fideleri, taze ağırlıkları alındıktan sonra 30 gün boyunca yarısı tuz içermeyen Hoagland solüsyonunda diğer yarısı da tuz içeren Hoagland çözeltisinde yetiştirilmiş; bu süreçte brassinosteroidlerin aktif formu olan 24-epibrassinolid (eBL) (10^{-9} M) çözeltisi püskürtme tekniği kullanılarak uygulanmış; 45. günde eBL nin fide gelişimi üzerine etkisini ortaya koymak amacıyla 2. taze ağırlıkları alınmış ve taze ağırlık değişimleri göz önüne alınarak büyüme farkı saptanmıştır. Elde edilen bulgular Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Tablo 4.1 de gösterilmiştir.



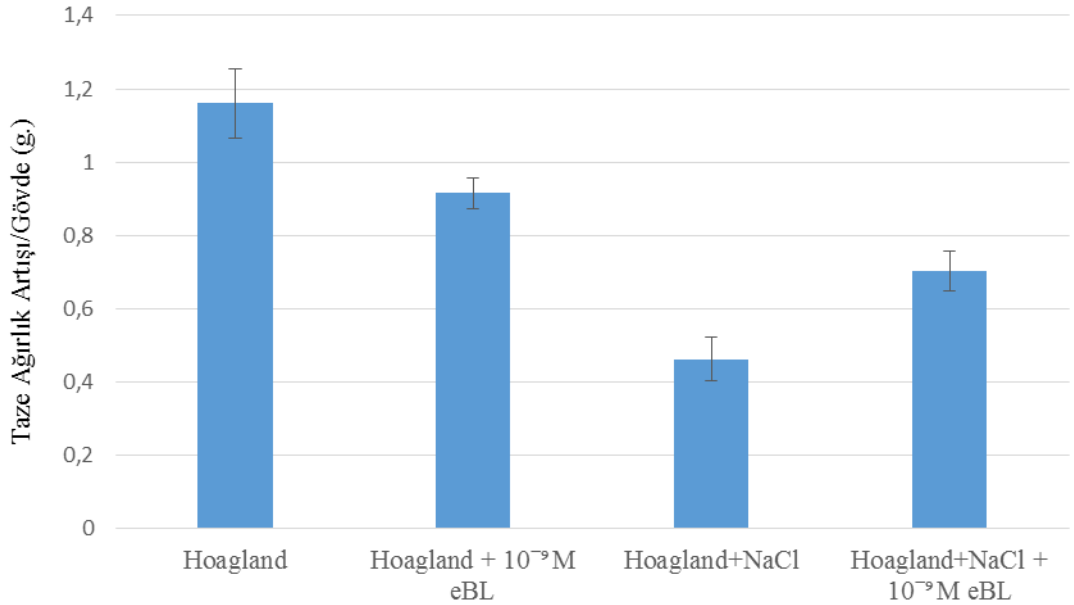
Şekil 4.1: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin gelişimi.



Şekil 4.2: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin gövde gelişimi.

Tablo 4.1: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin taze ağırlık artışı ($p < 0,05$).

Gruplar	Taze Ağırlık Artışı/Gövde (g.)
Hoagland	1,1605 ± 0,0946
Hoagland+ 10^{-9} M eBL	0,9155 ± 0,0422
Hoagland+NaCl	0,4624 ± 0,0608
Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL	0,7043 ± 0,0543



Şekil 4.3: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan ıspanak fidelerinin taze ağırlık değişimi ($p < 0,05$).

Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Tablo 4.1 den de anlaşıldığı üzere, tuz stresine maruz kalan fidelerin gelişimi oldukça yavaşlamış, tuz stresinde yetişen fidelerin taze ağırlıkları %60 oranında azalmıştır. Her iki gruba da 10^{-9} M eBL uygulandıktan sonra eBL uygulanan kontrol grubunun taze ağırlığı uygulama yapılmayan kontrol grubuna kıyasla yaklaşık %21 oranında düşüş göstermiştir. eBL uygulanan NaCl+Hoagland solüsyonunda yetişen fidelerin ise taze ağırlıkları eBL uygulanmayan gruba göre yaklaşık %35 oranında artmıştır.

Ayrıca, deney esnasında eBL uygulamasının ardından yaklaşık olarak 35. güne kadar morfolojik olarak Hoagland+ 10^{-9} M eBL grubu, Hoagland grubu fidelerine göre hızlı gelişme gösterirken, 45. güne kadar geçen sürecin sonunda, aksine büyüme ve gelişmenin yavaşladığı gözlemlenmiştir.

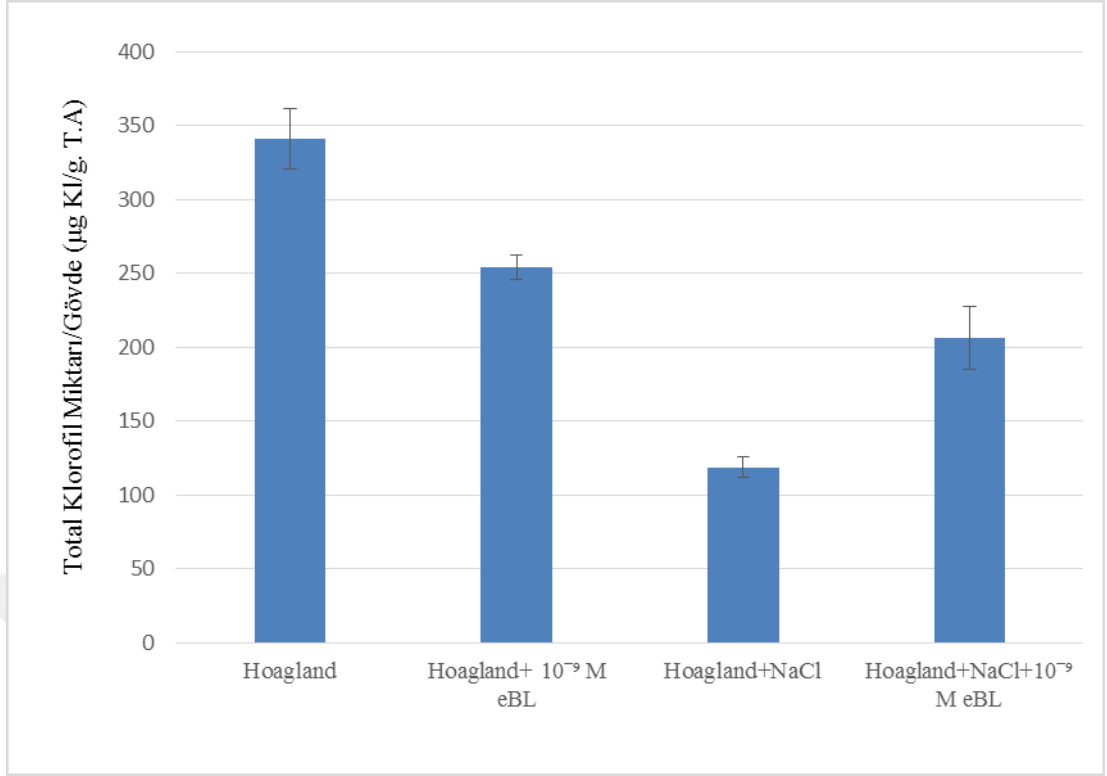
4.2. TOTAL KLOROFİL MİKTARINDAKİ DEĞİŞİMLER

Çalışmada kullanılan fidelerin gelişim aşamaları izlendikten sonra bu bitkilerin fotosentetik aktivitelerini saptamak amacıyla total klorofil içerikleri tayin edilmiştir.

Hoagland+NaCl solüsyonunda yetiştirilen ve toksik etki nedeniyle gelişimi etkilenen fideler, 45. gün hasat edilmiş, tüm grupların total klorofil içerikleri tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.2 ve Şekil 4.4 de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total klorofil miktarı ($p < 0,05$).

Deney Grupları	Total Klorofil Miktarı/Gövde ($\mu\text{g Kl/g. T.A}$)
Hoagland	341,1662 \pm 20,7909
Hoagland+ 10^{-9} M eBL	254,2324 \pm 8,5208
Hoagland+NaCl	118,6404 \pm 6,8194
Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL	206,3886 \pm 21,0180



Şekil 4.4: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10⁻⁹ M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total klorofil miktarı (p<0,05).

Şekil 4.4 de de görüldüğü gibi NaCl içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetişen fideler birbiriyle karşılaştırıldığında NaCl içeren Hoagland çözeltisinde yetişen fidelerin klorofil içeriği 3 katı düşüş göstermiştir. Bu durum 150 mM NaCl uygulamasının ıspanak fidelerinde strese neden olduğunu ortaya koymuştur. Hoagland solüsyonunda yetişen ve eBL uygulanan fidelerin klorofil miktarı, eBL uygulanmayan fidelerin klorofil miktarı ile kıyaslandığında yaklaşık %34 oranında bir azalma göstermiştir. Bu durum oksin varlığında eBL nin senesensi teşvik etmesine (Çingil-Bariş ve Sağlam-Çağ, 2016), buna bağlı olarak taze ağırlık ve total klorofil içeriğinin indirgenmesine bağlanmıştır. Hoagland+NaCl ve Hoagland+NaCl+10⁻⁹ M eBL grubu bitkilerin total klorofil miktarları incelendiğinde eBL uygulanan fidelerin klorofil miktarı %74 oranında artmıştır.

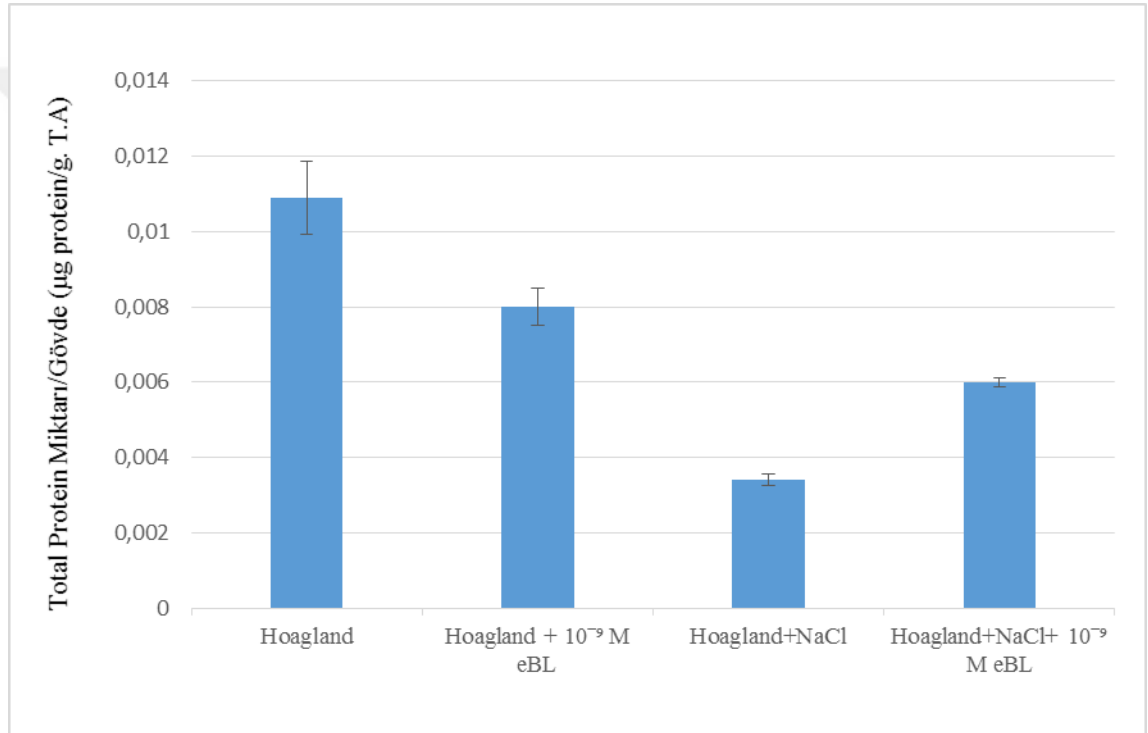
4.3. ÇÖZÜNEBİLİR TOTAL PROTEİN MİKTARINDAKİ DEĞİŞİMLER

Tuz stresine maruz kalan bitkilerde total çözünür proteinlerin bozulduğu bilindiğinden, 45 günlük ıspanak fidelerinin total çözünür protein miktarı Bradford (1976) yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde gruplar

arasında önemli ölçüde ($p<0,05$) fark olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulgular Tablo 4.3 ve Şekil 4.5 de gösterilmiştir.

Tablo. 4.3: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total protein miktarı ($p<0,05$).

Deney Grupları	Total Protein Miktarı/ Gövde ($\mu\text{g protein/g. T.A}$)
Hoagland	$0,0109\pm 0,00097$
Hoagland+ 10^{-9} M eBL	$0,0080\pm 0,00050$
Hoagland+NaCl	$0,0034\pm 0,00016$
Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL	$0,0060\pm 0,00011$



Şekil 4.5: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki total protein miktarındaki değişimler ($p<0,05$).

Şekil 4.5 dan da görüldüğü gibi NaCl içeren ve NaCl içermeyen Hoagland solüsyonunda yetişen fideler birbiriyle karşılaştırıldığında NaCl içeren Hoagland çözeltisinde yetişen fidelerin total protein içeriği en az 3 katı kadar azalma göstermiştir. Bu durum 150 mM NaCl uygulamasının ıspanak fidelerinde büyümeyi engellediğini ortaya koymuştur. Hoagland solüsyonunda yetişen ve eBL uygulanan fidelerin total protein miktarı, eBL uygulanmayan fidelerin protein miktarı ile kıyaslandığında yaklaşık %36 oranında bir düşüş göstermiştir. Bu durum 45 günlük fidelerde oksin varlığında eBL nin senesensi teşvik etmesine ve bu sürecin sonunda total protein içeriğinin indirgenmesine bağlanmıştır. Hoagland+NaCl ve Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M

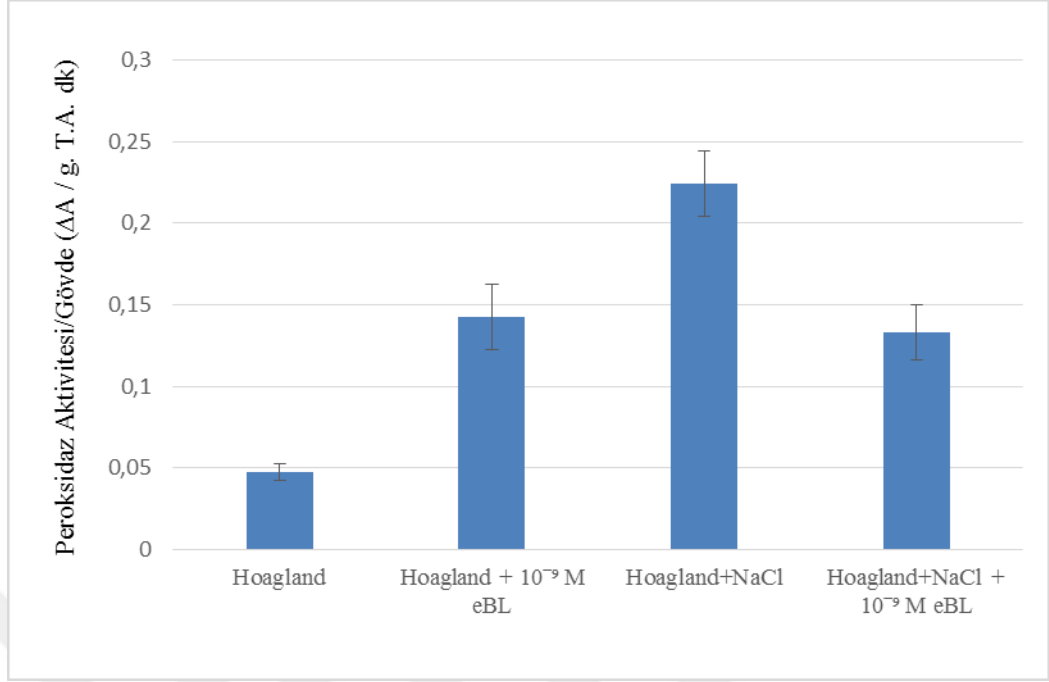
eBL grubu bitkilerin total protein miktarları tayin edilmiş ve eBL uygulanan fidelerin total protein miktarını %43 oranında arttığı görülmüştür. Bu durum, tuz stresi sırasında eBL uygulamasının yeni proteinlerin sentezlenmesine neden olduğunu ifade eden literatür bilgilerine uygun düşmüştür (Temel ve diğ., 2009; Janeczko ve Swaczynova, 2010; Khalid ve Aftab, 2016).

4.4. PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLER

Tuz stresine maruz kalan çeşitli bitkilerin peroksidaz (POD) aktivitelerinde önemli değişiklikler meydana geldiği tespit edilmiştir (Anuradha ve Rao, 2001; Farooq ve diğ., 2009; Nouman ve diğ., 2014; Khalid ve Aftab, 2016). Farklı Hoagland serilerinde yetişen ve eBL uygulanan serilerde oluşan klorofil ve protein içeriklerindeki farklar göz önüne alındığında, bu süreçte POD aktivitesinde meydana gelen değişimler incelenmek istenmiştir. Bu amaçla 45 günlük ıspanak fidelerinin peroksidaz aktiviteleri tespit edilmiştir. Fidelerin peroksidaz aktivitesindeki değişimler Tablo 4.4 ve Şekil 4.6 de gösterilmiştir.

Tablo. 4.4: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki POD aktivitesi ($p < 0,05$).

Deney Grupları	Peroksidaz (POD) Aktivitesi/Gövde ($\Delta A / g.$ T.A.dk)
Hoagland	0,0475 \pm 0,0050
Hoagland+ 10^{-9} M eBL	0,1423 \pm 0,0202
Hoagland+NaCl	0,2243 \pm 0,0203
Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL	0,1332 \pm 0,0170



Şekil 4.6: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10⁻⁹ M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki POD aktivitesinde meydana gelen değişimler (p<0,05).

Şekil 4.6 dan da görüldüğü gibi NaCl li ve NaCl sız Hoagland solüsyonunda yetişen fidelerin POD aktiviteleri birbiriyle karşılaştırıldığında NaCl içeren Hoagland çözeltilisinde yetişen fidelerin POD aktivitesi yaklaşık olarak 5 katı kadar artış göstermiştir. Bu durum 150 mM NaCl uygulanan ıspanak fidelerinde, strese dayalı enzim aktivitesinin hızlandığını ortaya koymuştur. Hoagland solüsyonunda yetişen ve eBL uygulanan fidelerin POD aktivitesi, eBL uygulanmayan fidelerin POD aktivitesinin hızına oranla 3 kat artış göstermiştir. Hoagland+NaCl ve Hoagland+NaCl+10⁻⁹ M eBL grubu bitkilerin de POD aktiviteleri tayin edilmiş ve eBL uygulanan fidelerin POD aktivitesinin 1,7 kat oranında yavaşladığı görülmüştür. Bu durum, tuz stresi sırasında eBL uygulamasının iyileştirici etkisini ortaya koyan literatür bilgileri ile uyumludur (Cheema ve diğ., 2010; Nouman ve diğ., 2014; Khalid ve Aftab, 2016).

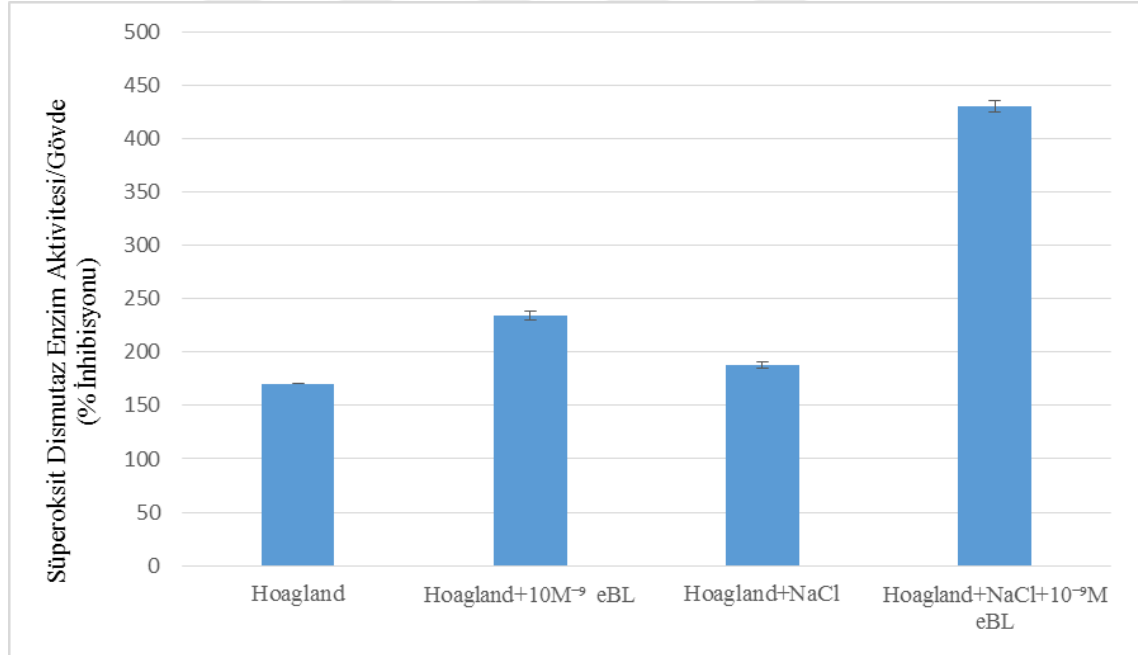
4.5. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD) AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLER

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksitin (O₂⁻) en önemli tüketicisidir ve bu enzimatik aktivite H₂O₂ oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Tuz stresine maruz kalan çeşitli bitkilerin, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinde önemli değişiklikler meydana gelmektedir (Khalid ve Aftab, 2016; Neto ve diğ., 2006; Attia ve diğ., 2009; Arora ve Bhatla, 2017).

Farklı Hoagland serilerinde yetişen ve eBL uygulanan serilerde oluşan klorofil ve protein içeriklerindeki ve POD aktivitesindeki farklar göz önüne alındığında, bu süreçte SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler incelenmek istenmiştir. Bu amaçla 45 günlük ıspanak fidelerinin süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri tespit edilmiştir. Fidelerin süperoksit dismutaz aktivitesindeki değişimler Tablo 4.5 ve Şekil 4.7de gösterilmiştir.

Tablo 4.5: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki SOD aktivitesi ($p < 0,05$).

Deney Grupları	Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi/Gövde (%)
Hoagland	170,4332±0,3468
Hoagland+ 10^{-9} M eBL	234,0594±4,5343
Hoagland+NaCl	188,0439±2,6872
Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL	430,3297±5,4647



Şekil 4.7: 30 gün boyunca tuz içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerindeki SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler ($p < 0,05$).

Elde edilen sonuçlar kıyaslandığında SOD aktivitesinin tuz stresine maruz kalan fidelerde, strese maruz kalmayan fidelere oranla sadece %10 oranında bir artışa neden olduğu görülmüştür. Hâlbuki NaCl içeren solüsyonda yetişen ve eBL uygulaması yapılan ıspanak fidelerinde bu oran eBL uygulanmayan fidelere göre %56 oranında artış

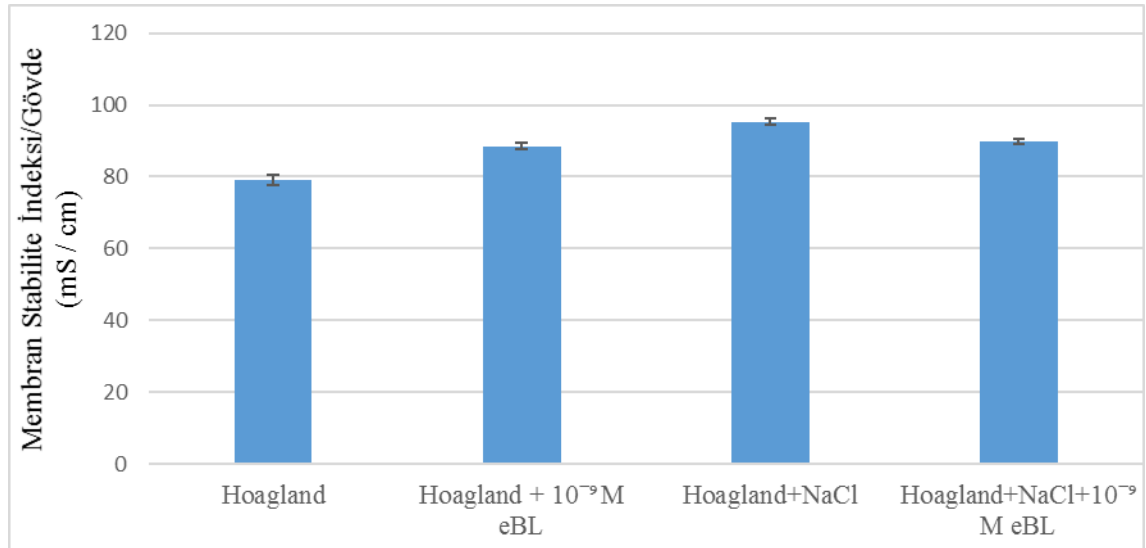
göstermiştir. Bu sonuç mevcut literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında eBL nin stresi hafifletici etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Arora ve diğ., 2008; Hernandez ve diğ., 1995). NaCl içermeyen Hoagland çözeltisinde yetiştirilen fidelere eBL püskürtüldüğünde, eBL uygulanmayan fidelere nazaran %24 oranında artış gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuç diğer sonuçlarla çelişmiştir.

4.6. MEMBRAN PERMEABİLİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLER

30 gün boyunca tuz stresine maruz bırakılan ve 45 günlük iken hasat edilen ıspanak fidelerinin inkubasyonları sonucunda içinde buldukları sulu ortama sızan erimiş madde miktarının ölçülmesinden elde edilen ve membran stabilite indeksi (MSI) cinsinden ifade edilen değerler Tablo 4.6 ve Şekil 4.8 de gösterilmiştir.

Tablo 4.6: 30 gün boyunca NaCl içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerinin membran permeabilitesi değişimi ($p < 0,05$).

Deney Grupları	Membran Permeabilitesi /Gövde (mS / cm)
Hoagland	79,0999±1,5132
Hoagland+ 10^{-9} M eBL	88,4798±0,8741
Hoagland+NaCl	95,3482±0,8052
Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL	89,8501±0,8072



Şekil 4.8: 30 gün boyunca NaCl içeren ve içermeyen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve 10^{-9} M eBL uygulanan 45 günlük ıspanak fidelerinin membran permeabilitelerinin karşılaştırılması ($p < 0,05$).

Çalışmada kullanılan deney gruplarındaki ıspanak fidelerine ait membran permeabilitesindeki değişimler, iletkenlik ölçüm cihazında EC (Electrical Conductivity) ölçülmüş ve gruplar arasında istatistiksel anlamda önemli ölçüde ($p < 0,05$) fark olduğu saptanmıştır.

Şekil 4.8 de görüldüğü gibi, Hoagland+NaCl solüsyonunda yetişen fidelerin Hoagland solüsyonunda yetişen fidelere oranla iletkenlik %17'lik bir artış göstermiştir. Hoagland+ 10^{-9} M eBL uygulanan fidelerin iletkenliklerindeki artış, eBL uygulaması yapılmayan fidelerinkine göre %11,85 oranında gerçekleşmiştir. Hoagland+NaCl solüsyonunda yetişen fidelerin permeabilitesinde ise Hoagland+NaCl+ 10^{-9} M eBL solüsyonunda yetişen fidelerin permeabilitesine oranla %6,11'lik bir artış gerçekleşmiştir.

Şekil 4.8 de görüldüğü gibi permeabilite değişimi sonucunda ortama sızan madde miktarı en yüksek oranla tuz stresine giren bitkilerde gerçekleşmiştir. Bu fidelere eBL uygulaması ise sızan madde miktarını azaltarak tuz stresinin membran bütünlüğünü bozucu etkisi üzerine iyileştirici bir etki yapmıştır.

Diğer yandan, strese maruz kalmadan Hoagland solüsyonunda yetiştirilen fidelere eBL uygulaması ise membran permeabilitesini etkileyerek sızan madde miktarını artırmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyadaki tarım arazilerinin 800 milyon hektardan fazlasında tuzlanma sorunu olduğu bildirilmiştir (Munns, 2002). Bu çalışmanın konusu olan tuzluluk stresi, dünyadaki toplam arazilerin %6 sıdandan fazlasını etkileyen bir sorundur. Bu olumsuzlukların üstesinden gelebilmenin yollarından birisi de, bitkinin tuzluluk stresine verdiği yanıtları saptamak ve bu yanıtların niteliksel ve niceliksel sonuçlarına dayanarak, olumsuzlukların etkilerini hafifletebilmek amacıyla yapılan hormon uygulamalarıdır. Brassinosteroidlerin çok düşük konsantrasyonlarında, hücre bölünmesi, hücre uzaması ve genişlemesi, üretken reproduktif organlarda gelişim, yaprak senesensi, toplam biyokütle ve verim artışı gibi bitki büyüme ve gelişmesinde düzenleyici rol oynamalarının yanısıra çevresel streslere adaptasyonda da etkili oldukları tespit edilmiştir (Surgun ve diğ., 2012).

Son yıllarda brassinosteroidlerin stres koşuluna maruz kalan fideler üzerindeki etkileri araştırılmaktadır (Kılıç ve diğ., 2007; Shahid ve diğ., 2011; Kumar ve diğ., 2014; Surgun ve diğ., 2015; Sri ve diğ., 2016). Bu araştırmanın amacı, tuz (NaCl) stresinin toksik etkilerine maruz kalan ve besin zincirinde önemli bir yer tutan ıspanak fidelerinin gelişimleri üzerine, eBL uygulamasının iyileştirici bir etki yapıp yapmayacağını incelenmesidir. Bu amaçla tuz (NaCl) içeren ve içermeyen Hoagland çözeltilerinde yetiştirilen ıspanak fidelerine püskürtme yöntemi ile steroid yapıda olan ve bitki gelişimini teşvik eden epibrassinolid (eBL) uygulanmış ve fidelerin gelişimi irdelenmiştir.

Elde edilen bulgular, 150 mM NaCl (tuz) stresine maruz bırakılan fidelerin gelişiminin yavaşladığını, bu fidelerin taze ağırlıklarının %60 oranında azaldığını göstermiştir. Tuz stresine (150 mM NaCl) maruz kalarak toksik etki altında gelişemeyen fidelere 10^{-9} M eBL uygulaması ise taze ağırlık oranında %35 artışa neden olmuştur. Bu sonuç 10^{-9} M eBL uygulamasının, stres altında gelişimi yavaşlayan fidede iyileştirici etki sağladığını (Şekil 4.1), gövdelerde taze ağırlık artışına neden olduğunu ortaya koymuştur. Nitekim bilindiği gibi tuz stresine maruz kalan bitkilerde hücrel değişimler meydana

gelmektedir. Ortamdaki tuz artışıyla birlikte Na/K dengesi ve (Tester ve Davenport, 2003), osmotik denge bozulmakta, osmotik potansiyel düşerek kullanılabilir su içeriği azalmakta ve gelişim yavaşlamaktadır. Her ne kadar stres koşulunda, bitki gelişimini engelleyen absisik asit (ABA) artışı stomaları kapatmak suretiyle transpirasyonu engellese de membran yapısındaki ve diğer organellerdeki değişimler neticesinde taze ağırlıkta ve klorofil içeriğinde azalma engellenmemektedir. Stomaların kapanması aynı zamanda stoma iletkenliğinin azalmasına neden olmakta (Munns ve Tester, 2008) ve bu da kloroplastlara giren CO₂ miktarını sınırlandırmaktadır (Degl'Innocenti ve diğ., 2009) Bu durumda fotosentez oranı da azalmaktadır.

Bu çalışmada tuz stresine maruz kalan fidelerde, Hoagland solüsyonunda yetiştirilen fidelerle kıyaslandığında klorofil oranının 3 katı kadar azalması, tuz stresinin senesensi hızlandırdığını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, senesens sırasında klorofil kaybının gerçekleştiğini ifade eden literatür bilgileri ile uyumluluk göstermiştir (Sağlam-Çağ, 2007; Sağlam-Çağ ve Okatan, 2014; Wen ve diğ., 2015).

Stres koşulundaki fidelere uygulanan eBL, artan ABA ile birlikte sinergistik olarak stomaların kapanmasında, çevresel streslere yanıt oluşturmada rol oynamaktadır (Haubrick ve diğ., 2006; Kagale ve diğ., 2007; Acharya ve Assmann, 2009). Bu çalışmada uygulanan eBL nin de bu şekilde iyileştirici bir katkı yaptığı düşünülmektedir. Benzer bir çalışmada, tuz stresi altında yetiştirilen patlıcan (*Solanum melongena* L.) fidelerine ekzogen olarak 24-epibrassinolid uygulanmış ve etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, özellikle 100 mM konsantrasyonda tuz stresinin neden olduğu, büyümenin baskılanması çarpıcı bir biçimde eBL uygulaması sonucu hafiflemiştir (Wu ve diğ., 2012).

Tuz içermeyen Hoagland solüsyonunda yetişen fidelere kıyasla eBL uygulaması ise beklenenin aksine büyümeyi hem morfolojik olarak hem de taze ağırlık cinsinden engelleyici etki göstermiştir. Hoagland solüsyonunda yetiştirilen ve eBL uygulanan fideler ilk 35 gün de büyüme ve gelişmeyi teşvik ederken, 35. günden itibaren hasat tarihi olan 45. güne kadar büyümeyi yavaşlatmış, bu süreçte taze ağırlığın %21 azalmasına neden olmuştur. Bu ilgi çekici sonuç, aynı fidelerde total klorofil miktarında %34, total protein içeriğinde %36 oranında azalma ile desteklenmiştir. Sağlam-Çağ (2007), kesik buğday da yaptığı bir çalışmada yüksek konsantrasyon eBL nin (10⁻⁵ M)

senesensi kısa sürede teşvik ettiğini, ilerleyen zamanda 10^{-9} M eBL nin de senesensi teşvik ettiğini ortaya koymuştur. Gören-Sağlam (2013) da, 10^{-9} M eBL nin kesik salatalık kotiledonlarında klorofil içeriğini düşürdüğünü saptamıştır. Tüm bu bulgular, bu araştırmada elde edilen bulgular ile uyum sağlamıştır. Bu çalışmada, tuz içermeyen Hoagland+eBL serilerinde yetişen bu fidelerde gelişimin yavaşlamasının yanısıra klorofil kaybıyla birlikte senesensin hızlanmasının, oksin varlığında senesensin hızlanması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Tuz stresinde azalan oksine rağmen senesensin hızlanma nedeni ise stres koşulunda ABA ve etilen gibi hormonların artışı (Finkelstein, 2013; Tattersal ve diğ., 2007) ve stres koşulunun yarattığı fotosentetik azalma şeklinde yorumlanmıştır. Nitekim Sağlam ve Okatan (1990), senesense neden olan sinyalin oksin ya da oksin yapısında bir madde olduğunu savunmuş, bu konu üzerine yaptığı diğer bir çalışmada, ^{14}C IAA nın taşınmasını engellemiş ve bu organlarda senesensin geciktiğini tespit etmiştir (Sağlam-Çağ ve Okatan, 2014). Daha sonra, Çingil-Bariş ve Sağlam-Çağ (2016), yaptıkları bir çalışmada kotiledon senesensi üzerine 10^{-9} M eBL nin oksin ile birlikte etki ederek senesensi hızlandırdığını ancak oksin taşınmasının TIBA ile engellenmesi durumunda eBL nin senesensi geciktirdiğini tespit etmiştir. Ayrıca brassinosteroid uygulamasının oksin taşınmasını teşvik ettiğini ortaya koyan sonuçlar da (Li ve diğ., 2005) bu konunun aydınlatılması açısından önemlidir. Diğer yandan stres koşulunda, brassinosteroid ve oksin etkileşiminin, bitki dayanıklılığında rol oynadığını ifade eden çalışmalar da mevcuttur (Choudhary ve diğ., 2010; 2011).

BR uygulamasının, oksin taşınmasını teşvik ettiği bilinmektedir (Li ve diğ., 2005; Chung ve diğ., 2011). Bu durum eBL uygulanan fidelerin 35. güne kadar büyümeyi teşvik etmesini açıklayabilmektedir. Bitki gelişiminin yavaşlaması ve senesensin hızlanmasının 35. günden sonra meydana gelme nedeni ise, o günlerde ikinci bir oksin reseptörünün oluşma (Sağlam-Çağ, 1997) ihtimaline bağlanmıştır. Bunun nedeni, oksin varlığında senesensin hızlanması şeklinde açıklanmıştır.

Tuz stresinde organel düzeyindeki en belirgin değişiklik kloroplastlarda meydana gelmektedir (Koyro, 2002). Artan Na^+ , PSII'nin reaksiyon merkezinde yer alan D1 proteininin degradasyonuna neden olmaktadır. NaCl 'nin tilakoid membranda asıl hedefinin PSII olduğu bildirilmiştir (Ferroni ve diğ., 2007). Ayrıca, stres koşulunda klorofillaz enzim aktivitesinin arttığı, klorofilin klorofillid ve fitole yıkıldığı ve

karotenoid miktarında da indirgenme olduğu ifade edilmiştir (Çulha ve Çakırlar, 2011; Yıldıztekin, 2012). Yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgular da, tuz stresine maruz kalan fidelerdeki klorofil içerikleri, strese maruz bırakılmayan fidelerdeki klorofil içeriği ile kıyaslandığında, stresin 3 katı kadar bir düşüş meydana getirdiği saptanmış, bu sonuçlar yukarıda bahis konusu olan literatür bilgileri ile paralellik göstermiştir. Tuz stresine maruz kaldıklarında klorofil içerikleri azalan bu fidelere eBL uygulanması klorofil içeriğini %74 oranında artırmıştır. Nitekim brassinosteroid uygulanan fidelerde klorofil içeriğini artırdığını ifade eden çalışmalar da mevcuttur (Wu ve diğ., 2012; Gökdoğan ve Bürün, 2015). Bu sonuç stres koşulunda artan ABA ile uygulanan eBL nin birlikte, bitkinin stomalarını kapatarak strese karşı daha dayanıklı hale geldiği şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca eBL nin gibberellin biyosentezini ve sinyalizasyonunu pozitif yönde etkilediği bildirilmiştir (Hu ve diğ., 2011). Tuz stresi uygulanmayan fidelere eBL uygulanması ise beklenenin aksine klorofil içeriğinde %34 azalmaya neden olmuş, bu sonuçlar da yukarıda bahsi geçtiği şekilde, oksin varlığında senesensi hızlandırdığı şeklinde yorumlanmıştır.

NaCl, stomaların kapanmasını teşvik etmekle birlikte, kloroplast tilakoidlerinde yer alan proteinlerin yapısında da değişimlere neden olarak, elektron transport aktivitesini etkilemektedir. Stres faktörünün dolaylı yolla oluşturduğu yapısal bozulmalardan birisi de protein miktarını etkileyen degeneratif olaylardır. Bitkiler abiyotik strese maruz kaldıkları andan itibaren, bu faktörle başa çıkabilmek için stres ile ilgili genlerin anlatımını başlatarak stres ile ilgili proteinleri üretmektedir (Sairam ve Tyagi, 2004; Henle ve diğ., 1998; Holmberg ve diğ., 1998). Bu proteinler oksin biyosentezinde primer molekül olan triptofandan yoksun proteinlerdir. Sitoplazmada mevcut olan bu proteinler, stres koşulu boyunca hücrel yapıları korumaktadır. Bunlardan biri olan lea genleri tarafından anlatılan LEA proteinleri, hücrel membran ve protein yapısını ve bileşenlerini korumada oldukça etkilidir (Yıldız ve diğ., 2010). Ancak tuz stresi koşulunun uzaması, bitki direnci giderek zayıflamakta ve degeneratif olaylar hızlanmaktadır. Bu araştırmada Hoagland+150 mM NaCl (tuz) solüsyonunda yetiştirilmek koşuluyla tuz stresine maruz bırakılan ıspanak fidelerine ait total protein miktarlarında oluşan farklar, istatistiksel olarak incelendiğinde gruplar arasında önemli farklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Tuz stresine maruz kalan fidelerin total protein içeriklerinde, Hoagland solüsyonunda yetişen fidelerin protein içeriklerine göre 3 katı

kadar azalma saptanmıştır (Şekil 4.5). Bu durum tuz stresine maruz kalan fidelerin büyümesinde meydana gelen yavaşlamanın nedenini açıklar niteliktedir. Diğer yandan stres koşulunda gelişen bu fidelere eBL uygulaması ise, bu fidelerdeki protein içeriğinde %43 oranında artış sağlamıştır. Ayrıca, Talaat ve Shawsy (2012) da tuz stresine maruz bıraktıkları buğday fidelerine eBL uygulamış, karbon ve azot metabolizmalarını artırarak tuzlu koşullar altında yüksek verim elde ettikleri bitkiler yetiştirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada oksinin, *Arabidopsis* bitkisinde BR nin biyosentezi için sinyal görevi gördüğü ifade edilmiştir (Vert ve diğ., 2008). Oksin konsantrasyonunun düşük olduğu tuz konsantrasyonunda bir yandan büyümeyi teşvik eden brassinosteroidin biyosentezinin yetersiz olduğu, diğer yandan ABA ve etilen gibi inhibe edicilerin artışı göz önüne alınırsa, tuz konsantrasyonunda yetişen fidelerin protein miktarındaki inhibisyonun nedeni aşikârdır. Hoagland+eBL solüsyonunda yetişen fidelere yine klorofil azalmasına benzer şekilde, %36 oranında bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.5). Bu da yine oksin varlığında eBL nin senesensi teşvik etmesi ve proteinlerin yıkılması şeklinde yorumlanmıştır.

Peroksidaz (POD), birçok organizmada reaktif oksijen türevlerine (ROT) karşı gerçekleştirilen savunmada önemli role sahip olduğu düşünülen enzimatik antioksidanlardır. ROT, bitkinin normal gelişim süreci boyunca sentezlenmekte ancak detoksifikasyon mekanizması sayesinde aralarında kurulan denge ile bu türevler zararlı etki oluşturmamaktadır (Levitt, 1972). Hücrelerde bilinen başlıca ROT'lar singlet oksijen ($1O_2$), süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-) olup normal koşullarda hücredeki düzeyleri sürekli denge halindedir. Stres altındaki bitkilerde ROT üretiminin artışı lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna, nükleik asit hasarına, enzim inhibisyonuna, programlı hücre ölümü (apoptozis) aktivasyonuna ve senesense kadar birçok degeneratif sürece yol açabilir (Smirnoff, 1993; Sgherry ve diğ., 1996; Bray, 1997). Çevresel stres faktörlerinin (tuzluluk, kuraklık, yüksek veya düşük sıcaklık, UV, ozon gibi) etkisi altında antioksidan sistemlerin aktiviteleri azalmakta ve bu koşullar ROT'ların sentezlenmesini teşvik ederek birikimine neden olmaktadır (Breusegem ve diğ., 2001).

POD, katalaza kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. Bu araştırmada kullanılan ıspanak fidelerinin farklı solüsyonlarda gelişmekte olan gövdelerine, 10^{-9} M eBL uygulanması yapılmış ve POD aktivitesi saptanmıştır. Hoagland+150 mM NaCl (tuz) solüsyonunda yetiştirilmek koşuluyla tuz stresine maruz bırakılan ıspanak fidelerine ait gövdelerde POD aktivitesinde oluşan farklar, istatistiksel olarak incelendiğinde gruplar arasında önemli farklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Tuz stresine maruz kalan fidelerin POD aktiviteleri ile Hoagland solüsyonunda yetişen fidelerin POD aktiviteleri kıyaslandığında 5 katı kadar artış saptanmıştır (Şekil 4.6). Elde edilen bu hızlı artışın birçok araştırmacının elde ettiği bulgular ile paralellik sağladığı görülmüştür. Nitekim *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok bitkide stres koşulları altında POD enzim aktivitesinde ve gen anlatımında hızlı artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Beauchamp ve Fridovich, 1971; Mobin ve Khan, 2007; Singh ve diğ., 2008). Diğer yandan stres koşulunda gelişen bu fidelere eBL uygulamasının ise, bu fidelerdeki POD aktivitesinde yaklaşık olarak 1,7 kat düşüşe neden olduğu saptanmıştır. Oksidatif strese karşı bitkileri korumada görev alan bu enzim aktivitesinin eBL uygulaması ile indirgenmesi, eBL nin stresin olumsuz etkisini hafifletici yönde olduğunun bir göstergesidir. Tuz stresi uygulanmayan fidelere eBL uygulanmasının yine beklenenin aksine 3 kat artışı gelişimin yavaşlaması ve senesensin hızlanması şeklinde yorumlanmıştır. Ispanak fidelerine uygulanan bu seride elde edilen POD aktivitesi sonuçları ile senesens geçiren organlarda hızlanan katabolik reaksiyonların artışına paralel olarak POD aktivitesinde saptanan artış (He ve diğ., 1996; Kanazawa ve diğ., 2000; Sağlam-Çağ, 2004) uyum göstermekte, bazı araştırmacıların bulguları ile de çelişmektedir (Palavan-Ünsal ve diğ., 2004). Bu sonuçlar, eBL nin POD aktivitesi ile klorofil ve protein içerileri arasında negatif bir korelasyon olduğunu ve POD aktivitesindeki artışın klorofil ve protein içeriğindeki düşüş oranına göre daha fazla olduğunu ortaya koymuştur.

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalinin detoksifikasyonundan sorumlu enzimdir. Gossett ve diğ., (1994) SOD'un, süperoksitin ($O_2^{\cdot-}$) en önemli öğütücüsü olduğunu ve bu enzimatik aktivitenin, H_2O_2 oluşumuyla sonuçlandığını ifade etmiştir. Brassinosteroidlerin, stres altında yetişen bitkilere koruma sağlamak için antioksidatif

enzimlerin süperoksit dismutaz, guaiacol peroksidaz, askorbat peroksidaz, katalaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerini düzenlediği bildirilmiştir (Hayat ve diğ., 2007). Tuzluluğa maruz kalan bitkilerde antioksidan enzimlerin aktivitesi artma eğilimindedir (Demiral ve Türkan, 2005; Hakeem, ve diğ., 2012; Kannan ve diğ., 2013). Antioksidan enzimlerin fazla sentezlenmesi çoğu bitkide tuz tolerans mekanizmasının bir bileşenidir (Ashraf, 2009). Tuz stresi altında yetiştirilen *Zea mays* (mısır) fidelerinde yapılan bir çalışma, 28-homoBL in, antioksidan enzimlerden biri olan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini artırarak ve lipid peroksidasyonu azaltarak tuzluluk stresini iyileştirici etki gösterdiğini ifade etmiştir (Arora ve diğ., 2007). Yine benzer şekilde tuza tolerant ve duyarlı bezelye çeşitlerinde enzim ölçümleri yapan Hernandez ve diğ. (1995), tolerant bezelye çeşidinde Mn-SOD aktivitesinde artış olduğunu belirlemiş, Cu-Zn-SOD aktivitelerinin değişmediğini, duyarlı bezelye çeşidinde ise bu enzimlerin aktivitesinde azalma görüldüğünü kaydetmişlerdir. Nitekim yapılan bu çalışmada da SOD aktivitesinin eBL uygulaması tarafından %56 oranında artırılarak stresi hafifletici etki gösterdiği saptanmış ve Arora ve diğ., (2007), bulguları ile paralellik göstermiştir. Oysa tuz stresine maruz kalan fidelerin SOD aktivitesi strese maruz kalmayan fidelere nazaran sadece %10 oranında bir artışa neden olmuştur. Diğer yandan hıyar bitkisinde tuz stresi altında antioksidatif enzim aktivitelerindeki değişim inceleyen Lechno ve diğ. (1997), katalaz (CAT) enzim aktivitesinin tuz uygulamasıyla birlikte arttığını, SOD aktivitesinde ise herhangi bir farklılığın ortaya çıkmadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, tuz stresi konusunda serbest oksijen radikallerinin etkisi ve değişimi ile ilgili birçok bulgunun elde edilmiş olduğunu, ancak bu sonuçlar arasında tutarlılık bulunmadığını, denemelerde farklı bitki yaşlarının kullanılması ve denemelerin kuruluş şekillerinin bunun üzerinde etkili olabileceğini bildirmektedirler. Diğer yandan, tuz stresine benzer bir oksidatif zararlanmaya neden olan kuraklık stresi üzerinde çalışan Dhindsa ve Mathowe (1981); SOD ve katalaz enzimlerinin aktiviteleri ile lipid peroksidasyonu düzeyinin sınırlanması arasında çok iyi bir pozitif etkileşim olduğunu belirlemişlerdir. Nitekim bazı çalışmalarda CAT ve SOD enzimlerinin buğdayda tuzluluk toleransı ile ilişkili olduğu, tuz ile SOD aktivitesinin artış gösterdiği (Sairam ve diğ., 2005; Koca ve diğ., 2006; Mandhanian ve diğ., 2006) vurgulanırken, arpada yapılan başka bir çalışmada, antioksidan enzim aktivitesinin tuz toleransı ile ilişkili olmadığı ifade edildi (Maksimovic ve diğ., 2013).

Tuz stresi daha önce de değinildiği gibi oksidatif strese neden olmakta ve oksidatif stres sonucu ortaya çıkan ROT'lar membran permeabilitesinde de değişimlere yol açmaktadır (Sharma ve diğ., 2012). Bu araştırmada tuz stresinin, ıspanak gövde hücrelerinin membranında hasara yol açtığı görülmüştür. Elektriksel iletkenlikte %17 lik artış, bitkilerin stres altında olduğunun ve canlılık kaybının bir göstergesidir (Şekil 4.8). Yapılan birçok çalışmada bitkiler tuz stresine maruz bırakılmış ve membran permeabilitesinin bozulduğu saptanmıştır (El-Tayeb, 2005; Fu ve ark., 2013; Akçay ve Eşitken, 2016).

Yapılan bu çalışmada, tuz stresine maruz kalan ıspanak fidelerinin gövdelerine eBL uygulamasının ise bu fidelerin membran geçirgenliğinde %6 lık bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Böylece bu fidelerde tuzluluk nedeniyle meydana gelen iyonik dengesizliğin, eBL sayesinde bitki tarafından tolere edildiği saptanmıştır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar ile Çoban (2014) ve Çoban ve Baydar (2016) ın yaptığı çalışmalardan elde ettiği bulgular benzerlik göstermektedir. Çoban, tuz stresi altındaki naneye (*Mentha piperita* L.) 24-e BL uygulamış, yüksek tuz konsantrasyonlarında bitkinin tuza karşı direncini artırarak bitki ölümlerinin engellendiğini, membran geçirgenliğini azaltarak bitkinin stresten olumsuz yönde etkilenmesinin önüne geçildiğini, oksidatif stresin etkilerinin azaldığını saptamıştır. Ayrıca Sadeghi ve Shekafandeh (2014) de *Eriobotrya japonica* da yaptığı bir çalışmada membran geçirgenliğini incelemiş ve eBL nin tuz etkilerini iyileştirici etkiye sahip olduğunu ifade etmiştir.

Membran yapısının bozulması, buna bağlı olarak iyon gradientinin bozulması ve ATP-H⁺ pompasının işlevini yerine tam olarak getiremediği şeklinde yorumlanmıştır. Böylece fotosentez ve solunum olayları için gerekli olan ATP nin eldesi yavaş yavaş azalmakta ve uzun süreli stres koşulunda süreç hücrel ölümle sonuçlanmaktadır. Bu sonuçları destekleyen bulgular da mevcuttur (Hedrich and Schroeder, 1989; Wimmers ve diğ., 1990; Liu ve diğ., 1994).

Hoagland+eBL solüsyonunda yetişen fidelerin geçirgenliğindeki %12 lik artış ise senesens sürecinin hızlanmasına bağlanmıştır. ABA tuz stresi esnasında stomaların kapanmasında etkili bir rol oynamaktadır (Zhu, 2002). Stres koşulunda sentezi artan ABA hücreler arası boşluğa geçmekte, buradan transpirasyon yolu ile stoma hücrelerine ulaşmakta ve burada hücre membranının permeabilitesini yani geçirgenliğini

artırmaktadır. Stres koşulunda ortama sızan pigmentlerin, şekerlerin ve elektrolitlerin giderek arttığı gözlenmiştir (Suttle ve Kende, 1978).

Stres altındaki ıspanak bitkilerinin gövdelerinde artan membran permeabilitesinin bir sonucu olarak azalma gösteren klorofil ve protein içerikleri arasında negatif bir korelasyon mevcuttur. Son yıllarda oldukça yoğun çalışılan ve bitki hormonları grubuna dâhil olan brassinosteroidlerin aktif formu olan eBL nin; tuz stresi koşulunda gerçekleştirilen bu çalışmada klorofil ve protein içeriğini artırarak; peroksidaz aktivitesini azaltarak, membran bütünlüğünü sağlayarak bitkinin stres koşuluna direnme gücünü artırdığı ortaya konmuş, aynı zamanda konu ile ilgili aydınlatıcı bilgiler ışığında eBL nin senesensi ancak IAA ile beraber teşvik ettiği de vurgulanmıştır.

Sonuç olarak, bitkiler yapıları gereği yaşamı boyunca büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyecek birçok stres faktörü ile karşı karşıya kalmaktadır. Tuz stresi, osmotik etkisi ile kullanılabilir su içeriğini kısıtlayan, iyonik etkisi ile de iyon içeriğinin toksik düzeye ulaşmasına sebep olan kompleks bir abiyotik strestir. Bu stres faktörü, bitkilerde morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal hasarlar oluşturmakta, ürün verimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bitkiler bu olumsuz etkileri indirgemek ya da engellemek amacıyla her ne kadar moleküler savunma mekanizmalarına sahip olsalar da, stres koşulu büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkilerken bitki organlarının yaşantısını yitirmesine neden olmaktadır. Bu nedenle stresle ilişkili mekanizmaların aydınlatılması ve toleranslı tür ve çeşitlerin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada, gıda maddesi olarak sürekli tüketilen ıspanak fidesinde stres koşullarında oluşan moleküler ve biyokimyasal olaylara değinilmiş ve strese karşı verilen tepkiler açıklanmaya çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar, steroid yapıda bir bitki hormonu olan brassinosteroidlerin en aktif formu olan eBL nin, tuz stresi koşulunun olumsuz etkilerini hafiflettiğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Acharya, B.R. and Assmann, S.M., 2009, Hormones interactions in stomatal function, *Plant molecular biology*, 69, 451-462.
- Ahmad, P., Jhon, R., Sarwat, M., Umar, S., 2008, Responses of proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two varieties of *Pisum sativum* L. under salt stress, *International journal of plant production*, 2 (4), 353-365.
- Akçay, D. ve Eşitken, A., 2016, MM106 anacına ve üzerine aşılı Golden Delicious elma çeşidine tuz stresinin etkileri, *Selçuk tarım bilimleri dergisi*, 3 (2), 228-232.
- Ali, G., İbrahim, A.A., Srivastava, P.S. and Iqbal, M., 1999, Structural changes in root and shoot of bacopamonniera in response to salt stress, *Journal of plant biology*, 42 (3), 222-225.
- Alscher, R.G., Donahue, J.L. and Cramer, C.L., 2006, Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells, *Physiologia plantarum*, 100 (2), 224-233.
- Altmann, T., 1999, Molecular physiology of brassinosteroids revealed by the analysis of mutants, *Planta*, 208, 1-11.
- Anonim, 1971, *Aşağı Fırat projesi Urfa Harran ovası planlama tasnif raporu*, Cilt. 2, DSİ Genel Müdürlüğü Planlama Grup Amirliği, Proje No: 2108.03.01, Diyarbakır.
- Anonim, 2007, *Meyve Sebzelerin Antioksidan Kapasiteleri*, <http://www.agaclar.net/forum/showthread.php?t=5546>, [Ziyaret tarihi: 10 Aralık 2017].
- Anonim, 2008, <http://dijitalkale.blogcu.com/ispanak/3387348>, [Ziyaret tarihi: 3 Mayıs 2017].
- Anonymous, 2008, *FAO agricultural statistical database*, <http://faostat.org>, [Ziyaret tarihi: 12 Şubat 2017].
- Anuradha, S. and Rao S.S., 2001, Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.), *Plantgrowth regulation*, 33 (2), 151-153.
- Aritomi, M. and Kawasaki, T., 1984, Three highly oxygenated flavone glucuronides in leaves of *Spinacia oleracea*, *Phytochemistry*, 23 (7), 2043.

- Aritomi, M., Komori, T., Kawasaki, T., 1986, Flavonol glycoside in leaves of *Spinacia oleracea*, *Phytochemistry*, 25 (4), 231.
- Arora, D. and Bhatla, S. C., 2017, Melatonin and nitric oxide regulate sunflower seedling growth under salt stress accompanying differential expression of Cu/Zn SOD and Mn SOD, *Free Radical Biology and Medicine*, 106, 315-328.
- Arora, N., Bhardwaj, R., Sharma, P. and Arora, H.K., 2008, Effects of 28-homobrassinolide on growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in seedlings of *Zea mays* L. under salinity stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 (6), 833.
- Arteca, J.M. and Arteca, R.N., 2001, Brassinosteroid-induced exaggerated growth in hydroponically grown *Arabidopsis* plants, *Physiologia plantarum*, 112, 104-112.
- Ashraf, M., 2004, Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants, *Flora*, 199: 361-367.
- Ashraf, M., 2009, Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers, *Biotechnology advances*, 27 (1), 84-93.
- Ashraf, M., Akram, N.A., Arteca, R.N. and Foolad, M.R., 2010, The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance, *Critical reviews in plant sciences*, 29, 162-190.
- Attia, H., Karray, N. and Lachaal, M., 2009, Light interacts with salt stress in regulating superoxide dismutase gene expression in *Arabidopsis*, *Plant science.*, 177 (3), 161-167.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971, Superoxide Dismutase: improved assay and applicable to acrylamide gels, *Anal. Biochem.*, 44 (1), 276-287.
- Berkowitz, G.A., 1998, *Water and salt stress, photosynthesis: a comprehensive treatise*, Cambridge University Press, Cambridge, ISBN: 0-521-57000, 376.
- Birecka, H., Briber, K.A. and Catalfamo, J.L., 1973, Comparative studies ontobacco pith and sweet potato root isoperoxidases in relation to injury, indoleacetic acid and ethylene effects, *Plant physiol.*, 52, 43-49.
- Bishop, G.J. and Yokota, T., 2001, Plants steroid hormones, brassinosteroids: current highlights of molecular aspects on their synthesis/metabolism, transport, perception and response, *Plant and cell physiology*, 42 (2), 114-120.
- Bishop, G.J., Nomura, T., Yokota, T., Harrison, K., Noguchi, T., Fujioka, S., Takatsuto, S., Jones, J.D.G. and Kamiya, Y., 1999, The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis, *Proceedings of the national academy of sciences*, 96 (4), 1761-1766.

- Blokhina, O. and Fagerstedt, K.V., 2010, Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems, *Physiologia Plantarum*, 138, 447-462.
- Bohnert, H.J., Su, H. and Shen, B., 1999, Molecular mechanisms of salinity tolerance, molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants, In: Shinozaki K. and Yamaguchi- Shinozaki K., R.G. Landes Company, ISBN: 157-059-563-1, 29-62.
- Borsani, O., Valpuesta, V., and Botella, M.A., 2003, Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach, *Plant cell, tissue and organ culture*, 73, 101-115.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M., 2005, *Plant adaptive Responses to salinity stress*, Plant abiotic stress, Chapter 3, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 37-70.
- Bradford, R., 1976, A Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Bray, E.A., 1997, Plant responses to water deficit, *Trends plant sci.*, 2, 48-54.
- Breckle, S.W., 2002, *Salinity, halophytes and salt affected natural ecosystems*, Salinity: environment, plants, molecules, In: Läuchli, A. and Lüttge, U. (ed.), Chapter 3, Springer Netherlands, Dordrecht, 53-77.
- Bressan, R.A., 2008, *Stres fizyolojisi*, Bitki fizyolojisi, In: Taiz, L. ve Zeiger, E. (ed.), Bölüm 25, Palme Yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-9944-341-61-5, 612.
- Breusegem, F.V., Vranová, E., Dat, J.F. and Inz, D., 2001, The role of active oxygen species in plant signal transduction, *Plant science*, 161, 405-414.
- Burssens, S., Himanen, K., Cotte, B.V., Beeckman, T., Montagu, M.V., Inze, D., and Verbruggen, N., 2000, Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*, *Planta*, 211, 632-640.
- Cheema, S.A., Farooq, M., Wahid, A., Lee, D.J., Aziz, T., 2010, Drought stress: comparative time course action of the foliar applied glycine betaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice, *Journal of agronomy and crop science*, 196 (5), 336-345.
- Cheung, A.Y. and Wu, H.M., 2011, Thesus 1, feronia and relatives: a family of cell wall-sensing receptor kinases?, *Current opinion in plant biology*, 14 (6), 632-641.
- Choi, Y.H., Fujioka, S., Nomura, T., Harada, A., Yokota, T., Takatsuto, S. and Sakurai, A., 1997, An alternative brassinolide biosynthetic pathway via late C6-oxidation, *Phytochemistry*, 44, 609-613.

- Choudhary, S.P., Bhardwaj, R., Gupta, B.D., Dutt, P., Gupta, R.K., Biondi, S. and Kanwar, M., 2010, Epibrassinolide induces changes in indole-3-acetic acid, abscisic acid and polyamine concentrations and enhances antioxidant potential of radish seedlings under copper stress, *Physiologia plantarum*, 140, 280-296.
- Choudhary, S.P., Kanwar, M., Bhardwaj, R., Gupta, B.D. and Gupta, R.K., 2011, Epibrassinolide ameliorates Cr (VI) stress via influencing the levels of indol-3-acetic acid, abscisic acid, Polyamines and antioxidant system of radish seedlings, *Chemosphere*, 84, 592-600.
- Choudhary, S.P., Yu, J-Q., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. and Tran, L-S.P., 2012, Benefits of Brassinosteroid crosstalk, *Trends in plant science*, 17, 594-605.
- Chung, Y., Maharjan, P.M., Lee, O., Fujioka, S., Jang, S., Kim, B., Takatsuto, S., Tsujimoto, M., Kim, H., Cho, S., Park, T., Cho, H., Hwang, I., Choe, S., 2011, Auxin stimulates DWARF4 expression and Brassinosteroid biosynthesis in *Arabidopsis*, *The plantjournal*, 66 (4), 564-578.
- Clouse, S.D. and Sasse, J.M., 1998, Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development, *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 49, 427-451.
- Clouse, S.D. and Zurek, D., 1991, Molecular analysis of brassinolide action in plant growth and development, In: Cutler H.G., Yokota, T., Adam, G. (ed.), *Brassinosteroids: chemistry, bioactivity and applications*, ACS symposium series, American Chemical Society, Washington DC, 112-140.
- Clouse, S.D., 2002a, Brassinosteroid signal transduction: clarifying the pathway from ligand perception to gene expression, *Molecular cell*, 10, 973-982.
- Clouse, S.D., 2002b, Brassinosteroids, *The Arabidopsis Book*, In: Somerville, C.R., Meyerowitz, E.M. (ed.), American Society of Plant Biologists, Rockville, MD., 1-23.
- Clouse, S.D., Hall, A.F., Langford, M., McMorris, T.C. and Baker, M.E.J., 1993, Physiological and molecular effects of brassinosteroids on *Arabidopsis thaliana*, *J. plant growth regul.*, 12, 61-66.
- Clouse, S.D., Zurek, D.M., McMorris, T.C. and Baker, M.E., 1992, Effect of brassinolide on gene expression in elongating soybean epicotyls, *Plant physiology (Bethesda)*, 100, 1377-1383.
- Çingil-Bariş, Ç. ve Sağlam-Çağ, S., 2016, The effects of brassinosteroids on sequential leaf senescence occurring in *Glycine max* L., *International journal of biotechnology and research*, 6 (4), 7-16.
- Çoban, Ö. and Baydar, N.G., 2016, Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint

- (*Mentha piperita* L.) under salt stress, *Industrial Crops and Products*, 86, 251-258.
- Çoban, Ö., 2014, *Brassinosteroid uygulamalarının tuz stresi altındaki nanede (Mentha piperita L.) bazı fiziksel ve biyokimyasal özellikler ile sekonder metabolit birikimi üzerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çolak, G., Keser, Ö. and Caner, N., 2011, The effects of NaCl, Na₂SO₄ and Na₂CO₃ type salt stress some macromorphological parameters about *Lycopersicon esculentum* (tomato) and *Raphanus sativus* (radish) which in first seedling growth period, *Biological diversity and conservation*, 4 (2), 29-48.
- Çulha, Ş., ve Çakırlar, H., 2011, Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları, *AKÜ Fen bilimleri dergisi*, 11, 11-34.
- Çullu, M.A., Almaca, A., Şahin, Y. ve Aydemir, S., 2002, Application of GIS for monitoring salinization in the Harran plain, Turkey, *International conference on sustainable land use and management*, Çanakkale, 326-331.
- Dağlıoğlu, F., 1996, *Farklı sebze çeşitlerinin uygulanan mikrodalga kurutma metodunun sebzelerin kimyasal birleşimine ve kurutma süresine etkisi üzerine bir araştırma*, Basılmamış Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dajic, Z., 2006, *Salt stress*, Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants, In: Madhava Rao, K.V., Raghavendra, A.S., Janardhan Reddy, K. (ed.), Chapter 3, The Netherlands, Dordrecht, 41-99.
- De Vleeschauwer, D., Buyten, E.V., Satoh, K., Balidion, J., Mauleon, R., Choi, I-R., Vera-Cruz, C., Kikuchi, S., Hofte, M., 2012, Brassinosteroids antagonize gibberellin- and salicylate-mediated root immunity in rice, *Plant physiology*, 158, 1833-1846.
- Degl'Innocenti, E., Hafsi, C., Guidi, L. and Navari-Izzo, F., 2009, The effect of salinity on photosynthetic activity in potassium-deficient barley species, *Journal of plant physiology*, 166 (18), 1968-1981.
- Demiral, T. and Türkan, İ., 2005, Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance, *Environmental and experimental Botany*, 53 (3), 247-257.
- Deslauriers, S.D. and Larsen, P.B., 2010, FERONIA is a key modulator of brassinosteroid and ethylene responsiveness in *Arabidopsis* hypocotyls, *Molecular plant*, 3 (3), 626-640.
- Deveci, M., ve Şalk, A., 1995, Tekirdağ şartlarında ıspanak yetiştiriciliğinde farklı ekim zamanı ve bitki sıklığının gelişme ve verim üzerine etkisi, *Tekirdağ ziraat fak. dergisi*, 4, 1-11.

- Dhindsa, R.S. and Mathowe, W., 1981, Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation, *J. of exp. bot.*, 32 (126), 79-91.
- Dinç, U., Şenol, S., Sayın, M., Kapur, S., Güzel, N., Derici, R., Yeşilsoy M. Ş., Yeğengil, İ., Sarı, M., Kaya, Z., Aydın, M., Kettaş, F., Berkman, A., Çolak, A.K., Yılmaz, K., Tunçgöğüs, B., Çavuşgil, V., Özbek, H., Gülüt, K.Y., Karaman, C., Dinç, O., Öztürk, N. ve Kara, E.E., 1988, *Güneydoğu anadolu bölgesi toprakları. (GAT): I. Harran Ovası*, TÜBİTAK Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu GÜDÜMLÜ Araştırma Projesi Kesin Raporu, Proje No: TOAG-534, Adana.
- Divi, U.K. and Krishna, P., 2009, Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance, *New biotechnology*, 26, 131-136.
- Djilianov, D., Georgieva, T., Moyankova, D., Atanassov, A., Shinozaki, K., Smeeken, S.C.M., Verma, D.P.S. and Murata, N., 2005, Improved abiotic stress tolerance in plants by accumulation of osmoprotectants—gene transfer approach, *Biotechnology and biotechnological equipment*, 19 (3), 63-71.
- Dong, J., W., Lou, S.S., Han, B.W., He, Z.P. and Li, P.M., 1989, *In Brassinosteroids chemistry, bioactivity, and applications*, In: Cutler, H.G., Yokota, T., and Adam, G. (ed.), *Am. Chem. Soc.*, Washington DC.
- Ekinci, S., 1972, *Özel sebzeçilik*, Ahmet Sait Matbaası, İstanbul.
- Elstner, E.F., 1987, *Metabolism of Activated Oxygen Species*, The biochemistry of plants biochemistry of metabolism, In: Davies, D.D. (ed.), Academic Press, San Diego, 252-315.
- El-Tayeb, M.A., 2005, Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid, *Plant growth regulation*, 45 (3), 215-224.
- Ergene, A., 1982, *Toprak bilgisi*, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:267, Ders Kitapları Serisi No:42, Erzurum.
- FAO, *Üretim istatistikleri*, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, [Ziyaret Tarihi: 22 Aralık 2016].
- Farooq, M., Wahid, A. and Basra, S.M.A., 2009, Improving water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress, *Journal of agronomy and crop science*, 195 (4), 262-269.
- Ferreres, F., Castaner, M. and Tomas-Barberan, F.A., 1997, Acylated flavonol glycosides from spinach leaves (*Spinacia oleracea*), *Phytochemistry*, 45, 1701–1705.
- Ferroni, L., Baldisserotto, C., Pantaleoni, I., Billi, P., Fasulo, M.P. and Pancaldi, S., 2007, High salinity alters chloroplast morpho-physiology in a fresh water

kirchneriella species (*Selenastraceae*) from Ethiopian Lake Awasa, *American Journal of Botany*, 94 (12), 1972-1983.

Finkelstein, R., 2013, Abscisic acid synthesis and response, *The arabidopsis book*, 11.

Fu, M., Li, C. and Ma, F., 2013, Physiological responses and tolerance to NaCl stress in different biotypes of *Malus prunifolia*, *Euphytica*, 189 (1), 101-109.

Fujioka, S. and Sakurai, A., 1997, Brassinosteroids, *Natural product reports*, 14 (1), 1-10.

Fujioka, S., 1999, *Natural occurrence of brassinosteroids in the plant kingdom*, Brassinosteroids: steroidal plant hormones, In: Sakurai, A., Yokota, T., Clouse, S.D.(ed.), Springer-Verlag, Tokyo, 21-45.

Fujioka, S., Noguchi, T., Takatsuto, S. ve Yoshida, S., 1998, Activity of brassinosteroids in the dwarf rice lamina inclination bioassay, *Phytochemistry*, 49, 1841-1848.

Ghassemi, F., Jakeman, A.J., Nix, H.A., 1995, *Salinization of land and water resources, human causes, extent, management, and case studies*, NSW University Press of New South Wales, Sydney.

Gil, M.I., Ferreres, F. and Tomás-Barberán, F.A., 1999, Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach, *J. agric. food chem.*, 47 (6), 2213-2217.

Glenn, E.P., Brown, J.J. and Blumwald, E., 1999, Salt tolerance and crop potential of halophytes, *Critical reviews in plant sciences*, 18 (2), 227-255.

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

Gökdoğan, E.Y. ve Bürün, B., 2015, 24-epibrassinolid ön uygulaması yapılmış domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tohumlarının NaCl stresi koşullarında çimlenmesi ve fide gelişimi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi fen ve mühendislik bilimleri dergisi*, 15, 18-27.

Gören-Sağlam, N., 2013, Effect of epibrassinolide on pigment content, total protein amount and peroxidase activity in excised cucumber cotyledons, *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 27 (1), 3502-3505.

Greenway, H. and Munns, R., 1980, Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual review of plant physiology*, 31 (1), 149-190.

Grove, M.D., Spencer, G.F., Rohwedder, W.K., Mandava, N., Worley, J.F., Warthen, J.D. Jr., Steffens, G.L., Flippen-Anderson, J.L. ve Cook, J.C. Jr., 1979, Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen, *Nature*, 281, 216-217.

- Gudesblat, G.E. and Russinova, E., 2011, Plants grow on brassinosteroids, *Current opinion in plant biology*, 14 (5), 530-537.
- Gürel, A., ve Avcıoğlu, R., 2001, *Bitkilerde strese dayanıklılık fizyolojisi*, Bitki biyoteknolojisi II, Genetik mühendisliği ve uygulamaları, In: Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. (ed.), Bölüm 21, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 308-313.
- Ha, S., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L-S.P., 2012, Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses, *Trends inplant science*, 17 (3), 172-179.
- Hakeem, K.R., Khan, F., Chandna, R., Siddiqui, T.O. and Iqbal, M., 2012, Genotypic variability among soybean genotypes under NaCl stress and proteome analysis of salt-tolerant genotype, *Applied biochemistry and biotechnology*, 168 (8), 2309-2329.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1985, *Free radicals in biology and medicine*, Clarendum Press, Oxford.
- Hansen, M., Chae, H.S., Kieber, J.J., 2009, Regulation of ACS protein stability by cytokinin and brassinosteroid, *The plant journal*, 57 (4), 606-614.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., Charoensataporn, R., 2003, Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar, *ScienceAsia*, 29, 109–113.
- Hasegawa, P.M, Bressan, R.A, Zhu, J.K, Bohnert, H.J., 2000, Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 51, 463-499.
- Haubrick, L.L., Torsethaugen, G. and Assmann, S.M., 2006, Effect of brassinolide, alone and in concert with abscisic acid, on control of stomatal aperture andpotassiumcurrents of *Vicia faba* guard cell protoplasts, *Physiologia plantarum*, 128, 134-143.
- Hayat, S. and Ahmad, A., 2011, *Brassinosteroids: a class of plant hormone*, Springer Netherlands, Dordrecht, ISBN: 978-94-007-0188-5.
- Hayat, S. and Ahmad, A., 2003, 28-Homobrassinolide induced changes favoured germinability of wheat grains, *Bulg. j. plant physio.*, 29 (1-2), 55-62.
- Hayat, S., Ali, B., Aiman Hassan, S. and Ahmad, A., 2007, Brassinosteroids enhanced antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*, *Environ. Exp. Bot.*, 60, 33-41.
- Hayat, S., Maheshwari, P., Wani, A.S., Irfan, M., Alyemeni, M.N., Ahmad, A., 2012, Comparative effect of 28-homobrassinolide and salicylic acid in the amelioration

- of NaCl stress in *Brassica juncea* L., *Plant physiology and biochemistry*, 53, 61-68.
- He, Z.H., Fujiki, M. and Kohorn, B.D., 1996, A cell wall-associated receptor-like protein kinase, *Journal biological chemistry*, 271, 19789-19793.
- Hedrich, R. and Schroeder, J.I., 1989, The physiology of ion channels and electrogenic pumps in higher plant cells, *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 40, 539-569.
- Henle, K.J., Jethmalani, S.M. and Nagle, W.A., 1998, Stress proteins and glycoproteins, *International journal of molecular medicine*, 1 (1), 25-32.
- 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 and environment*, 23 (8), 853-862.
- 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 science*, 105, 151-167.
- Hirt, H. and Shinozaki, K., 2004, *Plant responses to abiotic stress*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, ISBN: 3-540-20037-1.
- Holmberg, N. and Bülow, L., 1998, Improving stress tolerance in plants by gene transfer, *Trends in plant science*, 3 (2), 61-66.
- Hong, C-Y., Chao, Y-Y., Yang, M-Y., Cho, S-C. and Kao, C.H., 2009, Na⁺ but not Cl⁻ or osmotic stress is involved in NaCl induced expression of glutathione reductase in roots of rice seedlings, *Journal of plant physiology*, 166, 1598-1606.
- Hu, M.Y., Luo, M., Xiao, Y-H., Li, X-B., Tan, K-L., Hou, L., Dong, J., Li, D-M., Song, S-Q., Zhao, J., Zang, Z-L., Li, B-L., Pei, Y., 2011, Brassinosteroids and auxin down-regulate DELLA genes in fiber initiation and elongation of cotton, *Agricultural sciences in china*, 10, 1168-1176.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U., 2005, Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants, *Journal of plant nutrition and soil science*, 168 (4), 541-549.
- Huang, B. 2006, *Cellular mechanisms in stress sensing and regulation of plant adaptation to abiotic stress*, Plant-environment interactions, In: Huang, B. (ed.), Chapter 1, CRC Press, ISBN: 978-0-8493-3727-7, 1-25.
- Hussein, T.M., Chandrasekhar, T., Hazara, M., Sultan, Z., Saleh, B.K. and Gopal, G.R., 2008, Recent advances in salt stress biology-a review, *Biotechnology and molecular biology review*, 3 (1), 8-13.
- Iwahari, S., Tominaga, S. and Higuchi, S., 1990, Retardation of abscission of citrus leaf and fruitlet explants by brassinolide, *Plant growth regulators*, 9 (2), 119-126.

- Janeczko, A. and Swaczynova, J., 2010, Endogenous brassinosteroids in wheat treated with 24-epibrassinolide, *Biologia plantarum*, 54 (3), 477-482.
- Jaspers, P. and Kangasjärvi, J., 2010, Reactive oxygen species in abiotic stress signaling, *Physiologia plantarum*, 138 (4), 405-413.
- Kadioğlu, A., 1999, *Bitki fizyolojisi*, Eser Ofset, Trabzon.
- Kagale, S., Divi, U.K., Krochko, J.E., Keller, W.A., Krishna, P., 2007, Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses, *Planta*, 225 (2), 353–364.
- Kalefetoğlu, T. ve Ekmekçi, Y., 2005, The effects of drought on plants and tolerance mechanism, *G.Ü. fen bilimleri dergisi*, 18 (4), 723-740.
- Kamuro, Y. and Takatsuto, S., 1999, In *Brassinosteroids-chemistry, bioactivity and application*, In: Cutler, H.G., Yokota, T., and Adam, G., (ed.), *Am. Chem. Soc.*, Washington DC, 292-297.
- Kanazawa, S., Sano, S., Koshiba, T. and Ushimaru, T., 2000, Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark-induced senescence, *Physiologia plantarum*, 109, 211-216.
- Kannan, P.R., Deepa, S., Kanth, S.V., and Rengasamy, R., 2013, Growth, osmolyte concentration and antioxidant enzymes in the leaves of *Sesuvium portulacastrum* L. under salinity stress, *Applied biochemistry and biotechnology*, 171 (8), 1925-1932.
- Kara, T., 2002, Irrigation scheduling to prevent soil salinization from a shallow water table, *Acta horticulture*, 573, 139-151.
- Katsuhara, M. and Kawasaki, T., 1996, Salt stress induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of barley roots, *Plant cell physiology*, 37(2), 169-173.
- Katsumi, M., 1985, Interaction of a brassinosteroid with IAA and GA₃ in the elongation of cucumber hypocotyl sections, *Plant and cell physiology*, 26 (4), 615-625.
- Khalid, A. and Aftab, F., 2016, Effect of exogenous application of 24-epibrassinolide on growth, protein contents and antioxidant enzyme activities of *in vitro*-grown *Solanum tuberosum* L. under salt stress, *In vitro cellular & developmental biology-plant*, 52 (1), 81-91.
- Khatun, S. and Flowers, T.J., 1995, Effects of salinity on seed set in rice, *Plant, cell and environment*, 18 (1), 61-67.

- Kılıç, S., Çavuşoğlu, K. and Kabar, K., 2007, Effects of 24-epibrassinolide on salinity stress induced inhibition of seed germination, seedling growth and leaf anatomy of barley, *SDÜ fen edebiyat fakültesi fen dergisi*, 2 (1), 41-52.
- Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., and Türkan, İ., 2007, The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars, *Environmental and experimental botany*, 60 (3), 344-351.
- Koca, H., Özdemir, F. and Türkan, İ., 2006, Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. Pennellii*, *Biologia plantarum*, 50 (4), 745-748.
- Kocaçalışkan, İ., 2008, *Bitki fizyolojisi*, Nobel Yayıncılık, Ankara, ISBN: 9786053951353.
- Koyro, H-W., 2002, *Ultrastructural effects of salinity in higher plants*, Salinity: environment-plants-molecules, In: Läuchli, A. and Lüttge, U. (ed.), Chapter 7, The Netherlands, , Dordrecht, ISBN: 978-1-4020-0492-6, 139-157.
- Koyuncu, N., 2012, Bazı makarnalık buğday (*T. Durum* Desf.) çeşitlerinin in vitro koşullarda yüksek tuz dozlarına tepkileri, *Tarla bitkileri merkez araştırma enstitüsü dergisi*, 21 (2), 70-74.
- Kulaeva, O.N., Burkhanova, E.A., Fedina, A.B., Khokhlova, V.A., Bokebayeva, G.A., Vorbrod, H.M. and Adam, G., 1991, *Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell, ultrastructure under stress conditions*, In brassinosteroids: chemistry, bioactivity, In: Cutler, H.G., Yokota, T., Adam, G. (ed.), Chapter 12, American Chemical Society, Washington, D.C., 141-155.
- Kumar, S., Sirhindi, G. and Bhardwaj, R., 2014, 28-Homobrassinolide-induced exaggerated growth, biochemical molecular aspects of *Brassica juncea* L. RLM-619 Seedlings under High Temperature Stress, *J. Plant Biochem. Physiol.*, 2 (127), 2-10.
- Kutschera, U. and Wang, Z-Y., 2012, Brassinosteroid action in flowering plants: a Darwinian perspective, *Journal of experimental botany*, 63 (10), 3511-3522.
- Larcher, W., 1995, *Physiological plant ecology*, Published by Springer, New York, ISBN: 0-38709795-3.
- Lechno, S., Zamski, E. and Tel-Or, E., 1997, Salt stress-induced responses in cucumber plants, *Journal of plant physiology*, 150 (1-2), 206-211.
- Leubner-Metzger, G., 2001, Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways, *Planta*, 213 (5), 758-763.
- Levitt, J., 1972, Responses of plants to environmental stresses, New York, London, Academic Press, 697.

- Li, L., Xu, J., Xu, Z-H. and Xue, H-W., 2005, Brassinosteroids stimulate plant tropisms through modulation of polar auxin transport in *Brassica* and *Arabidopsis*, *The plant cell*, 17 (10), 2738-2753.
- Liu, D., Jiang, W., Wang, W., Zhao, F., Lu, C., 1994, Effects of lead on root growth, cell division and nucleolus of *Allium cepa*, *Environmental pollution*, 86 (1), 1-4.
- Lüttge, U., 2002, *Mangroves*, Salinity: environment-plants-molecules, In: Läuchli, A. and Lüttge, U. (ed.), Chapter 6, The Netherlands, Dordrecht, 113-135.
- Mahajan, S. and Tuteja, N., 2005, Cold, salinity, and drought stresses: an overview, *Archive of biochemistry and biophysics*, 444 (2), 139-158.
- Mahajan, S., Pandey, G.K. and Tuteja, N., 2008, Calcium and salt-stress signaling in plants, shedding light on SOS pathway, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 471 (2), 146-158.
- Maksimović, J.D., Zhang, J., Zeng, F., Živanović, B.D., Shabala, L., Zhou, M., and Shabala, S., 2013, Linking oxidative and salinity stress tolerance in barley: can root antioxidant enzyme activity be used as a measure of stress tolerance?, *Plant and soil*, 365(1-2), 141-155.
- Mandava, N.B., 1988, Plant growth-promoting brassinosteroids, *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 39, 23-52.
- Mandhania, S., Madan, S. and Sawhney, V., 2006, Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings, *Biologia plantarum*, 50(2), 227-231.
- Marschner, H., 1995, *Mineral nutrition of higher Plants*, Academic Press Inc, San Diego, United States, 657-680.
- Massoud, F.I., 1974, Salinity and alkalinity as soil degradation hazards, *FAO-UNESCO Publications*, 74, 10.
- Michelini, F.M., Ramirez, J.A., Berra, A., Galagovsky, L.R. and Alché, L.E., 2004, In vitro and in vivo antiherpetic activity of three new synthetic brassinosteroid analogues, *Steroids*, 69 (11-12), 713-720.
- Mitchell, J.W., Mandava, N.B., Worley, J.F., Plimmer, J.R. and Smith, M.V., 1970, Brassins-a new family of plant hormones from rape pollen, *Nature*, 225 (5237), 1065-1066.
- Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends plant Sci.*, 7 (9), 405-410.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and 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, H., Mitsuya, S. and Rahman, M.S., 2006, *Ultrastructural effects of salinity stress in higher plants*, Abiotic stress tolerance in plants: toward the improvement of global environment and food, In: Ashwani, K. And Teruhiro, T. (ed.), Chapter 8, The Netherlands, Dordrecht, ISBN: 10 1-4020-4388-0, 215-226.
- Mobin, M, and Khan, NA., 2007, Photosynthetic activity, pigment composition and anti-oxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress, *J. plant physiol.*, 164 (5), 601-610.
- Munns, R. and Tester, M., 2008, Mechanisms of salinity tolerance, *Annual review of plant biology*, 59, 651-681.
- Munns, R., 2002, Comparative physiology of salt and water stress, *Plant cell environ.*, 25 (2), 239-250.
- Müssig, C. and Altmann, T., 1999, Physiology and molecular mode of action of brassinosteroids, *Plant physiology and biochemistry*, 37 (5), 363-372.
- Müssig, C., 2005, Brassinosteroid-promoted growth, *Plant biol.*, 7 (2), 110-117.
- Neto, A.D.A., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Abreu, C.E.B., and Gomes-Filho, E., 2006, Effect of salt stress on antioxidatif enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes, *Environmental and experimental botany*, 56, 87-94.
- Nishikawa, N., Toyama, S., Shida, A. and Futatsuya, F., 1994, The uptake and transport of ¹⁴C-labelled epibrassinolide in intact seedlings of *Cucumber* and *Wheat*, *Journal of Plant Research*, 107 (2), 125-130.
- Niu, X., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M. and Pardo, J.M., 1995, Ion homeostasis in NaCl stress environments, *Plant Physiology*, 109 (3), 735-742.
- Noguchi, T., Fujioka, S., Choe, S., Takatsuto, S., Tax, F.E., Yoshida, S. and Feldmann, K.A., 2000, Biosynthetic pathways of brassinolide in *Arabidopsis*, *Plant physiology*, 124 (1), 201-209.
- Nomura, T., Kitasaka, Y., Takatsuto, S., Reid, J.B., Fukami, M., and Yokota, T., 1999, Brassinosteroid/sterol synthesis and plant growth as affected by *Ika* and *Ikb* mutations of pea, *Plant physiology*, 119 (4), 1517-1526.
- Nomura, T., Sato, T., Bishop, G.J., Kamiya, Y., Takatsuto, S. and Yokota, T., 2001, Accumulation of 6-deoxocathasterone and 6- deoxocasterone in *Arabidopsis*, pea and tomato is suggestive of common rate-limiting steps in brassinosteroid biosynthesis, *Phytochemistry*, 57 (2), 171- 178.
- Nouman, W., Basra, S.M.A., Yasmeen, A., Gull, T., Hussain, S.B., Zubair, M. and Gull, R., 2014, Seed priming improves the emergence potential, growth and antioxidant

- system of *Moringa oleifera* under saline conditions, *Plant growth regulation*, 73 (3), 267-278.
- Oldeman, L.R., Hakkeling, R.T.A. and Sombroek, W.G., 1991, World map of the status of human-induced soil degradation: A brief explanatory note, *ISRIC-UNEP Report*, Netherlands.
- Özen, H.Ç. ve Onay, A., 2013, *Bitki fizyolojisi*, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-133-480-6.
- Palavan-Ünsal, N., Çağ, S. ve Çetin, E., 2004, The role of meta-topolin senescence of wheat leaf segments, *Journal of cell and molecular biology*, 3, 23-31.
- Parida, A.K. and Das, A.B., 2005, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, *ecotoxicology and environmental safety*, 60 (3), 324-349.
- Parsons, T.R. and Strickland, J.D.H., 1963, Discussion of spectrophotometric determination of marine pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids, *Journal of marine research*, 21, 115-163.
- Parvaiz, A. and Satyawati, S., 2008, Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review, *Plant soil environment*, 54 (3), 89-99.
- Peleg, Z. and Blumwald, E., 2011, Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants, *Current opinion in plant biology*, 14 (3), 290-295.
- Peleg, Z., Reguera, M., Tumimbang, E., Walia, H. and Blumwald, E., 2011, Cytokinin-mediated source/sink modifications improve drought tolerance and increase grain yield in rice under water-stress, *Plant biotechnology journal*, 9 (7), 747-758.
- Pipattanawong, N., Fujishige, N., Yamane, K. and Ogata, R., 1996, Effects of brassinosteroid on vegetative and reproductive growth in two day neutral strawberries, *Journal of the japanese society for horticultural science*, 65, 651-654.
- Pittalwada, I., 2014, International forum to focus on scientific aspects and social and economic impact of salinity, <https://ucrtoday.ucr.edu/22974>, [Ziyaret tarihi: 23 Nisan 2017].
- Premachandra, G.S., Saneoka, H. and Ogata, S., 1990, Cell membrane stability, an indicator of drought tolerance, as affected by applied nitrogen in soyabean, *The journal of agricultural science*, 115 (1), 63-66.
- Rahman, S., Matsumuro, T., Miyake, H. and Takeoka, Y., 2000, Salinity-induced ultrastructural alterations in leaf cells of rice (*Oryza sativa* L.), *Plant production science*, 3 (4), 422-429.
- Rao, S.S.R., Vardhini, B.V., Sujatha, E. and Anuradha, S., 2002, Brassinosteroids-a new class of phytohormones, *Current science*, 82 (10), 1239-1245.

- Rengel, Z., 1992, The role calcium in salt toxicity, *Plant, cell and environment*, 15 (6), 625-632.
- Rita, B. and Frederick, L.C., 2005, *Inhibition or inactivation of higher plant chloroplast electron transport*, Handbook of photosynthesis, In: Pessaraki, M. (ed.), Chapter 8, CRC Press, ISBN: 978-0-8247-5839-4, DOI: 10.1201/9781420027877.ch8.
- Ronsch, H., Adam, G., Matsche, J. and Schlachler, G., 1993, Influence of (22S,23S)-homobrassinolide on rooting capacity and survival of adult norway spruce cuttings, *Tree physiology*, 12, 71-80.
- Sadeghi, F. and Shekafandeh, A., 2014, Effect of 24-epibrassinolide on salinity-induced changes in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.), *Journal of applied botany and food quality*, 87, 182-189.
- Sağlam, F., 2005, *Ispanak yetiştiriciliği*, T.C. Samsun Valiliği il Tarım Müdürlüğü, 6.
- Sağlam, S. ve Okatan, Y., 1990, Bazı epigeik fidelerde sırasal yaprak senesensi üzerine incelemeler, *Botanik bildirileri, X. Ulusal Biyoloji Kongresi*, Cilt 1, 249-257.
- Sağlam-Çağ, S. and Okatan, Y., 2014, The effects of zinc (Zn) and ¹⁴C-indolacetic acid (IAA) on leaf senescence in *Helianthus annuus* L., *Int. jour. plant physiol. and biochem.*, 6 (3), 28-33.
- Sağlam-Çağ, S., 1997, *Helianthus annuus L.'da sırasal yaprak senesensinin düzeni üzerine mineral besinlerin ve büyüme regülatörlerinin etkileri*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Sağlam-Çağ, S., 2004, The Effect of epibrassinolide on senescence in wheat leaves, *Acta physiologiae plantarum, The 14th FESPB Congress Book of Abstract*, August 23-27, 2004, Cracow, Poland, 18-19.
- Sağlam-Çağ, S., 2007, The Effect of epibrassinolide on senescence in wheat leaves, *Biotech. and biotech. equip.*, 21 (1), 63-65.
- Sairam, R.K. and Tyagi, A., 2004, Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants, *Current science*, 86, 407-421.
- Sairam, R.K., 1994, Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties, *Plant growth regulation*, 14 (2), 173-181.
- Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Agarwal, S. and Meena, R.C., 2005, Differences in antioxidant Activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes, *Biologia plantarum*, 49, 85-91.
- Sakurai, A., Yokota, T. and Clouse, S.D., 1999, *Brassinosteroids: steroidal plant hormones*, Springer, Tokyo and New York, ISBN: 4431702148.

- Sasse, J.M. and Sasse, J.M., 1994, Brassinosteroids and roots, *Proceedings of the 21st annual meeting of the plant growth regulator society of america*, Portland, OR, 228-232.
- Sasse, J.M., 1985, The place of brassinolide in the sequential response to plant growth regulators in elongating tissue, *Physiologia plantarum*, 63 (3), 303-308.
- Sasse, J.M., 1991, *The case for brassinosteroids as endogenous plant hormones*, Brassino-steroids: chemistry, bioactivity and applications, In: H.G., Cutler, H.G., Yokota, T., Adam, G. (ed.), Washington, DC, ACS Symposium Series 474, American chemical society, 158-166.
- Sasse, J.M., 1997, Recent progress in brassinosteroid research, *Physiol. plant*, 100 (3), 696-701.
- Sasse, J.M., Griffiths, P.G., Gaff, D.F., Yokota, T. and Cameron, D.W., 1998, Brassinosteroids of a resurrection grass, *Abstracts of the 16th international conference on plant growth substances*, Chiba, Japan, 131.
- Sasse, J.M., Smith, R. and Hudson, I., 1995, Effect of 24-epibrassinolide on germination of seeds of *Eucalyptus camaldulensis* in saline conditions, *Proceedings-plant growth regulator society of america annual meeting*, 22, 136-141.
- Savaldi-Goldstein, S. and Chory, J., 2006, *Brassinosteroids*, Plant physiology, In: Taiz, L. and Zeiger, E. (ed.), Chapter 24, Sinauer Associates, Massachusetts, ISBN: 0878938567, 617-634.
- Schilling, G., Schiller, C. and Otto, S., 1991, *Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants*, Brassinosteroids, In: Cutler, H.G., Yokota, T., Adam, G. (ed.), Chapter 18, American chemical society, 208-219.
- Schlagnhaufer, C.D. and Arteca, R.N., 1991, The uptake and metabolism of brassinosteroid by tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants, *Journal of plant physiology*, 138 (2), 191-194.
- Schmidt, J., Porzel, A. and Adam, G., 1998, Brassinosteroids and a pregnane glucoside from *Daucus carota*, *Phytochemical analysis*, 9 (1), 14-20.
- Sgherry, C.L.M., Pinzino, C. and Navari-Izzo, F., 1996, Sunflower seedlings subjected to increasing water stress by water deficit: changes in O₂-production related to the composition of thylakoid membranes, *Physiol plant.*, 96, 446-452.
- Shahid, M. A., Pervez, M. A., Balal, R. M., Mattson, N. S., Rashid, A., Ahmad, R. and Abbas, T., 2011, Brassinosteroid (24-Epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.), *Australian journal of crop science*, 5 (5), 500-510.

- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M., 2012, Reactive oxygen species, oxidative damage and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions, *Jour. of. bot.*, 26.
- Shim, J.H., Kim, I.S., Lee, K.B., Suh, Y.T. and Morgan, E.D., 1998, Determination of brassinolide in rice (*Oryza sativa* L.) by HPLC equipped with a fluorescence detector, *Agricultural chemistry and biotechnology*, 39, 84-88.
- Singh, S., Khan, N.A., Nazar, R. and Anjum, N.A., 2008, Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress, *Am. J. Plant Physiol.*, 3, 25-32.
- Smirnoff, N. and Cumbes, Q.J., 1989, Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes, *Phytochemistry*, 28 (4), 1057–1060.
- Smirnoff, N., 1993, The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New phytologist*, 125 (1), 27-58.
- Sönmez, B., 2011, Çorak toprakların ıslahı ve yönetimi, *Bilim ve aklın aydınlığında eğitim*, 134, 52-56.
- Sönmez, B., 2012, Tarım arazilerinin sürdürülebilir kullanımı, *Onuncu kalkınma planı (2014-2018), Çalışma grubu taslak raporu*, Ankara, 1-73.
- Sri, N.D., Mohan, M.M., Mahesh, K., Raghu, K. and Rao, S.S.R., 2016, Amelioration of aluminium toxicity in pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] plant by 24-epibrassinolide, *American journal of plant sciences*, 7 (12), 1618-1628.
- Srivastava, L.M., 2002, *Plant growth and development: hormones and the environment*, Academic Press, China, ISBN: 978-0-12-660570-9.
- Steber, C.M. and McCourt, P., 2001, A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*, *Plant physiology*, 125 (2), 763-769.
- Surgun, Y., Altunlu, H., Türkekul, S., Bürün, B. and Yokaş, İ., 2015, Effects of 24-epibrassinolide on growth and some antioxidant enzymes of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivars under NaCl stress, *Journal of applied biological sciences*, 9 (3), 9-17.
- Surgun, Y., Yılmaz, E., Çöl, B. ve Bürün, B., 2012, Altıncı grup bitki hormonu: brassinosteroidler, *C.B.Ü fen bilimleri dergisi*, 8 (1), 27-46.
- Suttle, J.C. and Kende, H., 1978, Ethylene and senescence in petals of tradescantia, *Plant physiol.*, 62, 267-271.
- Suzuki, H., Inoue, T., Fujioka, S., Saito, T., Tasatsuto, S., Yokota, T., Murofushi, N., Yanagisawa, T. and Sakurai, A., 1995, Conversion of 24-methylcholesterol to 6-oxo-24-methylcholestanol, a putative intermediate of the biosynthesis of

- barassinosteroids, in cultured cells of *Catharanthus roseus*, *Phytochemistry*, 40 (5), 1391-1397.
- Swanson, S. and Gilroy, S., 2010, ROS in plant development, *Physiologia plantarum*, 138 (4), 384-392.
- Taiz ve Zeiger, 2006, *Bitki fizyolojisi*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Talaat, N.B. and Shawky, B.T., 2012, 24-Epibrassinolide ameliorates the saline stress and improves the productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Environmental and experimental botany*, 82, 80-88.
- Tattersall, E.A., Grimplet, J., DeLuc, L., Wheatley, M.D., Vincent, D., Osborne, C., and Cushman, J.C., 2007, Transcript abundance profiles reveal larger and more complex responses of grapevine to chilling compared to osmotic and salinity stress, *Functional and integrative genomics*, 7 (4), 317-333.
- Temel, A., Kartal, G., Arıcan E. and Gözükırmızı, N., 2009, Effects of brassinosteroids on barley root growth, antioxidant system and cell division, *Plant growth regulation*, 58 (3), 261-267.
- Tester, M. and Davenport, R., 2003, Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants, *Annals of botany*, 91 (5), 503-527.
- Torun, H., 2012, *Tuz stresine maruz bırakılan arpa (Hordeum vulgare L.) çeşitlerinde salisilik asit muamelesinin içsel fitohormonlar düzeyinde fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin araştırılması*, Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tuteja, N., 2007, Mechanisms of high salinity tolerance in plants, *Methods in enzymology*, 428, 419-438.
- TÜİK, 2013, Türkiye İstatistik Kurumu, *Bitkisel üretim istatistikleri*, Ankara.
- TÜİK, 2014, Türkiye İstatistik Kurumu, *Bitkisel üretim istatistikleri*, Ankara.
- TÜİK, 2015, Türkiye İstatistik Kurumu, *Bitkisel üretim istatistikleri*, Ankara.
- Türkan, I. and Demiral, T., 2009, Recent developments in understanding salinity tolerance, *Environmental and experimental botany*, 67 (1), 2-9.
- Türkeş, N. ve Y. İnan, 1992, *Ispanak araştırmaları projesi.(ispanak çeşit tespit denemeleri sonuç raporu)*, Açıkta sebze yetiştiriciliği araştırma projesi, Atatürk Bahçe Kültürleri Merk. Araşt. Enst., Yalova.
- Vardhini, B.V. and Rao, S.S.R., 1999, Effect of brassinosteroids on nodulation and nitrogenase activity in groundnut (*Arachis hypogaea* L.), *Plant growth regulation*, 28 (3), 165-167.

- Vercruyssen, L., Gonzales, N., Werner, T., Schmulling, T. and Inze, D., 2011, Combining enhanced root and shoot growth reveals cross talk between pathways that control plant organ size in *Arabidopsis*, *Plant physiology*, 155 (3), 1339-1352.
- Vert, G., Walcher, C.L., Chory, J. and Nemhauser, J.L., 2008, Integration of auxin and brassinosteroid pathways by auxin response factor 2, *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, 105 (28), 9829-9834.
- Vural, İ., Eşiyok, D. ve Duman, İ., 2000, *Kültür sebzeleri (sebze yetiştirme)*, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Wang, B. and Zeng, G., 1993, Effect of epibrassinolide on the resistance of rice seedlings to chilling injury, *Zhiwa shengi xuebao*, 19, 53–60.
- Wang, K.L.-C., Li, H. and Ecker, J.R., 2002, Ethylene biosynthesis and signaling networks, *The plant cell*, 14, 131-151.
- Wang, L., Wang, Z., Xu, Y., Joo, S-H., Kim, S-K., Xue, Z., Xu, Z. and Chong, K., 2009a, OsGSR1 is involved in crosstalk between gibberellins and brassinosteroids in rice, 2009a, *The plant journal*, 57 (3), 498-510.
- Wang, Y., Li, K. and Li, X., 2009b, Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in *Arabidopsis thaliana*, *Journal of plant physiology*, 166 (15), 1637-1645.
- Wen, C.H., Lin, S.S. and Chu, F.H., 2015, Transcriptome analysis of a subtropical deciduous tree: autumn leaf senescence gene expression profile of formosan gum, *Plant cell physiol.*, 56 (1), 163-174.
- Wimmers, L.E., Ewing, N.N., Meyer, D.J. and Bennett, A.B., 1990, Calcium in plant growth and development, *Amer. soc. plant physiol. symp. ser.*, 4, 36-44.
- Wu, J., Seliskar, D.M. and Gallagher, J.L., 1998, Stress tolerance in the marsh plant *Spartina patens*: impact of NaCl on growth and plasma membran lipid composition, *Physiologia plantarum*, 102, 307-317.
- Wu, S-J, Ding, L. and Zhu, J-K., 1996, SOS1, a genetic locus essential for salt tolerance and potassium acquisition, *The plant cell*, 8 (4), 617-627.
- Wu, X.X., Ding, H.D., Zhu, Z.W., Yang, S.J. and Zha, D.S., 2012, Effects of 24-epibrassinolide on photosynthesis of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress, *African journal of biotechnology*, 11 (35), 8665-8671.
- Wu, X.X., Ding, H.D., Zhu, Z.W., Yang, S.J. and Zha, D.S., 2012, Effects of 24-epibrassinolide on photosynthesis of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress, *African journal of biotechnology*, 11 (35), 8665-8671.
- Xu, H.L., 2007, *Effects of exogenous epibrassinolide and abscisic acid on grain yield of sorghum plants growing under soil water deficit*, In dryland crop production:

technology breakthroughs and study cases, In: Xu, H.L. (ed.), Chapter 20, Research Signpost, India, 195-202.

Yaşar, F., Ellialtıoğlu, Ş., Özpáy, T., ve Uzal, Ö., 2008, Tuz stresinin karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) antioksidatif enzim (SOD, CAT, APX ve GR) aktivitesi üzerine etkisi, *Yüzüncü yıl üniversitesi ziraat fakültesi tarım bilimleri dergisi* (*J. agric. sci.*), 18 (1), 61-65.

Yıldız, M., Terzi, H., Cenkçi, S., Arıkan Terzi, E.S. ve Uruşak, B., 2010, Bitkilerde tuzluluğa toleransın fizyolojik ve biyokimyasal markörleri, *Anadolu üniversitesi bilim ve teknoloji dergisi*, 1 (1), 1-33.

Yıldıztekin, M., 2012, *Bazı bor bileşiklerinin ve yaygın kullanılan pestisitlerin domates bitkisinin (L. esculentum) fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Muđla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Yokoi, S., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M., 2002, Salt stress tolerance of plants, *JIRCAS working report*, 25-33.

Yokota, T. and Takahashi, N., 1986, *In plant growth substances*, Chemistry, physiology and agricultural application of brassinolide and related steroids, In: Bopp, M. (ed.), Springer-Verlag, Berlin, 129-138.

Yokota, T., 1997, The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids, *Trends in plant science*, 2, 137-143.

Yokota, T., Higuchi, K., Kosaka, Y. and Takahashi, N., 1992, Transport and metabolism of brassinosteroids in rice. *Curr. plant sci. biotechnol. agric.*, 13, 298-305.

Zhang, A., Zhang, J., Ye, N., Zhang, H., Tan, M. and Jiang, M., 2011, Nitricoxide mediates brassinosteroid-induced ABA biosynthesis involved in oxidative stress tolerance in maize leaves, *Plant cell physiology*, 52 (1), 181-192.

Zhao, B. and Li, J., 2012, Regulation of brassinosteroid biosynthesis and inactivation, *Journal of integrative plant biology*, 54 (10), 746-759.

Zhu, J.K., 2000, Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*, *Plant physiol.*, 124 (3), 941-948.

Zhu, J.K., 2001, Plant salt tolerance, *Trends plant science*, 6 (2), 66-71.

Zhu, J.K., 2002, Salt and drought stress signal transduction in plants, *Annual review of plant biology*, 53, 247-273.

Zhu, J.K., 2005, Understanding and improving salt tolerance in plants, *Crop science*, 45, 437-448.

Zhu, J.K., 2007, Plant salt stress, *Encyclopedia of life sciences*, <http://dx.doi.org/10.1002/9780470015902.a0001300.pub2>.

Zurek, D.M., Rayle, D.L., McMorris, T.C. and Clouse, S.D., 1994, Investigation of gene expression, growth kinetics, and wall extensibility during brassinosteroid-regulated stem elongation, *Plant physiol.*, 104 (2), 505-513.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Serhat SEVEN
Doğum Yeri	İstanbul
Uyruğu	T.C
Doğum tarihi, Yeri	19.08.1987
Telefon	0534 513 63 42
E-mail	serhat.seven@hotmail.com
Web adres	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Atatürk Üniversitesi
Fakülte	Fen
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	08.06.2012

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Botanik
Mezuniyet Tarihi	19.07.2017