

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARKLI *CUCUMIS SATIVUS L.* ÇEŞİTLERİNİN
ANTIOKSİDANT İÇERİĞİ ÜZERİNE BİYOTİK VE
ABIYOTİK STRESİN BİRLİKTE ETKİSİ**

Özge NOSTAR

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Filiz ÖZDEMİR

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.01.00

Sunuş Tarihi : 31.01.2011

Bornova-İZMİR

2011

Özge NOSTAR tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “*Farklı Cucumis sativus L. çeşitlerinin antioksidant içeriği üzerine biyotik ve abiyotik stresin birlikte etkisi*” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 06.01.2010 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri :

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Filiz ÖZDEMİR

Raportör Üye : Prof. Dr. İsmail TÜRKAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR

ÖZET**FARKLI CUCUMIS SATIVUS L. ÇEŞİTLERİNİN ANTIOKSİDANT İÇERİĞİ ÜZERİNE BİYOTİK VE ABİYOTİK STRESİN BİRLİKTE ETKİSİ**

NOSTAR, Özge

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Filiz ÖZDEMİR

Ocak 2011, 62 sayfa

Cucumis sativus L. çeşitlerinden *Sardes* ve *Beith Alpha*'nın biyotik ve abiyotik strese karşı antioksidan savunma mekanizmasının verdiği yanıtlar incelendi. 21 günlük *Sardes* ve *Beith Alpha* fideleri 7 ve 14 gün süresince 0, 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese ve biyotik stresle birlikte uygulanan 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakıldı. Bu *Cucumis sativus L.* türlerindeki büyüme, stoma iletkenliği, klorofil flüoresansı, lipit peroksidasyon düzeyleri, antioksidan enzim aktivitelerindeki ((süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1), katalaz (EC 1.11.1.6), peroksidaz (EC 1.11.1.7), askorbat peroksidaz (EC 1.11.1.11), glutasyon redüktaz (EC 1.6.4.2)) değişimler tespit edildi. 100 mM NaCl uygulamasının 14. gününde *Beith Alpha*'daki kök uzunluğundaki, yaş ve kuru ağırlıklarındaki azalma, *Sardes*'e göre daha belirgindir. *Beith Alpha*'nın biyotik stresle birlikte maruz kaldığı 100 mM tuz stresinde yaprak ozmotik potansiyelindeki artış, *Sardes*'teki artışa göre daha anlamlıdır. *Sardes*'in bağıl su içeriği (RWC) uygulamanın 7. gününde 14. güne göre daha belirgindir. *Beith Alpha*'da RWC'deki düşüş belirgin değildir. Süperoksit dismutaz aktivitesi *Sardes*'te 14. gün biyotik ve 100 mM tuzun uygulandığı grupta, *Beith Alpha*'da ise 7. gündeki biyotik ve tuz stresinin birlikte uygulandığı grupta belirgin şekilde artmıştır. *Beith Alpha* 'da 14. gün de SOD aktivitesinde azalma olmuştur. *Beith Alpha*'da POX aktivitesi 7. günde artarken, *Sardes*'te tuz stresine maruz kalan bitkilerde artış olmuştur. APX aktivitesi ise *Beith Alpha*'da uygulama süresi ile ters orantılı olarak azalmıştır fakat *Sardes*'te artış gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Biyotik stres, abiyotik stres, *Cucumis sativus L.*, tuzluluk antioksidan sistem.

ABSTRACT**COMBINED EFFECTS OF BIOTIC AND ABIOTIC STRESSES ON
ANTIOXIDANT CONTENT OF DIFFERENT CUCUMIS SATIVUS L.
VARIETIES**

NOSTAR, Özge

MSc in Biology Department

Supervisor: Prof. Dr. Filiz ÖZDEMİR

January 2011, 62 pages

Antioxidant defense mechanisms of *Cucumis sativus L.* varieties *Sardes* and *Beith Alpha* were investigated under biotic and abiotic stresses. 21 days old *Sardes* and *Beith Alpha* varieties were treated with 0, 50 and 100 mM salt, biotic and combined salt and biotic stresses for 7 and 14 days. Differences on growth parameters, stomatal conductance, chlorophyll fluorescence, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase-EC 1.15.1.1; catalase - EC 1.11.1.6; peroxidase-EC 1.11.1.7; ascorbate peroxidase-EC 1.11.1.11; glutathione reductase-EC 1.6.4.2) were measured on control and stress treated groups. Decrease on root length, fresh and dry weights were more significant on 100 mM NaCl treated groups of *Beith Alpha* variety as compared to *Sardes* variety on 14th day. Increase on osmotic potential was more prominent on *Beith Alpha* biotic and 100 mM NaCl treated groups as compared to that of *Sardes* variety. Difference on relative water content (RWC) of *Sardes* variety was more significant on 7th day of stress treatment as compared to 14th day. Decrease on RWC of *Beith Alpha* variety was not prominent. Super oxide dismutase activity increased distinctly in *Sardes* variety on 14th day of 100mM NaCl treatment and in *Beith Alpha* variety on 7th day of combined salt and biotic stress treatment. SOD activity decreased in *Beith Alpha* on 14th day. POX activity increased on 7th day in all stress treated groups of *Beith Alpha* however in *Sardes* salt stresses groups has the highest POX activity levels. During experimental period APX activity decreased in *Beith Alpha* variety and increased in *Sardes* variety.

Key words: Biotic stress, abiotic stress, *Cucumis sativus L.*, salinity antioxidant system.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her alanında her zaman yanımda olan, bilgisini, deneyimlerini ve desteğini benden esirgemeyen, maddi ve manevi desteği ile bana güç veren değerli hocam Prof . Dr. Filiz Özdemir'e en derin saygılarımla teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimimde engin bilgilerinden yararlandığım Prof. Dr. İsmail Türkan'a çalışmamda bilgilerini benimle paylaşan Doç. Dr. Melike Bor'a, ihtiyacım olan her durumda bana kapısını açan, bana zaman ayıran hocam Yrd. Doç. Dr. Hediye Sekmen'e, çalışmamın yapılabilmesinde payı olan Dr. Ali Özcan'a teşekkür ederim.

Analizlerimin yapılmasında bana yardımcı olan Süleyman İlhan'a, bana her zaman destek olan arkadaşlarım Tuğba Karabudak, Çinel Köksal ve hasatlarımda beni yalnız bırakmayan, her sorunumda yanımda olduklarını hissettirerek beni yalnız bırakmayan tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında beni sonsuz bir sabırla, sevgiyle ve anlayışla destekleyen ve bu desteklerini hiç eksiltmeyen, annem Semra Nostar'a, ve babam Adil Nostar'a, lisanüstü çalışmama başlamamda bana hep destek olan kardeşim Ethem Nostar'a , her anımda bana sonsuz moral ve destek veren, çalışmalarımda bir an olsun beni yalnız bırakmayan, sevgili Ünsal Taktakoğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
ABSTRACTvii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxii
KISALTMALAR DİZİNİ	xxiv
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Tuzluluk.....	2
1.2. Tuz Stresinin Etkileri.....	5
1.2.1. Ozmotik ve İyonik Stres	5
1.2.2. Bitkilerde Tuz Stresinin Algılanması	7
1.3 Biyotik Stres.	8
1.3.1. Biyotik Stresin Etkileri	9
1.4.Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu	10
1.4.1. Kloroplastlarda ROS Oluşumu.....	13

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
1.4.2. Mitokondride ROS Oluşumu	13
1.4.3. Peroksizomlarda ROS Oluşumu	14
1.4.4. Apoplastta ROS Oluşumu	14
1.5. ROS'ların Antioksidan Enzim Sistemi ile Yok Edilmesi	15
1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi	16
1.5.2. Askorbat Peroksidaz (APOX) Enzimi	16
1.5.3. Katalaz (CAT) Enzimi	17
1.5.4. Peroksidaz (POX) Enzimi	17
1.5.5. Glutasyon (GPX) Peroksidaz	18
2. MATERYAL VE METHOD	19
2.1. Bitki Materyali ve Yetiştirilmesi.....	19
2.2. Büyüme Parametreleri.....	19
2.3. Fotosentetik Verim (Fv/Fm; Klorofil Flüoresans) Ölçümü	19
2.4. Yapraklarda Bağlı Su Miktarı (RWC)	20
2.5. Yaprak Ozmolit Potansiyeli	20
2.6. Yapraklarda Prolin Miktarı	20

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.7. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	21
2.7.1. Enzim Ekstraktların Hazırlanması	21
2.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD; süperoksit oksiredüktaz, EC 1.15.1.1) aktivitesinin tayini	22
2.7.3. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) aktivitesinin tayini	22
2.7.4. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11. 1.11.) aktivitesinin tayini	22
2.7.5. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7.)aktivitesinin tayini	23
2.7.6. Glutasyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesinin tayini	23
2.8. Protein Miktarlarının Belirlenmesi	23
2.9. Lipit Peroksidasyonu	24
3.Sonuçlar	25
3.1.Büyüme parametreleri	25
3.1.1. Kök uzunluğu.....	25
3.1.2.Kök yaş ağırlığı.....	26
3.1.3. Kök kuru ağırlığı.....	27
3.1.4. Gövde uzunluğu.....	28
3.1.4. Gövde yaş ağırlığı.....	29

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1.4. Gövde kuru ağırlığı	30
3.2.Fotosentetik Verim (Fv/Fm; Klorofil Flüoresansı).....	31
3.3.Bağıl Su İçeriği	32
3.4.Ozmotik Potansiyel.	33
3.5.Total Protein Miktarları	34
3.6.Antioksidan Enzim Aktivite Sonuçları	35
3.6.1.Süperoksitdismutaz (SOD) Aktivite Sonuçları	35
3.6.2. Peroksidaz (POX) Aktivite Sonuçları	37
3.6.3.Katalaz (CAT) Aktivite Sonuçları	38
3.6.4.Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivite Sonuçları	39
3.6.5.Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivite Sonuçları.....	41
3.7.Lipit Peroksidasyonu.....	42
3.8.Yapraklarda Prolin Miktarı	44
4.Tartışma/Sonuç	45
5.Kaynaklar Dizini	53
6.Özgeçmiş.....	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Bitki hücresinde kloroplast ve mitokondri de ROS oluşumu ve süpürülmesi.....	15
1.2. Bitki hücresinde biyotik ve abiyotik stres ile ROS'ların oluşumu ve süpürülmesi.....	15
3.2. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in SOD aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.	34
3.2. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın SOD aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.	34
3.3. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in POX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	35
3.4. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın POX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.	36
3.5. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in CAT aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	37
3.6. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın CAT aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	38

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.7. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in APX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	38
3.8. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın APX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	39
3.9. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in GR aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	39
3.10. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın GR aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	40
3.11 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in malondialdehit miktarında (nmol g^{-1} YA) meydana gelen değişimler...	41
3.12. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın malondialdehit miktarında (nmol g^{-1} YA) meydana gelen değişimler.....	41
3.13. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in prolin miktarında (nmol g^{-1} YA) meydana gelen değişimler	40

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**Şekil****Sayfa**

- 3.14. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın prolin miktarında (nmol g⁻¹ YA) meydana gelen değişimler...40

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök uzunluğu (cm)'nda gözlenen değişimler.	26
3.2. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mMtuz ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler.	27
3.3. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mMtuz ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler..	28
3.4. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mMtuz ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin gövde uzunluğu (cm)'nda gözlenen değişimler.....	29
3.5. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mMtuz ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin gövde yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler.....	30
3.6. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mMtuz ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin gövde kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler.....	31
3.7. 7 ve 14 gün süreyle 50 mM ve 100 mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM tuz ve biyotik stres +100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha bitkilerinin fotosentetik verimindeki değişimler.....	32
3.8. 7 ve 14 gün süreyle 50 mM ve 100 mM NaCl biyotik, biyotik stres+50 mM tuz ve biyotik stres +100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes'in yaprak bağıl neminde (RWC) gözlenen değişimler.	33

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)ÇizelgeSayfa

- 3.9. Sardes ve Beith Alpha çeşitlerine ozmotik potansiyeline (mmol/kg) NaCl ve biyotik stresin etkisi. 34
- 3.10. Sardes ve Beith Alpha çeşitlerine uygulanan tuz ve biyotik stresin total protein miktarına etkisi. 35

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
APX	Askorbat Peroksidaz.
CAT	Katalaz.
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit.
KA	Kuru ağırlık.
GR	Glutasyon redüktaz.
MDA	Malondialdehit.
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat.
POX	Peroksidaz.
PS	Fotosistem.
ROS	Reaktif Oksijen Türleri.
RWC	Nispi su içeriği.
SE	Standart hata.
SOD	Süperoksit dismutaz.
YA	Yaş ağırlık.

1.GİRİŞ

Bitkiler yaşam döngüleri boyunca, doğal ortamlarında sürekli olarak çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalır (M. Fujita, 2006). Bitki stres kombinasyonları ile eş zamanlı ya da geçici olarak ayrı zamanlarda karşılaşsa da streslere eşzamanlı yanıt verir (Knight and Knight, 2001). Bitkiler stresi algılamak ve başa çıkabilmek için fizyolojilerini düzenlemeye yardımcı mekanizmalar geliştirmişlerdir (Zhang et al., 2006). Çevresel faktörler biyotik ve abiyotik streslere neden olabilirler. Kuraklık, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, tuzluluk, U.V., donma, ağır metal stresi gibi abiyotik stresler bitkilerde önemli zararlar oluşturmaktadır. Biyotik faktörler ise bitki enfeksiyonu, yabancı bitkiler, böcekler, bakteriler, mantarlar, mikroorganizmalar nedeni ile oluşabilir. Biyotik stres uygulaması kolay olmayıp çok çeşitli fizyolojik sonuçlar doğurabilir (Balachandran, 1997).

Abiyotik ve biyotik stres nedeni ile bitkide meydana gelen hasarlar tarımsal kayıplara neden olmakta ve giderek artan Dünya nüfusu için büyük bir sorun oluşturmaktadır. Ürünlerde veya ürünün değer kaybında bir azalma yada tüm bitki veya bitki bölümlerinin ölümü ile sonuçlanır. Strese karşı geliştirilecek toleranslı ürünler ile verim arttırılabilir. Günümüzde değişen iklim koşullarında biyotik ve abiyotik stres yolları arasındaki karşılıklı konuşma ve bitkilerin verilen bir stres ya da çoklu strese nasıl tepki vereceğini ortaya koymak büyük önem kazanmıştır (Forcat et al., 2008).

Virulan veya avirulan bir patojen saldırısı ile birkaç dakika içerisinde ortaya ilk çıkan yanıt reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimidir. Bu zayıf ve geçici ROS üretimi, biyolojik olarak spesifik olmayan bir reaksiyondan kaynaklanır. Birkaç saat sonra, avirulan patojenler tarafından saldırılan hücrelerde oksidatif yanma olarak isimlendirilen ikinci büyük ve uzun ROS üretimi meydana gelir. ROS üretiminin bu iki aşamalı hareketi, HR (hypersensitive yanıt) tarafından karakterize edilmiş uyumsuz bitki-patojen etkileşimleri için tipiktir. HR süresince oluşan büyük ROS üretimi memeli bağışıklık sistemindeki nötrofil aktivasyonunu hatırlatır.

ROS fitopatojen saldırısına karşı doğrudan mikroorganizmayı öldürerek etki edebilir. H_2O_2 ve O_2^- 'nin birlikte bulunuşu veya hidrojen peroksitin metallere reaksiyonu, biyomoleküller üzerindeki yıkıcı etkisi iyi bilinen son derece reaktif hidroksil radikalinin oluşumunu uyarır. Hidrojen peroksit ayrıca lignin polimerizasyonu ve hücre duvarının yapısal bileşenleri arasındaki moleküller içi ve moleküller arası bağlantıları katalizleyen peroksidaz reaksiyonlarını kolaylaştırarak duvar kalınlaşmasına katkıda bulunur ve mikroorganizmaların bitki dokularına geçişini engeller. Mekanik engellerdeki artış, aktive edilmek için daha fazla zaman gerektiren savunmaları düzenlemek için bitki hücrelerine zaman kazandırmak patojen geçişini yavaşlatır. H_2O_2 biyolojik zararlarda bulunduğundan hücre içi sinyal olarak da rol oynayabilir (Gara et al., 2003).

1.1 . Tuzluluk

Dünya üzerindeki karaların 800 milyon hektardan fazlası tuzdan etkilenmiştir (FAO, 2008). Bugün dünyadaki ekili alanların %20' si ve sulanan alanların da neredeyse yarısı tuzluluktan etkilenmiştir.

Doğal nedenlerin yanında sahil kenarında tuzlu yağışlar, kayalardan ve okyanuslardan gelen tuzlardan kontaminasyon, kültivasyon denemeleri rizosferde artan tuz konsantrasyonunu arttırır. NaCl en çok çözünen tuzdur. Tuzluluk terimi topraktaki tuz konsantrasyonunu ifade eder. NaCl toprak tuzluluğunun en büyük parçasını oluşturur. Bu da bütün bitkilerin neden NaCl birikmesini önleyici ya da atılmasını düzenleyici mekanizmalar geliştirdiğini açıklar. Yüksek tuzluluk hem hiperiyonik hem hiperosmotik strese neden olarak bitkilerin ölümüne yol açar.

Tüm dünyada tarımı kısıtlayan tuzluluk, bitkilerin suyu absorbe etmesini engeller, büyüme hızında (Epstein et al., 1980) iyon dengesinde ve toksitesinde hızlı değişmelere neden olur (Amor et al.,2007). Tuzluluk CO_2 asimilasyonunu kısıtlar ve birçok metabolik değişikliğe neden olur (Hernandez et al., 2000), (Amor et al., 2007). Ayrıca oksidatif strese de neden olarak zarar oluşturur. Tuz bitki köküne tuz akışı nedeniyle toprağın

su geçirgenliğini olumsuz etkiler. Bitki köklerinin su iletkenliğini azaltır. Yüksek konsantrasyonlarda tuz bitkide iyon dengesizliğine ve hiperosmotik strese neden olur. Bu birincil etkilerin sonucunda oksidatif hasar gibi ikincil etkiler oluşabilir (Zhu., 2001). Bitkiler kuraklık tuzluluk, yüksek sıcaklıklar, hava kirliliği ve manyetik alanlar gibi çevresel streslere karşı farklı savunma stresleri geliştirmişlerdir (Bor ve ark., 2003).

Ruffino ve arkadaşlarına göre (2010) toprak tuzluluğuna sağlanabilecek adaptasyonlar iyon emiliminin, ozmolit birikiminin ve ozmotik düzenlemenin metabolik olarak kontrolünün artırılmasıdır.

Tuz toleransı bitki fizyolojisini bir çok yönden ilgilendirir. Bitkilerin tuza toleransı en uygun K/Na oranını sağlamasına bağlıdır (Chen et al., 2007). Tuzluluk koşulları bitkilerin suyu absorbe etmesini engeller, büyüme hızında hızlı düşümlere neden olur. Tuzluluk nedeniyle büyümedeki azalmalar hem su eksikliğinden kaynaklanan ozmotik stres hem de kritik biyokimyasal işlemlerde Na^+ ve Cl^- iyonlarının iyonik etkisinden kaynaklanır (Munns and Tester, 2008).

Yüksek tuzlulukta, iletim demetli bitkilerin büyümesi ve hayatta kalması hem düşük su potansiyeline hem de yüksek sodyum konsantrasyonuna adaptasyonlarına bağlıdır. Tuz stresi, aşırı sodyum ve klorid iyonlarının varlığı ile birçok hücrel sistemde hasara neden olur, olumsuz etki yapar, iyonik dengesizliğe neden olur. Tuz stresi bitkide hiper ozmotik şoka neden olur. Su azaldığında kimyasal etki olarak, hücre turgorunda azalmaya neden olur.

Bitkiler tuzluluğa toleranslarına göre farklılık gösterirler. Bitkiler yüksek tuzlu ortamda yaşayabilme kapasitesine göre glikofit ya da halofit olarak ayrılır (Flowers et al., 1997). Tuzlu topraklarda yaşayabilen halofitler, tuz stresine tolerans gösteremeyen glikofitlere oranla daha dirençlidirler. Halofitler tuzlu koşullarda yaşamlarına devam edebilen ya da büyüeyebilen bitkilerdir. Glikofitler $100-200 \text{ mmol}^{-1} \text{ NaCl}$ 'ye kadar dayanabilirken halofitler ise $300 \text{ mmol}^{-1} \text{ NaCl}$ 'den daha yüksek

konsantrasyondaki tuzlulukta yaşamlarını sürdürebilmektedirler (Zhu, 2007). Tuzluluğa karşı direnç gösterebilen bitkilerde gövdede tuz birikimi glikofitlere göre daha azdır. Yüksek tuzlu topraklarda yaşayan halofitler, tuzu köklerinden yapraklarına iletmezler. Bazı halofit bitkiler ise deniz suyundaki tuzun 2 katı konsantrasyondaki tuz yoğunluğuna dayanabilir. Tahıllar arasında en duyarlı ürünlerden biri pirinç (*Oryza sativa*), en toleranslı ürünlerden biri ise arpadır. Tuzluluk toleransındaki farklılıklar, bitkinin monokotil, dikotil olmasına göre de değişiklik gösterir. Birçok dikotil halofit yüksek tuz konsantrasyonlarında (100-200 mM NaCl) optimum gelişme gösterir.

Tuzlu topraklardaki toprak bileşenleri; NaCl, MgSO₄, Na₂SO₄, CaSO₄, MgCl₂, KCl ve NaCO₃ gibi çözünmeyen tuzlardan oluşur. Fakat doğada en yaygın bulunan tuz NaCl'dir. Bu nedenle günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu NaCl ile ilgilidir. Sodyumun yüksek konsantrasyonları, birçok bitki türü için toksiktir ve en önemli abiyotik streslerden biridir. Tuzluluk, iyonik strese (genellikle Na⁺, Cl⁻, ve SO₄⁻² yüzünden) osmotik strese, besinsel dengesizliğe neden olur (Zhu, 2002).

Sodyumun yüksek konsantrasyonları birçok bitki türü için toksiktir, dünya çapında toprak tuzluluğu bitki üretkenliği için önemli bir abiyotik strestir. Birçok ekin türü tuzluluktan olumsuz yönde etkilenir.

Tuz stresinin zararlı etkileriyle başa çıkmak için bitkiler çeşitli biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar geliştirmişlerdir.

- (i) Tuz iyonlarının seçici artması veya atılması
- (ii) Kökler tarafından iyon alımının kontrolü ve yapraklara taşınımı
- (iii) İyon bölmelendirilmesi
- (iv) Membran yapısında değişiklik
- (v) Gerekli osmolitlerin sentezlenmesi
- (vi) Fotosentetik yolda değişiklik
- (vii) Antioksidan enzimlerin uyarılması
- (viii) Fitohormonların uyarılması (Parida and Das, 2005).

Yabani türler doğada çok yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşayabilirken, kültür bitkileri çok düşük tuz konsantrasyonlarına ancak dayanabilirler. Yüksek tuz konsantrasyonları bitkilerde ölümlere ya da ürün kaybına neden olmaktadır.

1.2 Tuz Stresinin Etkileri

1.2.1 Ozmotik ve İyonik Stres

Bitki kökleri çevrelerindeki aşırı tuzdan etkilenirler. Tuzluluk bitki büyümesi ve gelişmesini olumsuz yönde etkiler. Tuzluluk bitkilerin suyu absorbe etmesini engeller, büyüme hızında hızlı düşümlere neden olur ve birçok metabolik değişiklik yapar. Toprak tuzluluğu bitkiye hem iyonik hem de ozmotik stres yaratır (Zhu, 2001). Su potansiyeli ve iyon dağılımı homeostasisini bozar. Bu değişimler hem hücresel hem de tüm bitki seviyelerinde gözlenir. İyon ve su homeostasisindeki değişiklikler moleküler hasara, büyümede durmaya ve hatta bitkinin ölmesine sebep olur. Tuzluluk stresi, bitkinin iyon homeostasisini bozar ve sitoplazmada aşırı miktarda toksik Na^+ birikimine ve K^+ gibi etkili iyonların eksik kalmasına sebep olur. Çeşitli iyon taşıyıcıları bitki hücrelerinin içine Na^+ girişini ve çıkışını kısıtlayıcı görev alırlar. Böylece vakuolde Na^+ 'un bölmelenmesini önleyerek bitki hücrelerine seçici olarak Na^+ yerine K^+ alınmasını sağlar.

Na^+ ve Cl^- homeostasisi bitkilerde NaCl stresini azaltan önemli bir mekanizmadır. Aşırı miktardaki tuz, büyüme ve verimde azalmalara neden olur (Tavakkoli, 2010). Na^+ , Cl^- 'ye göre daha toksik etki gösterir. Fakat soya fasülyesi, mandalin gibi bitkilerde Cl^- daha toksiktir (Lauchli, 2002; Storey and Walker, 1999). Tuz stresindeki bitkiler iyonik homeostasiyi sağlamak dışında ozmotik homeostasiyi de kurmak zorundadır. Bitkiler sitosollerinde çeşitli uygun ozmolitleri biriktirirerek tuzlu topraklardan su emilimini sağlarlar ve ozmotik potansiyeli düşürürler.

Hücreye girmek isteyen Na^+ , vakuole alınır ya da hücre dışına atılır. Na^+ 'nın vakuole taşınması, sitozolde Na^+ toksitesinin oluşmasını

engellemenin ekonomik bir yoludur. Çünkü Na^+ vakuolde, ozmotik düzenlenmeyi sağlamaya yardımcı olmak için kullanılabilir. Na^+ akışının kontrolü ve vakuoler bölmelendirmeye ek olarak Na^+ 'un dışarı atılması da sitoplazmada düşük Na^+ konsantrasyonunu sağlamada önemlidir.

Ozmotik stres bitki kökleri vasıtası ile tuzluluğa maruz kaldıktan dakikalar sonra başlar. Hemen akabinde de büyümede azalmada başlamış olur. Bitkinin suyu emme miktarı azalır , bunu takriben bitkinin yaprak alanı azalır, yeni yaprak gelişim ve oluşum hızı düşer. İyonik stres, ozmotik strese göre oldukça uzun süre etkisini devam ettirir. Birçok bitkide tuz toleransı için eşik değer 40mM NaCl'dir. Gövde büyümesi, kök büyümesine göre daha duyarlıdır. Tuz stresi bitkinin gövde ve kök uzunluğunda azalmalara neden olur. Yavaş büyüme, bitkinin stres altında gösterdiği bir adaptasyondur. Doğada tuz yada kuraklık stresinin derecesi büyüme hızı ile ters orantılı gerçekleşir. Stres altında büyüme hızındaki bir azalmanın bir nedeni de stomaların kapanmasına bağlı olarak, sınırlı karbon dioksit alımının sonucunda fotosentezin azalmasıdır. Ayrıca stres, hücre bölünmesi ve genişlemesini doğrudan inhibe edebilir.

Tuz toleransını sağlamak için birbiriyle alakalı üç bitki aktivitesi önemlidir. İlk olarak hasar önlenmelidir, ikincil olarak homeostatik koşullar sağlanmalıdır ve son olarak da büyüme tekrar başlatılmalıdır (Zhu, 2001).

Bitkilerin tuz stresine yanıtı zamanla 2 ayrı fazda meydana gelir. Bitkinin tuz stresine yanıtı için yapılan analizlerde sürgün büyümelerinde azalma 2 şekilde gözlenir.

- 1) Hızlı yanıt ; dış ozmotik basıncı arttırmak,
- 2) Yavaş yanıt; yapraklardaki Na^+ birikimini önlemek içindir.

İlk olarak ozmotik faz kök çevresindeki tuz konsantrasyonunun eşik değere ulaşması ile başlar ve sürgün büyümesi belirgin şekilde azalır. Büyüyen yaprakların genişlemesi azalır, yeni yaprakların ortaya çıkması yavaşlar. Tahıllarda tuzluluğun en önemli etkisi gözlenen filiz sayısının azalmasıdır. Dikotillerde ise tek yaprakların yada dal sayısının belirgin

olarak azalmazdır. Yaprak alanındaki azalma kök büyümesi ile alakalıdır ve bitkinin su kullanımını azaltır (Munns and Tester., 2008).

1.2.2 Bitkilerde Tuz Stresinin Algılanması

Bitkilerin streslere karşı verdikleri yanıtlar, ekstrem çevresel koşullara karşı kompleks bir sinyalizasyon ağı ile bitki adaptasyonlarının oluşmasını sağlar. Ozmotik stresin algılanması işleminin aktif kanallar, mekanik algılayıcılar, iyon kanalları, redoksla düzenlenen sistemler ve transmembran protein kinazlar tarafından gerçekleştiği bilinmektedir (Kacperska, 2004).

Bitkilerde iyon homeostasisinin ve tuz toleransının düzenlenmesi için sinyalizasyon ağı, bazı SOS (Salt Overly Sensitive) genlerine dayalı bir sinyal yolunu takiben ortaya çıkmıştır. SOS yolağı 3 anahtar bileşik içerir. SOS1 isimli plazma membranına lokalize Na^+/H^+ taşıyıcısı (antiportı) 10-12 transmembran domain içerir. 700 aminoasitten fazla aminoasite sahip olması Na^+ 'ı algılaması ve sitoplazma dışına atmasını kolaylaştırmaktadır (Shi et al., 2000). SOS1'in biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonu; sitoplazmadan Na^+ 'u taşımak ve onu hücre dışına almak ya da kök çevresine götürmektir. K^+ alınmasında SOS1'in rolü dolaylı olabilir ve $\text{H}^+ - \text{K}^+$ ko-transportörleri ve H^+ birlikteliği ile gerçekleşebilir. Bitkiler yüksek tuzluluğa maruz bırakıldığında SOS1 ekspresyonu artmıştır (Shi et al., 2002). SOS1 transkript seviyesinin artmasında SOS2 ve SOS3 genlerinin de etkisi vardır.

SOS2 geni (46 aminoasit) amino terminal katalitik uç alanı ve karboksi terminal düzenleyici alan ile serin/teorinin protein kinazı şifreler, Na^+/H^+ değiştirme kapasitesini etkileyen vakuoler Na^+/H^+ taşıyıcılarla etkileşir (Qui et al., 2002). SOS2 içerisinde düzenleyici ve katalitik alanlar arasında etkileşim vardır. Bu hücre içi etkileşim SOS2'yi inaktif durumda tutmak içindir. SOS2'nin kinaz aktivitesi onun tuz toleransını belirleyici özelliği için gereklidir (Zhu, 2001). SOS3 ise Ca^{+2} sensörüdür (Liu and Zhu, 1998). Sitosolik Ca^{+2} seviyesi SOS3 tarafından algılanır. Tuz stresinde ortaya çıkan sitosolik kalsiyum değişikliklerini algılar. SOS3, SOS2 ile etkileşir. SOS3/SOS2 protein kinaz kompleksinin birleşmesi SOS1'i aktive eder (Türkan, 2009).

1.3 Biyotik stres

Bitkiler kendi doğal çevrelerinde çeşitli abiyotik streslerin yanı sıra biyotik strese de maruz kalabilirler. Biotropik oomisit *Pseudoperonospora . cubensis* özellikle salatalıkta yalancı mildiyö hastalığına neden olarak salatalık, kavun, balkabağı ve karpuzda büyük kayıplara neden olur. Dünyada üzerinde ılımlı iklime sahip olan bölgelerde büyük zararlara yol açan bu hastalık sık gözlenir.

P. cubensis, Pseudoperonospora sınıfına ait *Ps. cubensis*, *Ps. humuli*, *Ps. cannabina*, *Ps. celtidis* ve *Ps. Urticae* şeklinde beş sınıftan oluşur. Küba'da 1868 yılında Berkeley ve Curtis tarafından keşfedilmiştir. *P. cubensis* 1903 yılında sporangia çimlenmesinde yapılan gözlemler sonucunda yeniden sınıflandırılmıştır. Pseudoperonospora türleri zoospore üretmek için sitoplazmik hücre bölünmesi ile çimlenen gerçek sporangialara sahiptir.

P. cubensis Cucurbitacea'da yalancı mildiyö hastalığına neden olur. Yaklaşık 118 genus ve 825 türden oluşan Cucurbitacea familyasının, 40 türünde rastlanan bir hastalıktır. Ayrıca 30 türe ayrılan Cucumis L. cinsinde yaklaşık 10 türde bu hastalık gözlenir. *P. cubensis*' in çeşitli patolojik tipleri; salatalık (*C. sativus*), miskkavunu (*Cucumis melo var. reticulatus*), kavun (*Cucumis melo vars. Conomon* ve *acidulus*), karpuz (*Citrullus lanatus*), balkabağı (*Cucurbita maxima* ya da *moschata*), kabak (*Cucurbita pepo subsp. pepo*), asmakabağı (*Cucurbita mommardica*), sukabağı (*Lagenaria vulgaris*) ve lif kabağı (*Luffa cylindrica* veya *acutangula*) türlerinde hastalık yapar (Cohen et al., 2003).

P. cubensis coğrafik olarak çok geniş bir yayılım gösterir. Hastalık dünyanın birçok yerinde yıkıcı hasarlar oluşturur. ABD, Çin, Avrupa ve İsrail'de ciddi boyutlarda mahsul kayıplarına neden olur (Thomas,1996). Hastalığın oluşması için gerekli olan nemli havada *P. cubensis*' in oomisitleri dağılır ve nemli yapraklarda enfeksiyon oluşur.

Yalancı mildiyö, kabakgillerde yaprağın adaksiyel yüzeyinde klorotik lezyonlar; nekrotik bölgeler oluşmasına neden olur. Bu lezyonlar yaprak

damarları ile sınırlandırılır ve salatalıkta olduğu gibi bitkinin köşeli bir görünüme sahip olmasına neden olabilir.

Sporları rüzgarla ve yağmur damlalarıyla dağılır. Ayrıca bitkilerin enfekte olmasında sıcaklık, nispi nem ve güneş radyasyonu da etkili olur. Enfeksiyon için gerekli optimum koşullar 15 °C ve en az 2 saat süresince yaprağın nemli olmasıdır. Diğer yalancı mildiyelerde olduğu gibi *P. cubensis* sporangiaları da çok uzak mesafelere rüzgarla taşınabilir (Aylor and Taylor, 1982). Karanlıkta oluşan zoosporangialar için nispi nem %90 'dan fazla olmalıdır.

İlk semptomlar küçüktür. Yaprığın üst yüzeyinde açık sarı alanlar, küçük klorotik alanlar oluşur. Bu lezyonların genişlemesi klorotik olabilir ya da çevresel koşullara bağlı olarak nekrotik ve kahverengi alanlar oluşabilir. Olumlu koşullar altında sporangiosporlar yaprağın üst yüzeyinde olur. Geniş yaprak alanlarında meydana gelen nekrotikleşme, birkaç gün içinde yaprağın yüzeyini kaplayarak ölümüne neden olur (Lindenthal et al., 2005).

Biotropik patojenler ile enfeksiyon bitki dokularında, solunum, fotosentez ve transpirasyonda gözlenen farklılıklarda dahil metabolik işlemlerde değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler birbiriyle bağlantılıdır. Bazıları birebir gelişir, diğerleri hastalık derecesine göre çeşitlilik gösterir.

1.3.1.BİYOTİK STRESİN ETKİLERİ

Yaşam döngüleri boyunca, bitkiler dış çevreden gelen çeşitli tehditlerle karşılaşmaktadırlar. Bitkiler sesil olmaları nedeniyle kendilerini biyotik ya da abiyotik strese karşı korumak için çok çeşitli "savunma" ya da "stres yanıtları" geliştirmişlerdir. Patojenik mantar, bakteri ve virüsler bitkinin başa çıkması gereken ciddi tehlikeler arasındadır. Bitkilerin patojen saldırısına karşı savunma yanıtı reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve "oksidatif yanma" dır. Oksidatif yanma sonucu oksijen kullanılarak ROS üretimi olur. ROS'ların oluşumu sırasında meydana gelen oksidatif yanma çeşitli abiyotik ve biyotik stresin etkisiyle bitkide gözlemlenen, hücresel düzeydeki ilk yanıtlardır ve senesensin doğal seyridir. Hücre dışındaki pH'da, iyon akışında, protein fosforilasyon düzeninde ve bitki hücre duvarı

proteinlerinin oksidatif bağlanmasında değişikliklere neden olur (Bollwell and Wojtaszek, 1997).

Bitkiler patojenlerin saldırılarını önlemek ya da azaltmak için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu savunma ikincil metabolitlerin yeniden sentezlenmesine ya da ani bir şekilde birikiminin başlamasına neden olur. NADPH oksidaz oluşumu en etkili durumdur. NADPH oksidazlar ve hücre duvarı peroksidazları ROS oluşumunu düzenlerler.

1.4.Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu

Reaktif oksijen türleri (ROS), en az bir çift eşlenmemiş elektrona sahip atom ya da atom gruplarından oluşan ve bu nedenle kararsız olan serbest radikallerdir. Bu elektronlar yüksek enerji seviyesine sahip olduklarından reaktif oksijen türlerini oluşturmak üzere moleküler oksijene dönüştürülürler (Takashi and Asada, 1988; Mittler, 2002). ROS plazma membranına bağlı NADPH oksidazlar, hücre duvarına bağlı peroksidazlar ve apoplasttaki amin-oksidadların enzimatik aktivitesinin artması ile üretilir (Grant and Loake, 2000; Hammond-Kosack and Jones, 2000).

Bitki hücreleri reaktif oksijen türlerini (ROS) aerobik metabolizmanın yan ürünü olarak düzenli olarak üretir. Fotosentez, solunum gibi normal metabolik işlemler sırasında da ROS üretilir. Hidrojen peroksit, süperoksit hidroksil radikali, peroksit radikali, singlet oksijen ROS, türlerindedir. Bitkilerde ROS, kloroplastlarda, mitokondride ve peroksizomlarda devamlı olarak üretilir. ROS üretimi ve süpürülmesi arasındaki denge çeşitli olumsuz abiyotik ve biyotik stres koşulları sırasında bozulabilir (Apel and Hirt, 2004).

Bitki hücrelerinde ROS oluşumu birçok yolla olur. ROS iki durumda üretilir. Birincisi hasar veren toksik bir molekül olarak, ikincisi ise farklı streslere yanıtta olduğu gibi metabolizmanın normal çalıştığı durumlar sırasında ROS'un denge durumundaki seviyesini kontrol eden faydalı bir sinyal iletim molekülü olarak çalışır.

Normal metabolizma ve kısmende stres sırasında ROS detoksifikasyonu için gerekli askorbik asit (AsA) ve glutatyon (GSH) gibi

antioksidanlar ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GR) gibi ROS süpürücü enzimler gereklidir (Asada and Takahashi, 1988; Apel and Hirt, 2004; Mittler et al, 2002; Dietz et al,2006).

Bitki patojen savunmasında ROS önemli bir rol oynar. Bu yanıt sırasında ROS, plazma membranına bağlı NADPH oksidazlar, hücre duvarına bağlı peroksidazlar ve apoplasttaki amin- oksidazların enzimatik aktivitesinin artması ile üretilir (Hammond-Kosack et al., 2000; Schmidt-Ullrich et al., 2000).

Bitkiler fizyolojik olarak denge durumlarında iken bu moleküller devamlı olarak farklı antioksidatif savunma bileşikleri tarafından süpürülürler. ROS canlı organizmalardaki fiziksel ve biyokimyasal faktörlerin sonucunda oluşur (Bartosz, 1997). Bitki bitki patojen savunmasına, programlanmış hücre ölümüne ve stomal davranışlara yanıtların düzenlenmesinde sinyal iletim molekülü olarak ROS üretir. ROS türlerinin bazıları doğal gereğince çok toksiktir. ROS konsantrasyonlarındaki hızlı artış oksidatif yanma olarak adlandırılır. Bitkiler sessil organizmalar olmalarına rağmen patojenik enfeksiyonlarla başa çıkabilecek çeşitli savunma yanıtları geliştirmişlerdir..

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), moleküler oksijenin indirgenmesinin ilk basamağında oluşan (yaklaşık 2-4 μs) kısa ömürlü bir radikaldir. Süperoksit, SOD enzimi ile H_2O_2 ve H_2O 'ya parçalanır. Özellikle düşük pH'da bir süperoksit anyonu eklenmiş elektronunu bir başka süperoksit anyonuna verir ve H_2O_2 oluşturabilir. Doğrudan protein ve lipitlerle reaksiyona giremez ancak protonlanmış formu olan peroksihidroksil radikali (HO_2^{\cdot}) lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır (Asada and Takahashi, 1987). Süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin üretimine neden olarak toksik etki yapar (Hideg, 1997). Süperoksit serbest radikal olan NO ile reaksiyona girerek oldukça reaktif olan peroksinitrit ($OONO^{\cdot-}$)'i oluşturur.

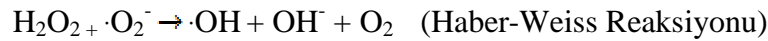
Hidrojen peroksit (H_2O_2), (1 μs) daha kısa ömürlü ve kararlı bir radikaldir. Kloroplastlarda oluşturulma miktarı yaklaşık 80-160 $\mu M/s$ iken, fotosentez yapan yapraklarda bu miktar 10 $\mu M/s$ 'dan fazladır (Foyer and Noctor, 2003). H_2O_2 biyolojik moleküllerle örneğin protein ile reaksiyona girer. Tuz stresi altındaki bitkilerde, H_2O_2 plazma membranında H^+ - ATPaz

aktivitesini artırır. H⁺-ATPaz hücre içi K⁺/Na⁺ homeostasisinin sürdürülmesinde temel ögedir. Ayrıca antioksidan enzimlerin aktivasyonundan da sorumludur. H₂O₂ stres sinyali olarak K⁺/Na⁺ homeostasisinin sürdürülmesinin yanında antioksidan savunmasında tuz stresi altındaki bitkilerde önemli bir düzenleyicidir. Programlanmış hücre ölümünü düzenleyen anahtar bir faktördür (Bhattacharje., 2005). NaCl stres uygulamasının başlangıcında tuza dirençli türlerde hızlı bir şekilde H₂O₂ üretimi olur. NaCl nedeniyle üretilen H₂O₂, hücre içi K⁺/Na⁺ homeostasisini, plazma membranı H⁺-ATPaz aktivitesini ve protein fazlalığının düzenlenmesine yardımcı olur (Sun et al., 2009).

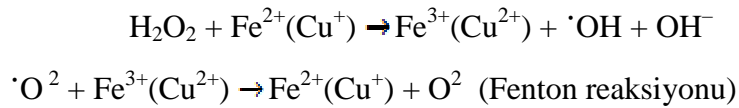
Hidroksil radikali (OH[•]) ise (1ms)'den daha kısa ömürlüdür. Oluştığı bölgeden farklı bölgelere difüzyon yapamaz. Bu nedenle genelde olduğu bölgede aktiftir. Diğer radikallere göre toksik etkisi daha fazladır. Bu enzimin süpürülmesinde herhangi bir antioksidan enzim rol oynamaz. Kloroplastlarda doğrudan üretilmez. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit Haber-Weiss reaksiyonları ile veya Fenton reaksiyonları aracılığıyla hidroksil radikalini oluştururlar.

·O₂⁻ ve H₂O₂'nin toksik etkileri Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu süresince metal iyonları ile etkileşime geçtiklerinde gerçekleşir.

Normal koşullar altında Haber-Weiss reaksiyonu çok yavaş ilerler ve az miktarda OH radikali oluşturur.



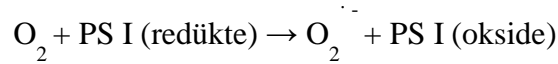
Fenton reaksiyonlarında da hidroksil radikali az miktarda oluşmaktadır. Biyolojik sistemlerde bu reaksiyon, Fe⁺² ve Cu⁺ iyonları gibi geçiş metallerinin varlığında gerçekleşir.



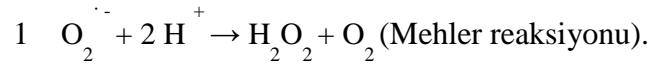
1.4.1. Kloroplastlarda ROS Oluşumu

Kloroplastlar, ROS'un en çok oluştuğu organellerden birisidir. Kloroplast tillakoidlerinde fotosistem I (PS I) ve fotosistem II (PS II) reaksiyon merkezi, ROS üretiminin yapıldığı temel yerlerdir (Miller, 2010). Superoksit, tillakoid zarının her 2 yanında olur. Abiyotik stres koşulları, CO₂'nin bağlandığı ve NADPH'ın yükseltgendiği Calvin döngüsünü bozar. Karbon bağlanması sırasında indirgeyici (NADPH) redoks durumundaki dengesizlik, elektronların alternatif alıcılara geçmesine neden olur. NADP⁺ miktarındaki eksiklik elektronları superoksit oluşturmak üzere O₂ tarafından yakalanmaları ile sonuçlanır. Bitki hücresindeki birçok ROS, kloroplasttaki Mehler reaksiyonları sırasında elektron transfer zincirinde moleküler oksijene tek bir elektron transferiyle oluşan superoksitin parçalanması ile oluşur. Ayrıca süperoksit radikalinin nötr pH'da hidrojen peroksit'e parçalanması sonucu kloroplastta değişen pH, burada O₂ oluşmasına kanıt olarak gösterilir.

Fotosistem I'de yer alan FeS merkezlerinin redoks potansiyeli oksijenden tek değerli O₂^{·-} radikali üretecek kadar düşüktür.



Süperoksit, stromada bulunan süperoksit dismutaz (SOD) ile katalizlenerek H₂O₂ ve O₂'ye parçalanması sağlanır (Asada et al., 1973).



1.4.2. Mitokondride ROS Oluşumu

Mitokondride kloroplast ve peroksizomlara oranla daha az miktarda ROS oluşumu gözlenir. Çünkü alternatif oksidazlar (AOX), ubikinon ile O₂'nin tetravalent redüksiyonunu katalizler. AOX, elektronlar için sitokrom

bc1 kompleksi ile yarışır. Bu da mitokondride ROS üretimini azaltır. Mitokondride ETS yer alan kompleks I ve kompleks II, ROS üretiminin yapıldığı temel bölgelerdir (Moller et al.,2001; Rhoads et al., 2006; Moller 2007).

Mitokondride ROS üretimi, özellikle kuraklık tuzluluk gibi stres koşulları altında artar.

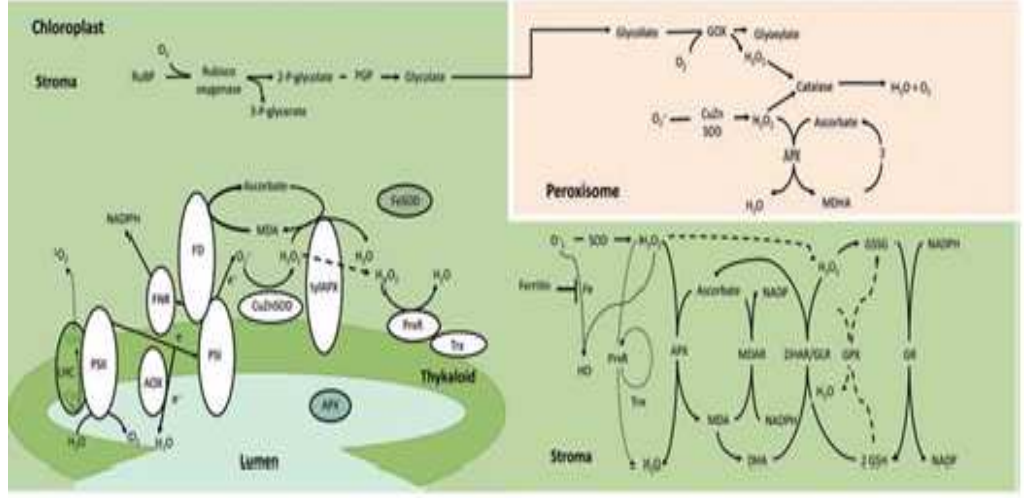
1.4.3.Peroksizomlarda ROS Oluşumu

Peroksizomların bitki hücrelerindeki en önemli görevi fotorespirasyondur. Metabolik işlemler sonucunda yüksek oranlarda H_2O_2 ve O_2^- üretilir. Üretilme ve süpürülme arasındaki hassas dengeye göre bu işlem düzenlenir. Azalan su kapasitesi ve stoma kapanması mezofil hücrelerinde CO_2 / O_2 oranını düşürür ve kloroplastta glikolat üretimini ve fotorespirasyonu artırır (Miller, 2010). Oluşan glikolat peroksizomlara taşınarak glikolat oksidaz (GOX) tarafından glioksilit asit oluşur. Fotorespirasyon sırasında glioksilatın, glioksilik aside okside olması ile H_2O_2 üretilir. Peroksizomlarda diğer H_2O_2 üretim kaynakları; yağ asidinin β -oksidasyonu, flavin oksidaz yolu ve süperoksit radikallerinin dismutasyonudur. Kuraklık tuzluluk gibi çevresel stresler redoks durumunu etkiler, antioksidan mekanizmaları engeller ve peroksizomlarda ROS üretimini artırır (Rio et al., 1999, Mittova et al., 2003)

1.4.4.Apoplastta ROS Oluşumu

Son yıllarda yapılan çalışmalar apoplastta da hidrojen peroksit üretiminin gerçekleştiğini göstermiştir. Apoplastik boşlukta oluşan H_2O_2 lignifikasyon olaylarında temel rol oynar. Kuraklık ve tuzluluk gibi çevresel streslere tepki olarak H_2O_2 'nin üretildiği önemli bir bölgedir. Apoplasttaki H_2O_2 artışı, bitkilerin tuz ve kuraklık stresine verdikleri alışma yanıtlarında önemlidir. Plazma membranına bağlı NAD(P)H oksidazlar da süperoksit radikali ve hidrojen peroksit üreten enzimlerdir (Sagi, 2006). Ayrıca oksidatif yanma olarak adlandırılan apoplastik ROS birikimi, patojen

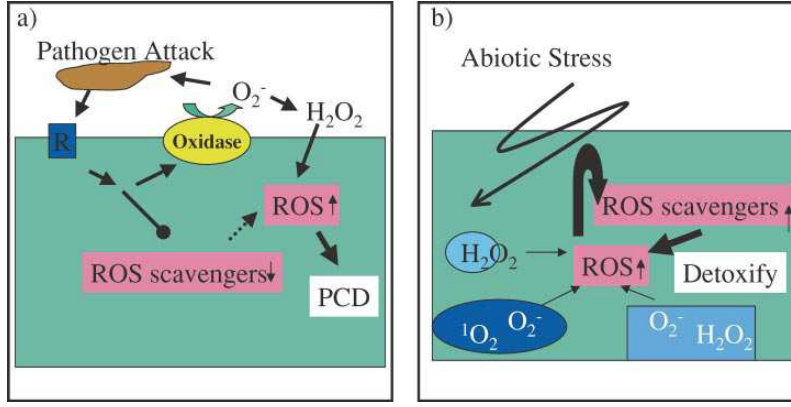
saldırısına karşı cevap oluşturur, hücre gelişimi ve ölümünü düzenler (Gapper, 2006).



Şekil 1.1. Bitki hücresinde kloroplast ve mitokondri de ROS oluşumu ve süpürülmesi (Miller et al.'den, 2010)

1.5.ROS'ların Antioksidan Enzim Sistemi ile Yok Edilmesi

Bitkiler ROS'ları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile süpürürler. Enzimatik antioksidanlar askorbat peroksidaz (APX), süperoksit düsmutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), peroksidaz (POX)'dır. Enzimatik olmayan antioksidanlarda glutatyon (GSH), askorbik asit (AsA), alfa tokoferoller, karetenoidler ve flavanoidlerdir.



Şekil 1.2. Bitki hücresinde biyotik ve abiyotik stres ile ROS'ların oluşumu ve süpürülmesi (Miller et al.'den, 2010)

1.5.1.Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi

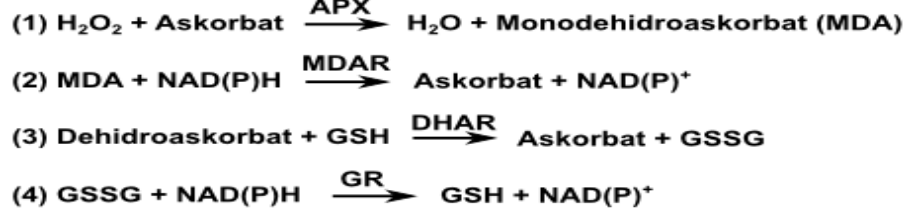
Bitkilerde metabolik süreçlerde oluşan $O_2^{\cdot -}$ radikalinin toksik etkilerine karşı ilk savunma hattını süperoksit dismutaz (SOD; EC 1. 15. 1.1) oluşturur. ROS'un ilk kaynağı olan süperoksit radikalleri hızla süperoksit dismutaz enzimi tarafından oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüştürülür. pH 2 dolaylarındadır. Spontane gelişen dismutasyona göre 10000 kat daha hızlıdır. Bütün aerobik organizmalarda bulunur. SOD, aktif bölgesinde taşıdığı kofaktöre göre isimlendirilir. MnSOD, FeSOD ve CuZnSOD olmak üzere 3 sınıfa ayrılır. SOD izozimleri farklı hücre bölmelerinde yer alır. FeSOD prokaryotlarda, alglerde ve yüksek bitkilerin kloroplastlarında (stroma), MnSOD mitokondri ve peroksizomlarda (Babito et al., 2002), CuZnSOD ise sitoplazma ve tillakoyidlerde ve hücreler arası boşlukta bulunur (Bowler et al., 1992; Tanaka et al., 1985, 1999). MnSOD aktivitesi NaCl uygulaması ile artar. MnSOD, ROS'ların süpürülmesinin başlangıç aşamasında $O_2^{\cdot -}$ 'yi H_2O_2 'ye dönüştürür.

1.5.2.Askorbat peroksidaz (APX) enzimi

Hidrojen peroksitle askorbatın oksidasyonunu katalizleyen askorbat peroksidazlar (APX; EC 1.11.1.11), askorbat glutatyon döngüsünün enzimidir. Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom ve apoplastta,

askorbik asidi (AsA) dehidroaskorbata dönüştürerek H_2O_2 birikimini durdurur (Jimanez et al.,1997; Yoshimura et al., 2000; Diaz-Vivancos et al., 2006).

Askorbat-Glutasyon Döngüsü:



Askorbatın H_2O_2 ' ye askorbat tarafından detoksifiye olması, askorbatın MDA'ya okside olması ile gerçekleşir. MDA, indirgeyici olarak NAD(P)H kullanarak, MDA redüktaz (MDAR) vasıtasıyla yeniden askorbat oluşturur. MDA spontane bir şekilde dehidroaskorbata dismute olabilir. Askorbatın yeniden üretimi GSH'ın GSSG'ye dehidroaskorbat redüktaz varlığında oksidasyonu ile düzenlenir. Sonunda glutasyon redüktaz, NAD(P)H'ı indirgeyici ajan olarak kullanarak, GSSG'den GSH üretir (Apel and Hirt, 2004).

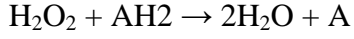
1.5.3.Katalaz (CAT) enzimi

Katalaz enzimleri (EC 1.11.1.6) nükleer genler tarafından kodlanan çoklu izozimler olan tetramerik homoproteinlerdir. Genellikle peroksizom ve glioksizomlarda yer alırlar., sadece spesifik izozim Cat3 mısır mitokondrisinde yer alır (Scandolios et al., 1997). Katalaz H_2O_2 için spesifiktir. Oksidatif stres toleransı için gereklidir.



1.5.4.Peroksidaz (POX) enzimi

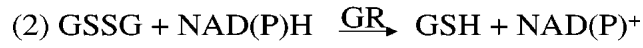
Peroksidazlar (POX; EC 1.11.1.7), hayvan bitki ve mikroorganizmalarda bulunan hidrojen peroksit ile çeşitli indirgeyicilerin arasında indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzim sınıfıdır.



Peroksidazların 3 sınıfı bulunmaktadır. Askorbat peroksidaz ve sınıf 3 bitki peroksidazları (guasiol tip peroksidazlar; GPX), antioksidan sistemle ilgili olan önemli bitki peroksidazlarıdır.

1.5.5. Glutatyon peroksidaz

İndirgeyici ajan olarak glutatyonu kullanan peroksidazlardır (GPX; EC 1.11.1.7). H_2O_2 'i, organik hidroperoksitleri ve lipid peroksitlerin indirgenmesini katalize eder ve bitkileri oksidatif hasara karşı korurlar. Sitosolde, vakuolde ve hücre duvarında yer alırlar.



2. MATERYAL VE METHOD

2.1 Bitki Materyali ve Yetiştirilmesi

Bitki materyali olarak Beith Alpha ve Sardes salatalık çeşitleri kullanıldı. Bir haftalık fideler saf su ile yıkanmış perlitler ile doldurulmuş saksılara ekildi. Salatalık fideleri literatürde salatalık için özellikle önerilen Enshi besin solüsyonu kullanılarak büyütüldü. Serada kontrollü koşullarda (16 saat ışık/ 8 saat karanlık, 25/23 °C sıcaklık, nem oranı % 70, 350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda), yetiştirilen bitkiler stres uygulandıktan 21 gün sonra hasat edildi.

2.2 Bitki materyaline biyotik ve abiyotik stres uygulaması

Deneme deseni, 6 gruptan oluşturuldu. Bu gruplar; kontrol grubu, 50 mM NaCl uygulanan grup, 100 mM NaCl uygulanan grup, biyotik stres uygulanan grup, biyotik stres ile birlikte 50 mM NaCl uygulanan grup, biyotik stres ile birlikte 100 mM NaCl uygulanan grup. Salatalık fidelerinde biyotik stres oluşturmak için *Pseudoperonospora cubensis* patojeni kullanıldı. Patojen içeren solüsyon yapraklara püskürtülerek uygulandı. Patojenin etkili olması için ortam nemlendirildi.

2.3 Büyüme Parametreleri

Beith Alpha ve Sardes'in 21 günlük fideleri biyotik ve abiyotik stres uygulamasının 0, 7 ve 14. günlerinde hasat edildi. Büyüme parametreleri için her gruptan 3 adet bitki alınarak, bitkilerin gövdelerinin ve köklerinin uzunlukları ölçüldü ve yaş ağırlıkları (YA) alındı. Etüvde 70 °C 'de 72 saat bekletilen örnekler tartıldıktan sonra kuru ağırlıkları belirlendi.

2.4 Fotosentetik Verim (Fv/ Fm; Klorofil Flüoresans) Ölçümü

Klorofil flüoresans ölçümleri, her bir gruptan 3 ayrı bitkinin yapraklarında yapılmıştır. Flüoresans ölçümlerinden önce, yaprak üst

yüzeyindeki 1 cm² 'lik alan 30 dakika boyunca yaprak klipsleri vasıtasıyla karanlığa alıştırıldı. Bir bitki verim analizi Plant efficient analyser cihazı(LICOR, Lincoln, NE) kullanılarak yaprakların doygun ışık demetine maruz bırakılmasıyla, değişken olmayan bazal klorofil flüoresansı (*F_o*), maksimum flüoresans uyarılması (*F_m*), değişken flüoresans (*F_v*) ve *F_v/F_m* oranları (LICOR, Lincoln, NE) belirlendi. İki farklı salatalık çeşidinin streslere gösterdiği yanıtların karşılaştırılmasında özellikle PS-II'nin fotokimyasal verimi (maksimum kuantum verimi, *F_v/F_m*) dikkate alındı.

2.5 Yapraklarda Bağlı Su Miktarı (RWC)

Stres uygulamasının 0., 7. ve 14. günlerinde her gruptaki bitkilerin yaklaşık olarak eşit boyuttaki yapraklarından 3'er örnek alınarak yaş ağırlıkları (YA) ölçüldü. Daha sonra yapraklar 5 saat boyunca düşük ışık altında dH₂O bulunan kaplarda bekletilerek turgorlu hale geçmeleri sağlandı. 5 saatin sonunda turgorlu yapraklar sudan alınarak tartıldı ve turgorlu ağırlıkları (TA) belirlendi. Tartılan yaprak örnekleri 48 saat 70 °C de etüvde kurutulduktan sonra, kuru ağırlıkları (KA) belirlendi. Her gruba ait yaprak örneklerinin RWC değerleri Smart and Bingham (1974) 'ın aşağıda verilen formülüne göre hesaplandı.

$$RWC (\%) = [(Yaş\ ağırlık - Kuru\ ağırlık) / (Turgorlu\ ağırlık - Kuru\ ağırlık)] \times 100$$

2.6 Yaprak Ozmotik Potansiyeli

Yapraktaki ozmotik potansiyel Wescor 5500 marka osmotik potansiyel sistem cihazı ile ölçüldü. Her gruptan 3 ayrı bitki örneğinin osmotik potansiyel ölçümü gerçekleştirildi. Ölçümler mmol kg⁻¹ olarak yapıldı ve Santa-Cruz et al. (2002)'a göre 2.408×10⁻³ katsayısı ile çarpılarak Mpa'ya çevrildi.

2.7 Yapraklarda Prolin Miktarı

Serbest prolin miktarı Bates et al. (1973)'a göre belirlendi. Her bir gruptan alınan 0,5 gr'lık örnekler %3'lük (w/v) sülfosalisilik asit ile homojenize edildi. Homojenat Watman No:2 filtre kağıdından süzdürüldü. Asit ninhidrin ve glasiyel asetik asit eklendikten sonra elde edilen karışım 100 °C'de 1 saat su banyosunda bekletildi. Su banyosundan çıkarılan tüpler buz banyosuna alınarak, reaksiyon durduruldu. Bu karışıma 4 ml toluen eklenerek sıvı fazdan aspire edilen toluen fraksiyonununun 520 nm'deki absorbansı spektrofotometrede kuvarz küvetlerde okundu. Prolin konsantrasyonu, kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplandıktan sonra nmol/g taze ağırlık olarak ifade edildi.

2.8 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.8.1 Enzim ekstraktlarının hazırlanması

Hasat edilen Beith Alpha ve Sardes fideleri hemen sıvı azotta dondurulup, biyokimyasal analizlerin yapılacağı zamana kadar -80 °C 'de muhafaza edildi. SOD, CAT, POX, APX ve GR enzimlerinin ekstraksiyonu için -80 °C'de saklanmakta olan yapraklar, soğutulmuş havanda sıvı azot yardımıyla, %2 (w/v) polivinilpolipirrolidon (PVPP) ve 1 mM EDTA içeren 0,05 M sodyum fosfat tamponuyla (pH 7,8) homojenize edilmiştir. APX ekstraksiyonu için 2 mM askorbat içeren homojenizasyon tamponu kullanıldı (pH 7,8). Homojenat 4 °C'de 14.000 rpm'de 40 dk santrifüj edildi ve oluşan süpernatant enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosedürünün tümü ± 4 °C'de gerçekleştirildi. Tüm spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV-1600 ile yapıldı (Shimadzu, Japan).

2.8.2 Süperoksit dismutaz (SOD; süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz, EC 1.15.1.1) aktivitesinin tayini

SOD aktivitesinin tayini Beauchamp ve Fridowich (1971)'e göre yapıldı. SOD aktivitesi, SOD' un fotokimyasal olarak nitro blue tetrazolium'un (NBT) indirgenmesi esasına dayalı method ile belirlendi. 3ml reaksiyon karışımı; 50 mM fosfat tamponu (pH 7,8), 33 mM NBT, 10m M L-metionin, 0,66 mM EDTA.Na₂, 0,0033 mM Ribofilavin içermektedir. Süpernatant seyreltildi ve karışım 10 dakika 300 mmol m² s⁻¹ ışık şiddeti altında bekletildi ve daha sonra reaksiyon karışımının 560 nm'de verdiği absorbans değerleri okundu. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin %50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) olarak tanımlandığından, yaprak örneklerindeki SOD aktiviteleri buna göre belirlendi.

2.8.3 Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) aktivitesinin tayini

Total katalaz (CAT) enzim aktivitesi tayini Bergmeyer (1970)' in yöntemine göre gerçekleştirildi. Katalaz tayini 240 nm 'de enzim tarafından dakikada yıkılan H₂O₂ miktarının spektrofotometrik olarak incelenmesine dayanır. Maksimum absorbanstaki düşüş, katalaz aktivitesini tayin eder. Reaksiyon karışımı ; 0,1 mM EDTA, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH:7), dI-H₂O ve % 0,3 H₂O₂'den oluşmaktadır ve son hacmi 1 ml olan kuvarz küvetlerde okuma yapılır. Reaksiyon boyunca absorbansta olan düşüş 180 saniye süresince gözlemlendi ve 1 birim CAT aktivitesi dakikada harcanan µmol H₂O₂ olarak ifade edildi.

2.8.4 Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesinin tayini

APX aktivitesinin tayini Nakano ve Asada (1981) yöntemine göre yapıldı. Askorbat okside oldukça, spektrofotometrede 290 nm'de absorbansta oluşan düşme kaydedildi ve hesaplamalar askorbatın

ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yapıldı. Reaksiyon karışımı 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7), 0,5 mM askorbat, 0,1 mM EDTA Na_2 ve %35'lik H_2O_2 'den oluşmaktadır. Askorbatın oksidasyonu kuvartz küvetlere enzim ekstraktının eklenmesiyle başladı ve absorbanstaki düşüş 180 sn boyunca izlendi. 1 birim APX aktivitesi dakikada okside olan 1 mmol ml^{-1} askorbatı ifade etmektedir.

2.8.5 Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) aktivitesinin tayini

Peroksidaz (POX) aktivitesi Herzog ve Fahimi (1973)'nin tanımladığı yöntemle göre belirlendi. POX aktivitesi 465 nm'de 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB)'in oksidasyonu ile absorbansta meydana gelen artış köre karşı 180 saniye boyunca izlenerek hesaplandı. Reaksiyon karışımı; DAB solüsyonu, % 0,6'lık H_2O_2 , dI- H_2O ve enzim ekstraktından oluşmaktadır. H_2O_2 'nin ilave edilmesiyle başlayan reaksiyonda absorbanstaki artış izlendi. Bir birim enzim aktivitesi dakikada tüketilen $\mu\text{mol ml}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ olarak ifade edildi.

2.8.6 Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesinin tayini

Glutasyon redüktaz aktivitesi, Foyer ve Halliwell (1976) yöntemine göre belirlendi. 340 nm'de absorbansta okside glutasyon miktarındaki azalma kuvartz küvette, köre karşı 3 dakika süresince izlendi. Hesaplamalar glutasyon redüktaz enziminin ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($6,2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yapıldı. Bir enzim ünitesi dakikada okside olan 1 mmol ml^{-1} glutasyon miktarıdır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein^{-1} olarak belirtildi.

2.9 Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Total protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre bovine serum albumin (BSA) standartları kullanılarak saptandı. Örneklerin protein

miktarları, son hacim 1 ml olacak şekilde polistren küvetlerde 595 nm'de okundu.

2.10 Lipit Peroksidasyonu

Yapraklarda meydana gelen lipit peroksidasyon derecesinin belirlenmesi için, lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesi ölçüldü. MDA miktarı Madhava (2000) yöntemine göre belirlendi. Trikloroasetik asit (TCA) ile homejenize edilen 0,5 gr yaprak örneği 10000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant enzim aktivitesi için kullanıldı. 1ml'lik süpernatanta 4 ml TBA ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlendikten sonra deney tüpleri 100 °C de 30 dakika ısıtıldı. Karışım 10000 rpm de 15 dakika santrifüjlenildikten sonra oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri okundu. MDA konsantrasyonu ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yardımıyla hesaplandı. Tüm ölçümler 6 tekrarlı yapıldı.

3. SONUÇLAR

3.1 Büyüme Parametreleri

3.1.1 Kök Uzunluğu

Beith Alpha ve Sardes salatalık çeşitlerinin NaCl ve *P. cubensis* biyotik stresi uygulamalarının büyüme parametreleri üzerindeki etkileri, stres uygulamasının 0., 7. ve 14. günlerinde kaydedilmiştir. Her iki çeşidin kontrol gruplarında 14. günün sonunda kök uzunlukları belirgin bir şekilde arttı. NaCl stresi uygulanan gruplarda ise 7. günde 50 ve 100 mM NaCl uygulaması, her iki çeşidin kök uzunluğunu aynı oranda azalttı. 50 mM NaCl'de yaklaşık %17, 100 mM NaCl'de yaklaşık % 21 azalma gözlenmiştir. 14. günde ise 50 mM NaCl stresinde %25, 100 mM NaCl stresinde %26 azalma olmuştur. NaCl stresi uygulamasının 14. gününde Sardes çeşidinin kök uzunluğu 50 mM NaCl'de %14, 100 mM NaCl uygulaması kök uzunluğunu sırasıyla %23 ve %24 oranında azalttı (Çizelge 3.1).

Diğer yandan biyotik strese maruz kalan gruplarda Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök uzunluğu 7. günde çok etkilendi. Sardes çeşidinde biyotik stres+ 50 mM NaCl uygulanan grupta kök uzunluğu %39 azaldı. 14. günde yalnız biyotik stres uygulanan gruplarda kök inhibisyonu iki çeşitte de aynı oranda olduğu gözlemlendi. Beith Alpha çeşidinin biyotik stres ve NaCl'ün birlikte uygulandığı gruplarında ise kök uzunluğundaki azalmanın yaklaşık aynı oranda olduğu saptandı.

Çizelge 3.1. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök uzunluğu (cm)'nda gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	12,53 \pm 0,057	21,5 \pm 1,32	26,33 \pm 1,75	20,7 \pm 2,23	36,5 \pm 2,78	40,2 \pm 5,9
50mM NaCl		17,66 \pm 1,5	22,66 \pm 2,12		30,16 \pm 0,28	30,83 \pm 1,7
100mM NaCl		17,05 \pm 0,5	21,83 \pm 0,76		28,86 \pm 0,23	30,5 \pm 0,70
Biyotik stres		15,46 \pm 0,83	21,6 \pm 0,1		25,16 \pm 1,892	32,46 \pm 3,12
Biyotik stres +50mM NaCl		13 \pm 1,77	21,76 \pm 1,56		28 \pm 2	31 \pm 0,50
Biyotik stres +100mM NaCl		15,7 \pm 2,8	20,3 \pm 1,92		28,5 \pm 3,8	30,8 \pm 1,45

3.1.2 Kök Yaş Ağırlığı

NaCl ve *P.cubensis* biyotik stresi etkisi altında kalan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin uygulamalara bağlı olarak kök yaş ağırlıklarında gözlenen değişimler çizelge 3.2'de verilmiştir. Sardes çeşidinde kök yaş ağırlığı 7. günde 50 mM NaCl'de %12, 100 mM NaCl'de ise %13'lük bir azalma gösterdi. Yine aynı çeşitte 14. günde 50 mM NaCl uygulanan bitkilerde kök yaş ağırlığında %23'lik bir azalma, 100 mM NaCl'de %24'lük bir azalma olduğu görüldü. Beith Alpha çeşidinde ise 7. gün 50 ve 100 mM NaCl uygulanan gruplarda kök yaş ağırlığında %20-25 azalma gözlemlendi. Beith Alpha çeşidinde 100 mM NaCl uygulanan grubun da kök yaş ağırlığı %40 azaldı.

Biyotik stres ve biyotik stresle NaCl stresinin birlikte uygulandığı gruplarda ise diğer gruplara göre kök ağırlığındaki azalmanın genellikle daha çok olduğu gözlemlendi. 7. günde Sardes çeşidinde biyotik stres uygulanan grupta kök yaş ağırlığında %27, 50 mM tuz uygulanan grupta

%29, biyotik stresle birlikte 100 mM tuz uygulanan grupta %41 azalma gözlemlendi. Aynı bitkide stres uygulamasının 14. gününde ise biyotik stres uygulanan grubun kök yaş ağırlığında %30, biyotik stres+50 mM NaCl uygulanan grupta %32, biyotik stres+100 mM NaCl uygulanan grupta ise %46 azalma gözlemlendi. Beith Alpha çeşidinde 7. günde biyotik stres ve biyotik stres+50 mM NaCl uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre belirgin bir farklılık olmazken, biyotik stresle birlikte 100 mM NaCl uygulanan grupta kök yaş ağırlığı %15 azaldı. 14. günde ise Beith Alpha çeşidinde kök yaş ağırlığında biyotik stres uygulanan grupta %12, biyotik stres+50 mM NaCl uygulanan grupta %23, biyotik stres+100 mM NaCl uygulanan grupta %27 azalma gözlemlendi.

Çizelge 3.2. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	4,11 \pm 0,595	7,41 \pm 2,59	8,81 \pm 1,033	4,845 \pm 0,558	6,943 \pm 2,43	8,59 \pm 1,17
50mM NaCl		6,48 \pm 1,23	6,96 \pm 1,16		5,546 \pm 1,58	6,43 \pm 2,11
100mM NaCl		6,43 \pm 0,89	6,54 \pm 1,116		5,31 \pm 1,60	6,11 \pm 0,75
Biyotik stres		5,15 \pm 0,92	6,4 \pm 0,8		5,14 \pm 0,48	5,88 \pm 2,17
Biyotik stres +50mM NaCl		4,26 \pm 0,16	6,19 \pm 1,81		6,3 \pm 0,37	6,56 \pm 1,12
Biyotik stres +100mM NaCl		4,15 \pm 0,93	5,2 \pm 1,36		5,84 \pm 0,48	6,2 \pm 0,34

3.1.3 Kök Kuru Ağırlığı

Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kontrol ve deney gruplarının kök kuru ağırlıklarında oluşan değişimler çizelge 3.3'te verilmiştir. Sardes ve Beith Alpha çeşidinin kök kuru ağırlığı, stres uygulanan gruplarda kontrol

gruplarına göre belirgin olarak azaldı. Uygulamalar sonucunda kök kuru ağırlığında uygulamanın süresi arttıkça azalmalar gözlenmektedir. Aynı şekilde Beith Alpha'nın da deney grupları kontrole göre azalmıştır. Beith Alpha çeşidinin 7. günde 100 mM NaCl'de %16 azalma gözlenirken biyotik stresle birlikte 100 mM NaCl uygulanan grupta değişim %37 oranında olmuştur. Biyotik stres uygulaması bitkinin kök ağırlığında belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Her iki grupta da uygulama süresinin ve uygulama şiddetinin artması kök kuru ağırlıklarının azalmasına neden olmuştur.

Çizelge 3.3.7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kök kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	0,41 \pm 0,02	0,64 \pm 0,39	0,68 \pm 0,06	0,36 \pm 0,11	0,53 \pm 0,26	0,66 \pm 0,21
50mM NaCl		0,56 \pm 0,19	0,6 \pm 0,1		0,49 \pm 0,17	0,51 \pm 0,06
100mM NaCl		0,51 \pm 0,1	0,55 \pm 0,11		0,44 \pm 0,02	0,45 \pm 0,05
Biyotik stres		0,48 \pm 0,12	0,49 \pm 0,21		0,42 \pm 0,09	0,34 \pm 0,08
Biyotik stres +50mM NaCl		0,42 \pm 0,04	0,41 \pm 0,19		0,35 \pm 0,07	0,39 \pm 0,09
Biyotik stres +100mM NaCl		0,44 \pm 0,08	0,33 \pm 0,11		0,33 \pm 0,01	0,37 \pm 0,07

3.1.4 Gövde Uzunluğu

Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin stres uygulamalarına bağlı olarak gövde uzunluğunda meydana gelen değişiklikler çizelge 3.4'te verilmiştir. Sardes'te gövde uzunluğu 7. günde NaCl'nin 50 mM uygulanması ile %9, 100 mM uygulanması ile %22 azalmıştır. Sardes çeşidinin biyotik stres gruplarında 7. günde yalnız biyotik stres uygulanan grupta %24, biyotik stresle eş zamanlı 50 mM NaCl uygulanan grupta ise %40 azalma

gözlenmiştir. Uygulamanın 14. gününde ise Sardes'te 100 mM NaCl uygulamasında gövde uzunluğunda % 26'lık azalma ile belirgin bir düşüş meydana gelmiştir. Beith Alpha'da ise gövde uzunluğundaki değişimler 7. günde 50 ve 100 mM NaCl stresinde aynı oranda olmuştur. Beith Alpha çeşidinde 7. günde biyotik stres ile gövde uzunluğu %33 azaldı. Bitkinin 14. gün gruplarında gövde yaş ağırlığına bakıldığında ise 50 mM NaCl uygulaması sonucunda kontrol gruplarına göre %26 azalma, 100 mM NaCl ise %28'lik azalma meydana gelmiştir. Beith Alpha'da da 50 ve 100 mM NaCl uygulaması kontrol grubuna göre gövde yaş ağırlığını %9 oranında azalmıştır.

Çizelge 3.4. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin gövde uzunluğu (cm)'nda gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	23,03 \pm 1,5	29 \pm 2,64	30,5 \pm 0,5	28,96 \pm 1,05	34,5 \pm 0,96	33,1 \pm 4,28
50mM NaCl		26,1 \pm 2,75	29,06 \pm 0,86		31.3 \pm 1,15	29,86 \pm 0,4
100mM NaCl		22.5 \pm 0,19	28,26 \pm 0,75		31 \pm 1	29,96 \pm 1,12
Biyotik stres		21,9 \pm 0,65	21,26 \pm 1.19		23 \pm 1	27,83 \pm 0,73
Biyotik stres +50mM NaCl		17,33 \pm 2,08	23 \pm 0,76		24,33 \pm 0,57	28,16 \pm 1,44
Biyotik stres +100mM NaCl		23 \pm 0,86	25,6 \pm 0,43		26,5 \pm 1,32	29,16 \pm 0,96

3.1.5 Gövde Yaş Ağırlığı

Sardes çeşidinin kök ağırlıklarına bakıldığında NaCl uygulama miktarının değişmesi ile gövde yaş ağırlığında belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. Sardes çeşidinin gövde yaş ağırlığı *P. cubensis* biyotik stres uygulaması yapılan gruplarda 50 mM NaCl uygulaması ile 7. ve 14.

günlerde sırasıyla %48 ve % 39 azalma gözlenmiştir (Çizelge 3.5). Beith Alpha çeşidinde ise gövde yaş ağırlığında 7. günde 50 mM NaCl uygulaması %38, 100 mM NaCl uygulaması %31, biyotik stres uygulaması %44, biyotik stres ile eşzamanlı 50 mM NaCl uygulaması %39, 100 mM NaCl uygulaması ile %40 azalma belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin gövde yaş ağırlığında (gr) gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	7,21 \pm 0,22	13,57 \pm 3,76	20,4 \pm 10,96	14,02 \pm 2,16	21,11 \pm 2,06	25,38 \pm 4,87
50mM NaCl		10,6 \pm 1,04	15,15 \pm 3,82		13,03 \pm 2,71	15,62 \pm 2,6
100mM NaCl		10,07 \pm 0,68	14,54 \pm 2,57		14,46 \pm 2,73	19,59 \pm 5,17
Biyotik stres		9,53 \pm 0,35	9,75 \pm 1,34		11,8 \pm 1,8	17,89 \pm 4,47
Biyotik stres +50mM NaCl		6,99 \pm 0,73	12,18 \pm 2,58		12,73 \pm 0,65	16,13 \pm 2,67
Biyotik stres +100mM NaCl		10.41 \pm 0,6	13,6 \pm 1,6		12,63 \pm 2,23	17,1 \pm 1,27

3.1.6 Gövde Kuru Ağırlığı

Kuru ağırlıklar da aynı şekilde fazla etkilenmemiştir. Kuru ağırlıklarındaki azalma miktarı kontrol grubuna göre aynı oranda kalmıştır. Sardes çeşidinin gövde kuru ağırlığındaki azalmalar 7. günde uygulanan stresler ile birlikte %22-24 arası olmuştur. Beith Alpha çeşidinde ise gövde kuru ağırlığı 7. günde % 14-20 arası 14. günde ise %30- 44 arasında azalmıştır.

Çizelge 3.6. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres+100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin gövde kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	0,52 \pm 0,007	0,87 \pm 0,21	1,02 \pm 0,06	1,303 \pm 0,03	1,03 \pm 0,03	1,8 \pm 0,28
50mM NaCl		0,67 \pm 0,08	0,873 \pm 0,2		0,88 \pm 0,17	1,13 \pm 0,16
100mM NaCl		0,63 \pm 0,02	0,82 \pm 0,43		0,78 \pm 0,19	1,31 \pm 0,25
Biyotik stres		0,61 \pm 0,04	0,78 \pm 0,05		0,72 \pm 0,08	1,25 \pm 0,28
Biyotik stres +50mM NaCl		0,56 \pm 0,27	0,81 \pm 0,15		0,79 \pm 0,07	1,01 \pm 0,19
Biyotik stres +100mM NaCl		0,65 \pm 0,09	0,88 \pm 0,06		0,80 \pm 0,13	1,21 \pm 0,13

3.2 Fotosentetik Verim (Fv/Fm;Klorofil Flürosansı)

NaCl, biyotik stres ve biyotik stres+NaCl uygulanan tuz stresi altındaki Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin fotosentetik veriminde (Fv/Fm) ölçülen değişimler çizelge 3.7'de verilmiştir. Her iki salatalık çeşidinde de stres uygulanan grupların Fv/Fm değerlerinde anlamlı bir fark saptanamadı.

Çizelge 3.7. 7 ve 14 gün süreyle 50 mM ve 100 mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres +100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha bitkilerinin fotosentetik verimindeki değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir .

GRUPLAR	SARDES(fv/fm)			Beith Alpha		
	0. Gün	7. Gün	14. Gün	0. Gün	7. Gün	14. Gün
Kontrol	835 \pm 3,46	833,33 \pm 5,50	829,66 \pm 8,6	835,66 \pm 3,05	821,66 \pm 13,6	827,66 \pm 10,12
50mM NaCl		834,3 \pm 9,01	808,66 \pm 2,5		827,66 \pm 2,88	833,33 \pm 5,77
100mM NaCl		830,33 \pm 8,74	822,3 \pm 5,51		829,66 \pm 9,1	830 \pm 15,71
Biyotik stress		832,33 \pm 12,22	837 \pm 6,25		831,66 \pm 5,13	839,33 \pm 9,61
Biyotik stres+50mM NaCl		838,66 \pm 16,26	830 \pm 1		834,33 \pm 2,8	841,66 \pm 1,52
Biyotik stres+100mM NaCl		848,33 \pm 7,5	843,3 \pm 2,31		851 \pm 21,65	838,66 \pm 12,74

3.3 Bağlı Su İçeriği (RWC)

Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin kontrol ve deney gruplarında bağlı su içeriğindeki değişimler çizelge 3.9'da gösterilmiştir. Buna göre uygulamanın 7. gününde stres miktarının artması ile bitkinin bağlı su içeriğinde düşme gözlenmiştir. Özellikle biyotik stresin de etkili olduğu gruplarda bu düşüş daha belirgin olmuştur. 14. günde ise bağlı su içeriklerindeki düşme miktarı, 7. güne göre daha az olmuştur.

Beith Alpha çeşidinde uygulamanın 7. gününde 100 mM NaCl uygulanan grup ile biyotik stres gruplarında bağlı su içeriğinde %5'lik bir azalma gözlenmiştir. 14. günde ise bağlı su içeriği kontrole göre tüm gruplarda artmıştır. bu artış genellikle %6-9 arasında gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.8. 7 ve 14 gün süreyle 50 mM ve 100 mM NaCl, biyotik, biyotik stres+50 mM NaCl ve biyotik stres +100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin yaprak bağıl neminde (RWC) gözlenen değişimler. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir .

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	89,09 \pm 3,79	89,9 \pm 5,16	92,39 \pm 3,76	84,07 \pm 3,74	84,62 \pm 4,39	82,34 \pm 5,81
50mM NaCl		88,59 \pm 5,7	90,55 \pm 4,27		86,11 \pm 5,72	89,7 \pm 1,73
100mM NaCl		83,02 \pm 4,07	89,61 \pm 6,2		80,38 \pm 3,12	87,24 \pm 1,88
Biyotik stres		81,28 \pm 11,3	88,42 \pm 1,45		80,5 \pm 3,47	83,74 \pm 1,9
Biyotik stres +50mM NaCl		85 \pm 3,98	89,86 \pm 4,62		85,79 \pm 1,9	87,3 \pm 4,32
Biyotik stres +100mM NaCl		82,31 \pm 1,01	90,02 \pm 2,42		82,58 \pm 1,6	88,62 \pm 1,25

3.4 Ozmotik Potansiyel

Sardes kontrol ve stres gruplarının yaprak ozmotik potansiyel ölçümleri çizelge 3.9'da gösterilmiştir. Sardes salatalık çeşitinde biyotik stres ve tuz stresi uygulanan grupların ozmotik potansiyelinde 7. günde kontrol gruplarına göre önemli bir değişim saptanamamıştır. 14. günde ise biyotik stres + 50 mM NaCl uygulanan grubun ozmotik potansiyeli kontrole göre %15, biyotik stres+100 mM NaCl uygulanan grubun ozmotik potansiyeli ise %24 artmıştır.

Çizelge 3.9.Sardes ve Beith Alpha çeşitlerine ozmotik potansiyeline (mmol/kg) NaCl ve biyotik stresin etkisi. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir.

GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	244,76 \pm 17,02	264 \pm 6,53	245,11 \pm 7,52	249,46 \pm 10,61	250,33 \pm 4,30	238,89 \pm 10,1
50mM NaCl		260 \pm 4,743	253 \pm 12,81		254,2 \pm 11,08	259 \pm 16,4
100mM NaCl		253 \pm 12,81	268,1 \pm 10,04		262,66 \pm 8,84	274,3 \pm 5,1
Biyotik stres		249,11 \pm 9,84	258,22 \pm 17,6		250,22 \pm 8,05	251,88 \pm 24,1
Biyotik stres +50mM NaCl		268,44 \pm 5,05	282,6 \pm 12,37		260 \pm 3,39	296,89 \pm 4,96
Biyotik stres +100mM NaCl		284,55 \pm 5,34	304,91 \pm 16,7		252,44 \pm 7,93	299,2 \pm 7,75

Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinde stres uygulamasına bağlı olarak ozmotik potansiyel değişimi çizelge 3.7'de gösterilmiştir. Beith Alpha çeşidinin tuz ve biyotik stres uygulanan tüm gruplarında 7. günde ozmotik potansiyellerinde önemli bir değişim gözlenmedi. Biyotik stres ile 50 mM NaCl uygulanan Beith Alpha'larda ozmotik potansiyelde %13 artış, biyotik stresle birlikte 100 mM NaCl uygulanan bitkilerde %18 artış gözlemlenmiştir.

3.5 Total Protein Miktarları

Tuz ve biyotik stres uygulanan Sardes'in yapraklarının protein miktarları belirlenmiştir (çizelge 3.10). 14. günde tuz stresine maruz kalan bitkilerde 7. güne göre total protein miktarları artmıştır. Aynı şekilde biyotik stres ve biyotik stresin yanında tuz stresine de maruz bırakılan bitkilerde total protein miktarlarında artış belirlenmiştir.

Beith Alpha bitkilerinde total protein miktarlarındaki değişim çizelge 3.10'da gösterilmiştir. Beith Alpha'da Sardes'e zıt olarak total protein miktarlarında azalma gözlenmiştir. 7. günde 50 mM tuz stresinde

protein miktarında kontrole göre %60, 100 mM tuz stresinde ise %74 azalma gözlenmiştir. Biyotik stres gruplarındaysa protein miktarı 100 mM tuz uygulanan grupta % 81 azalma belirlenmiştir.

Çizelge 3.10. Sardes ve Beith Alpha çeşitlerine uygulanan NaCl ve biyotik stresin total protein miktarına etkisi. Sütunlardaki hata çubukları \pm standart hata (S.E)'yi göstermektedir .

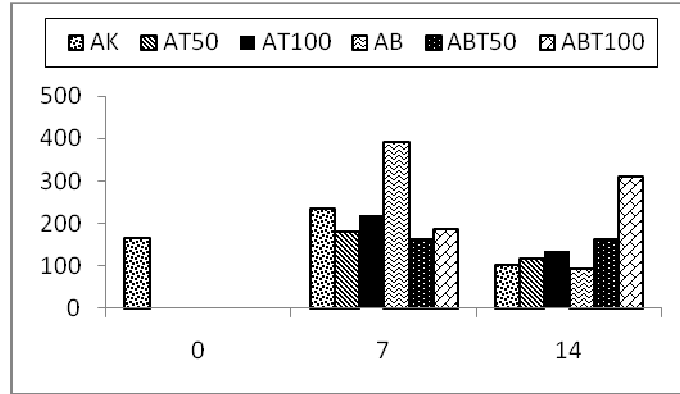
GRUPLAR	SARDES			BEİTH ALPHA		
	0.Gün	7. Gün	14.Gün	0.Gün	7. Gün	14.Gün
Kontrol	0,847 \pm 0,05	0,79 \pm 0,16	0,94 \pm 0,26	0,95 \pm 0,14	1,17 \pm 0,23	0,75 \pm 0,05
50mM NaCl		0,46 \pm 0,14	0,59 \pm 0,06		0,46 \pm 0,3	0,39 \pm 0,21
100mM NaCl		0,5 \pm 0,13	0,7 \pm 0,177		0,33 \pm 0,06	0,39 \pm 0,29
Biyotik stres		0,34 \pm 0,1	0,8 \pm 0,02		0,28 \pm 0,16	0,60 \pm 0,24
Biyotik stres +50mM NaCl		0,52 \pm 0,172	0,49 \pm 0,15		0,35 \pm 0,15	0,51 \pm 0,19
Biyotik stres +100mM NaCl		0,51 \pm 0,08	0,30 \pm 0,12		0,22 \pm 0,2	0,44 \pm 0,08

3.6 Antioksidan Enzim Aktivite Sonuçları

3.6.1 Süperoksitdismutaz (SOD) aktivite sonuçları

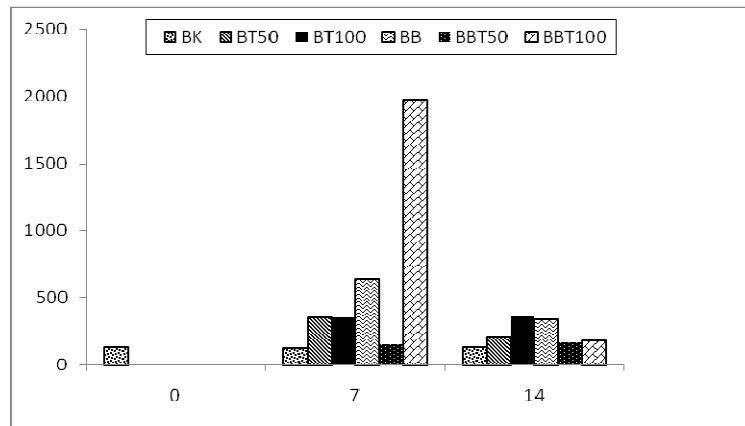
Sardes çeşidine ait toplam SOD aktivitesine ait sonuçlar şekil 3.1'de gösterilmiştir. Sardes'in kontrol gruplarında sırasıyla bakıldığında 0. güne göre 7. günde %47 artış, 14. günde ise %63'lük düşüş vardır. NaCl miktarının artması ile SOD aktivitesi de artış göstermiştir. Özellikle biyotik stres uygulanan grupta kontrole göre %67'lik bir artış olmuştur. 7. günde eşzamanlı uygulanan biyotik ve NaCl stresinde spektrofotometrik SOD aktivitelerinde kontrole göre düşüş vardır. 14. günde ise 50 ve 100 mM NaCl 'ye maruz bırakılan Sardes'lerde sırasıyla %16'lık ve %32'lük artış belirlenmiştir. Biyotik stres ile azalan aktivite, NaCl stresi uygulamasının

artışı ile orantılı bir biçimde yükselmiştir ve 100 mM NaCl uygulanan grupta kontrole göre SOD aktivitesi 3 katına çıkmıştır.



Şekil 3.1: 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes'in SOD aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

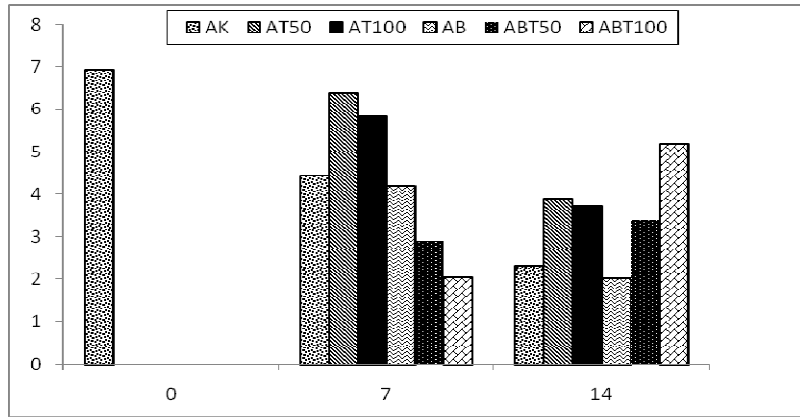
Beith Alpha çeşidine ait SOD aktivitesi sonuçları şekil 3.2'de verilmiştir. Beith Alpha'nın stres uygulamasının 7. gününde 50 mM ve 100 mM NaCl uygulanan grupta kontrole göre 1.8 katına çıkmıştır. Biyotik stres uygulamasının 7. gününde ise SOD aktivitesi kontrolün 5 katına çıkmıştır. Biyotik stresle 100 mM NaCl'de SOD aktivitesi 15 katına çıkmıştır. 14. günde ise 100 mM NaCl'de SOD aktivitesi kontrol grubuna göre 2.8 katına çıkmıştır. Sadece biyotik stres uygulanan grupta da 2.6 katına çıkmıştır fakat NaCl stresinin de eklenmesi ile aktivitede düşüş gözlenmiştir.



Şekil 3.2. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın SOD aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

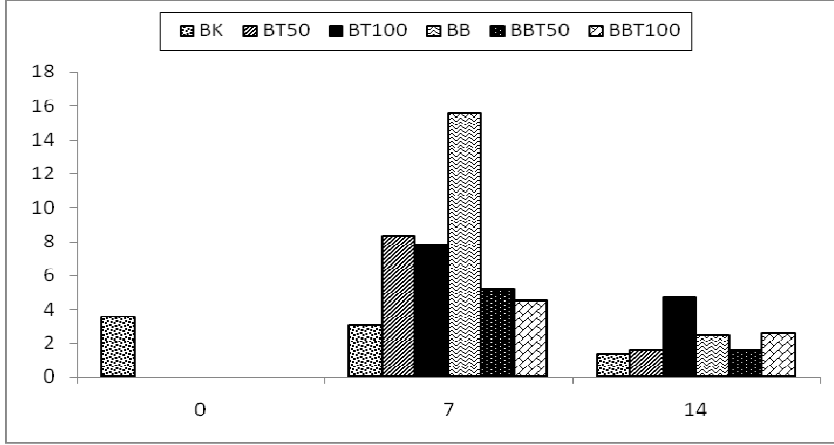
3.6.2 Peroksidaz (POX) aktivite sonuçları

Sardes çeşidinin Peroksidaz aktivitesine ait sonuçlar şekil 3.3'te gösterilmiştir. Sardes'te POX aktivitesi kontrol grubunda gün geçtikçe azalmıştır. 7. günde 50 ve 100mM NaCl uygulanan gruplarda sırasıyla POX aktivitesi %44 ve %31 artarken, biyotik stres uygulanan grupta ise POX aktivitesi kontrole göre azalmıştır. Biyotik ve 50 ve 100 mM NaCl uygulanan gruplarda ise kontrole göre sırasıyla %34 ve %61'lik indirgenme belirlenmiştir.



Şekil 3.3: 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes'in POX aktivitesinde (Ünite mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler.

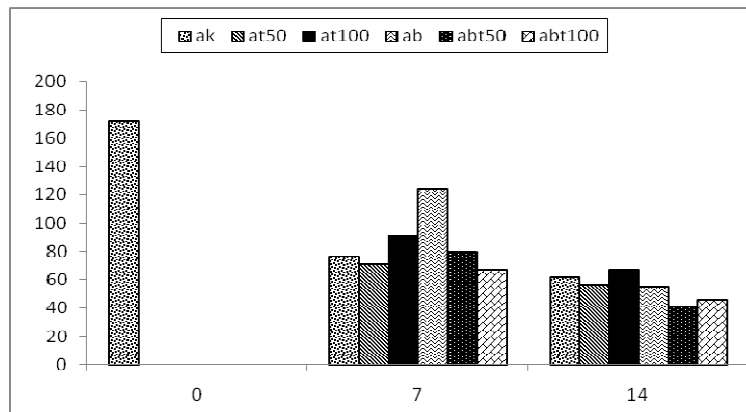
Beith Alpha'da da POX aktivitesi uygulamanın 7. gününde kontrol bitkilerine göre 50 mM NaCl uygulanan grupta 1.7 kat, 100 mM NaCl uygulanan grupta ise ise 1.6 kat artmıştır. Biyotik stres uygulaması ile POX aktivitesi belirgin şekilde artarak 5 katına çıkmıştır. NaCl stresinin de eklenmesi ile kontrole göre 50 ve 100 mM NaCl'de sırası ile %72 ve %49 artış olmuştur. 14. günde ise 100 mM NaCl uygulanan grubun POX aktivitesi 3.5 katına, biyotik stres uygulanan grubun POX aktivitesi de 1.9 katına çıkmıştır.



Şekil 3.4. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın POX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

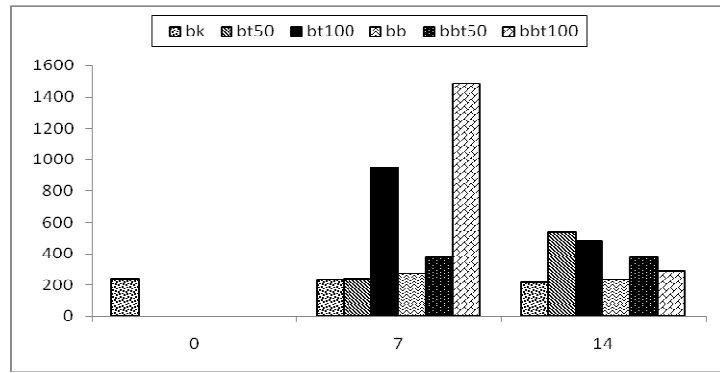
3.6.3 Katalaz (CAT) Aktivite Sonuçları

CAT aktivitesi Sardes çeşidinde kontrol grubunda 0. günde göre 7. ve 14. günde azalma göstermiştir. 100 mM NaCl'de CAT aktivite artışı %19, biyotik stres uygulamasında %63 artış, biyotik ve 100 mM tuz stresinde %13 düşüş gözlenmiştir. 14. günde ise aktivitede artış sadece %8 ile 100 mM tuz stresinde olmuştur. Tüm gruplarda aktivite kontrole göre düşük çıkmıştır.



Şekil 3.5. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM NaCl stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Sardes'in CAT aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

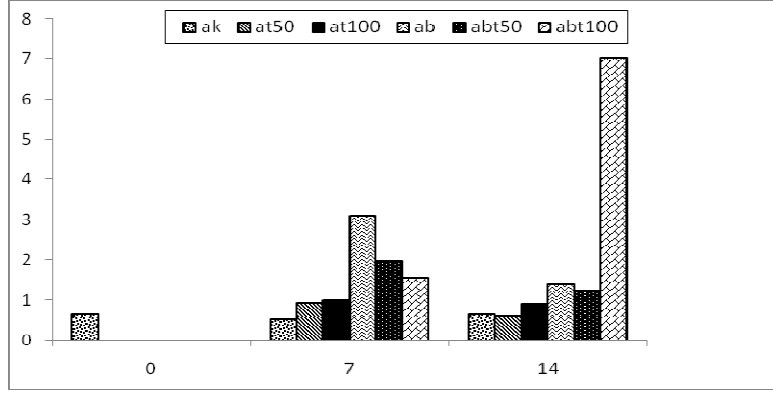
Beith Alpha'da ise CAT aktivitesi 50 mM NaCl değişmezken, 100 mM tuzda ise 4 katına çıkmıştır. Biyotik stres uygulaması ile de CAT aktivitesinde belirgin bir değişiklik görülmezken 50 mM tuz eklenmesi ile %57 artış belirlenmiş ve 100 mM tuz uygulaması ile kontrol CAT aktivitesinin 6 katına çıkmıştır. 14. günde 50 mM tuz stresi ile 1.4 kat, 100 mM tuz stresi ile 1.2 kat artış belirlenmiştir. Biyotik stresle eşzamanlı uygulanan 50 mM tuz stresi ile 7. günde olduğu gibi %57, 100 mM tuz stresi ile %33 artış sağlanmıştır.



Şekil 3.6. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın CAT aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

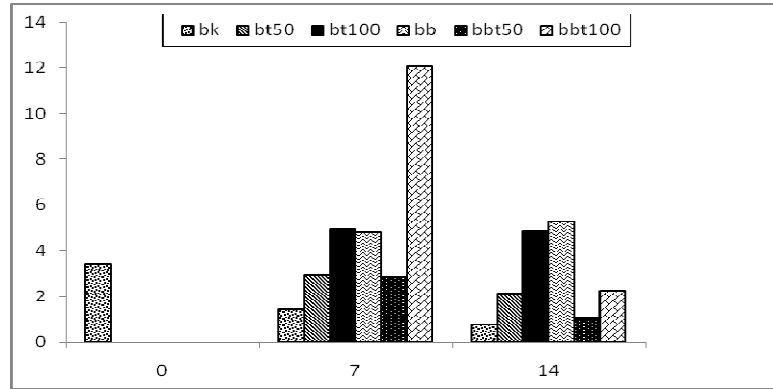
3.6.4 Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivite Sonuçları

Sardes çeşidinin APX aktivitesinde gözlenen değişimler şekil 3.7' de verilmiştir. Sardes çeşidinde maruz kalınan stres miktarı arttıkça bitkideki APX aktivitesi artarken bu oran NaCl stresi uygulanan bitkilerde %80 iken, biyotik stresle uygulanan tuz stresindeki bitkilerde bu oran kontrole göre 4 kattır. 7. günde en belirgin artış biyotik stres uygulaması ile olmuştur, APX aktivitesi kontrole göre 6 kat artmıştır. 14. günde biyotik stres uygulanan grupta 7. güne göre azalma olmuştur. Biyotik stres ile uygulanan 100 mM NaCl'de kontrole göre 10 katına çıkmıştır.



Şekil 3.7. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in APOX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

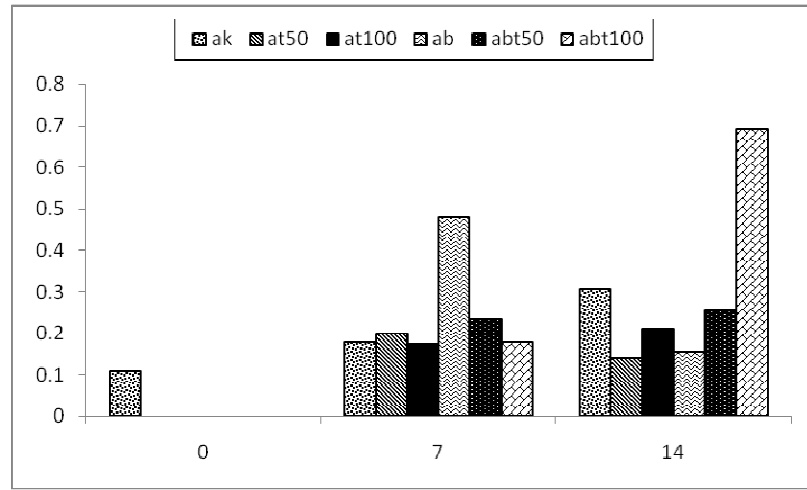
Beith Alpha bitkisinde gözlenen değişiklikler şekil 3.8'de gösterilmiştir. Beith Alpha'nın kontrol gruplarında APX aktivitesi uygulama süresi arttıkça azalma gösterir. En belirgin artış 100 mM NaCl ve biyotik stres grubunda olmuştur ve bunlar kontrol grubuna göre sırasıyla 5.4 ve 4.4 kat olmuştur. 14. Günde aktivite miktarı 7. güne göre azalmıştır. Fakat 7. gün ile aynı şekilde 100 mM NaCl'de ve biyotik stres grubunda APX aktivitesinde artış belirlenmiştir.



Şekil 3.8. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın APOX aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

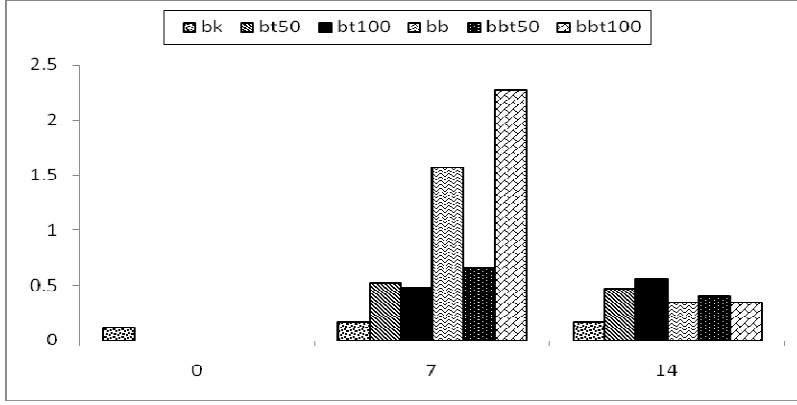
3.6.5 Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivite Sonuçları

Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin normal koşullar altında büyüyen kontrol gruplarının GR aktiviteleri karşılaştırıldığında aktivitelerin birbirine yakın olduğu görülmüştür. Sardes çeşidinde kontrol gruplarında artış belirlenmiştir. Sardes tuz streslerine benzer yanıtlar verse de biyotik stres ile GR aktivitesi 2.5 katına çıkmıştır. 14. Günde en belirgin artış eşzamanlı uygulanan biyotik ve 100 mM tuz stresine olmuştur. Biyotik stres ile biyotik+50 mM tuz streside GR aktivitesi eş derecede etkilenmiştir.



Şekil 3.9. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in GR aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

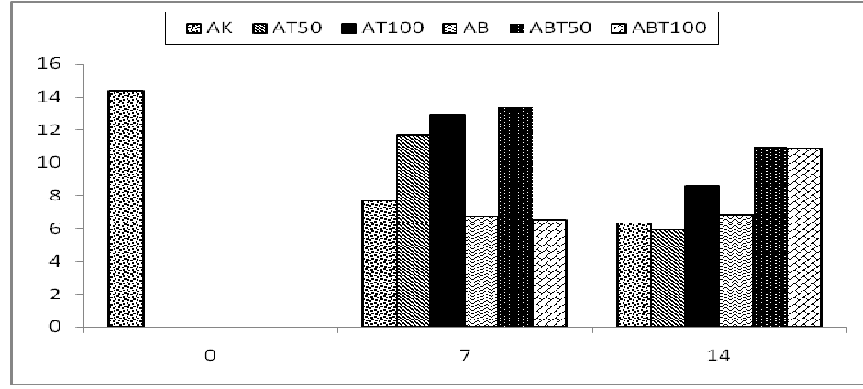
Beith Alpha çeşitlerinin ise kontrol grubuna göre 7. günde 50 mM tuzda kontrole göre 2.7 kat, 100 mM tuzda 1.9 kat, biyotik stres grubunda 9 kat, biyotik ve 50 mM tuzda 3.1 kat ve en belirgin şekilde artma gösteren biyotik + 100 mM tuz stresinde ise 13 kat artış belirlenmiştir.



Şekil 3.10. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın GR aktivitesinde (Ünite mg^{-1} protein) gözlenen değişimler.

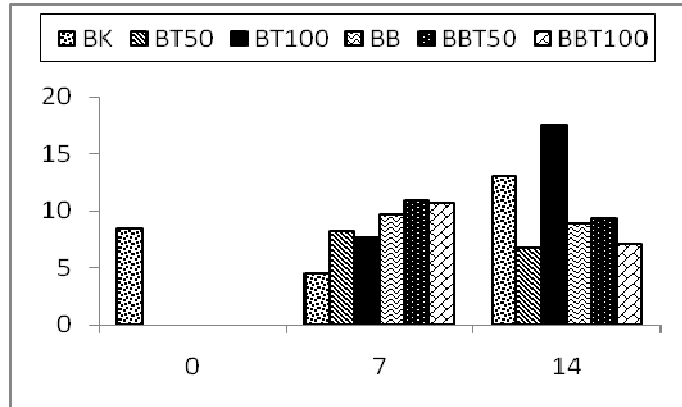
3.7 Lipit Peroksidasyonu (MDA)

Lipit membranlarındaki peroksidasyon düzeyi malondialdehit (MDA) içeriğine bakılarak tespit edilmiş ve şekil 3.11'de gösterilmiştir. Sardes'in kontrol gruplarında MDA seviyesi 7. günde %50 azalma göstermiştir. Sardes'te stres miktarı ile artış gösteren MDA seviyesi 7. gün 50 ve 100 mM NaCl stresinde 1.5 katına çıkmıştır ve oksidatif stresin varlığını göstermiştir. Fakat aynı şekilde biyotik stres uygulanan hatta 100 mM tuz stresine de maruz bırakılan bitkinin MDA içeriğinde azalma olmuştur. 14. günde ise MDA seviyesi 7. güne göre azalmıştır. Biyotik stres uygulaması yapraklardaki MDA içeriğini arttırsa da tuz stresinin de uygulanması %60 artışa neden olmuştur.



Şekil 3.11. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in malondialdehit miktarında (nmol g^{-1} YA) meydana gelen değişimler.

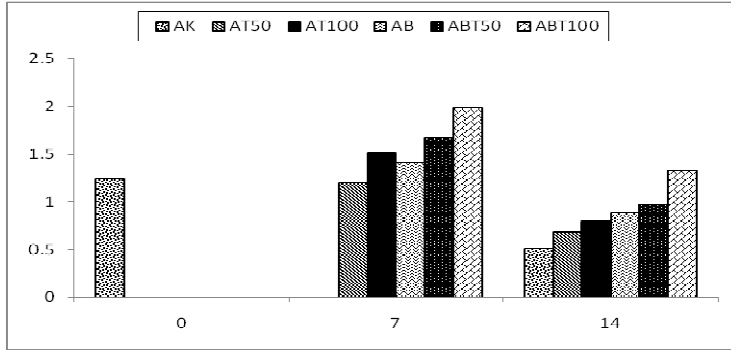
Beith Alpha çeşidinin MDA içeriğine ait bilgiler şekil.12'de gösterilmiştir. Sardes'te olduğu gibi Beith Alpha çeşidinde MDA seviyesi 50 ve 100 mM NaCl stresinde artmıştır ve yine biyotik stresle birlikte uygulanan 50 mM NaCl'de MDA seviyesi, kontrole göre 2.4 katına çıkmıştır. Beith Alpha çeşidinde ise 7. günde MDA seviyesi stres seviyesinin artması ile doğru orantılı olarak artmıştır, fakat 14. günde bu kontrol grubuna göre azalma gözlenmiştir. 14. günde sadece 100 mM NaCl'de artış olmuş, bu artış 7. güne göre 1.5 katına çıkmıştır.



Şekil 3.12. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nin malondialdehit miktarında (nmol g^{-1} YA) meydana gelen değişimler.

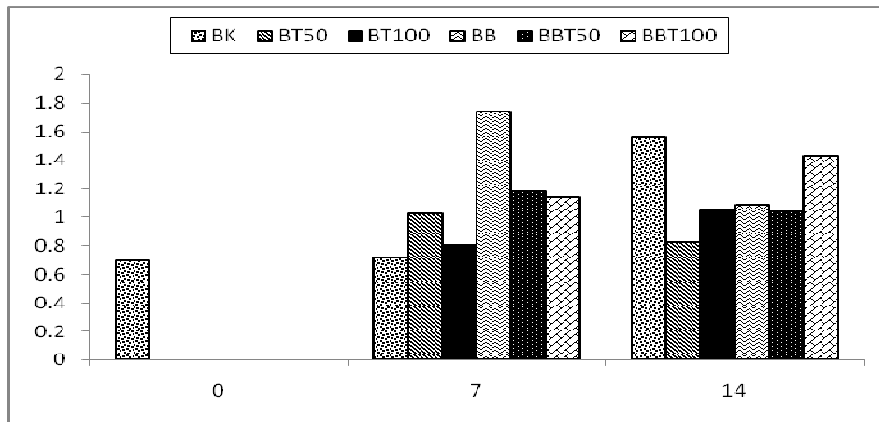
3.8 Yapraklarda Prolin Miktarı

Sardes çeşidinde prolin miktarı 7. günde 100 mM NaCl'e maruz bırakılan grupta %25 artmıştır. Biyotik stres uygulanan grupta %16, biyotik stres ile 50 mM NaCl uygulanan grupta %30, biyotik stresle 100 mM uygulanan grupta ise %65 artmıştır (Şekil3.13).



Şekil 3.13. 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Sardes'in prolin miktarında (nmol g⁻¹ YA) meydana gelen değişimler.

Beith Alpha'da ise prolin miktarında artış 100 mM tuzda belirgin değilken, 50 mM tuzda daha belirgin şekilde artmıştır. Prolin miktarı biyotik streste, kontrole göre 2.5 katına çıkmıştır. Biyotik strese eklenen tuz stresinde de sadece biyotik stres uygulanan gruba göre daha az etkilenmiştir. 14. günde ise prolin seviyesi kontrol grubuna göre azdır.



Şekil 3.14: 7 ve 14 gün süreyle 50 ve 100 mM tuz stresine, biyotik strese, ve biyotik stresle eşzamanlı 50 ve 100 mM tuz stresine maruz bırakılan Beith Alpha'nın prolin miktarında (nmol g⁻¹ YA) meydana gelen değişimler.

4. TARTIŞMA/SONUÇ

Bitkiler doğal ortamlarında çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalırlar. Bu koşullar altında yaşayabilmek amacıyla, dıştan gelen sinyalleri algılamak, çevresel streslere en uygun yanıtı vermek için karışık mekanizmalar geliştirmişlerdir. Salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA), etilen (ET), ve ABA gibi fitohormonlar bitkileri sinerjetik ve antogonistik hareketlerle yani karşılıklı konuşma ile biyotik ve abiyotik strese karşı bitkiyi koruyucu yanıtları düzenlerler. Bunların dışında ROS oluşumu da anahtar bir işlemdir. Biyotik ve abiyotik stresler farklı genlerin ifade olmasını sağlar. Karşılıklı konuşma ile bitki sinyal yolları abiyotik stres toleransını ve hastalık direncini düzenler. Bitkilerde ROS'un kararlı hallerinin düzenlenmesi birçok hücrel işlem içerir. Bazı ROS türleri aerobik metabolizmanın yan ürünü iken bir kısmı da sinyal molekülü olarak görev yapar (Fujita et al., 2006). Çeşitli stres koşulları altında ROS süpürücülerinin ROS'un sitotoksik etkilerini detoksifiye ettiği düşünülür (Hirt et al., 2004, Mittler et al., 2004). Bitkilerde yapılan transkriptom analizleri çeşitli biyotik ve abiyotik stres uygulamalarının ROS süpürücü enzimleri kodlayan çok geniş bir gen grubunu uyardığını ortaya koymuştur. (Seki et al., 2002).

Günümüzde değişen iklim koşullarında biyotik ve abiyotik stres yolları arasındaki karşılıklı konuşma ve bitkilerin verilen bir stres ya da çoklu strese nasıl tepki vereceğini ortaya koymak büyük önem kazanmıştır (Forcat et al., 2008).

Özellikle tarımsal bitkilerde çoklu strese karşı bitkilerin verdiği tepki daha büyük önem taşır. Büyük verim kayıplarını önlemek için farklı stres yollarının birbirinden nasıl etkilendiğini anlamak gerekir. Bu nedenle araştırmamızda önemli bir tarım bitkisi olan salatalığın en çok tüketilen iki çeşidi Sardes ve Beith Alpha'nın eş zamanlı uygulanan biyotik ve abiyotik strese karşı gösterdiği büyüme tepkileri ve antioksidan mekanizmaları arasındaki değişimler incelenmiştir.

Sardes ve Beith Alpha çeşitlerinin yalnızca tuz stresine maruz kalan gruplarının kök uzunlukları 7. ve 14. günlerde benzer oranda azaldığı gözlenmiştir. Tuz ve biyotik stresin birlikte uygulandığı gruplarda Beith Alpha çeşidinin kök uzunluğunun daha fazla etkilendiği görülmüştür. Biyotik stres tuz stresi ile birleştiğinde bitkinin kök gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Kök uzunluğundaki indirgenmeye nazaran, bitkilerin kök ağırlıklarındaki azalma daha dikkat çekicidir. Sardes çeşidinin kök ağırlığında 100 mM NaCl uygulanan grubun 7. ve 14. gününde yaklaşık %40 azalma gözlenmiştir. Beith Alpha çeşidinde ise kök ağırlığı 100 mM uygulanan grupta 7. günde %23, 14. günde %40 olarak saptanmıştır. NaCl'nin iyonik etkisi ile kök uzunluğundaki azalma belirgin şekilde gözlenmiştir. Zhu (2008), tuz stresinin bitkinin köklerinin suya erişimini kısıtladığını ve kök uzamasını inhibe ettiğini belirtmiştir. Kök çevresindeki tuzun eşik değere ulaşması ile başlayan tuz stresi nedeniyle kök büyümesi azalır ve doğrudan bitkinin yaprak gelişimini olumsuz yönde etkiler (Munns and Tester, 2008). Asraf et al. (2003) 100 mM NaCl konsantrasyonunda yetiştirdikleri *Hibiscus esculentus* L.(bamya) genotiplerinde tuz stresinin büyümede azalmaya neden olduğunu, kök yaş ve kuru ağırlıklarında ise kayıpların ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Mısır bitkisinde yapılan kuraklık stresi çalışmasında ise kuraklık nedeniyle kök ve gövde yaş ağırlığında azalma kaydedilmiştir (Mohammadkhan, N. and Heidari, R., 2008). Kök kuru ağırlıklarına bakıldığında her iki grupta da biyotik stres uygulanan gruplarda azalmanın daha fazla olduğu görülür. Sardes'in gövde uzunluğundaki indirgenme 50 ve 100 mM tuz uygulamaları arasında oldukça belirginken, Beith Alpha her iki uygulamada benzer oranlarda etkilenmiştir. Gövde uzunlukları her iki çeşitte de tuz stresi ve biyotik stresin birlikte uygulandığı gruplarda daha büyük azalma göstermiştir. Tuza duyarlı bezelye bitkilerinin tuz stresine maruz kalmasının kuru ve yaş ağırlıklarında azalmaya neden olduğu Hernandez et al. (1999) tarafından bildirilmiştir. Huang et al. (2009) *C. sativus* L. ile yaptığı çalışmada 100 mM NaCl uygulanan bitkilerde bitki kuru ağırlığında %41 azalma kaydetmiştir.

Ozmotik potansiyelerde görülen değişimler Oercke et al.(2006)'da olduğu gibi bitkinin biyotik strese maruz kalması ile belirgin bir şekilde olur. Ayrıca stomal iletkenlikte abiyotik faktörlerden etkilenir. Hastalık semptomlarına ek olarak patojenler doğrudan ya da dolaylı olarak bitki yüzeyindeki buharlaşma alanını arttırarak su kaybını arttırlar. Çalışmamızda her iki salatalık çeşidinin ozmotik potansiyeli 7. günde tüm stres gruplarında önemli bir değişim göstermemiştir, 14. günde ise Sardes çeşidinin ozmotik potansiyeli biyotik stres uygulanan grupta %5, biyotik stres + 50 mM NaCl uygulanan grupta %15, biyotik stres +100 mM NaCl uygulanan grupta %24 artış gözlenmiştir. Beith Alpha çeşidinde ise ozmotik potansiyel 100 mM tuz uygulanan grupta %15, biyotik stres uygulanan grupta %5, biyotik stres +50 mM tuz uygulanan grupta %24, biyotik stres + 100 mM tu uygulanan grupta ise %25 artmıştır. Bitki su kıtlığından korunmak için ozmotik potansiyelini koruma altına alır.

Sardes'te bağıl su içeriği 50 mM NaCl stresi ile pek etkilenmemiştir fakat 100 mM NaCl uygulaması ile ilk anlamlı düşüş belirlenmiştir. Biyotik stres uygulaması bağıl su içeriğini biraz daha düşürse de biyotik stresle birlikte uygulanan 50 ve 100 mM tuz stresinde bağıl su içeriği biyotik gruba göre artmıştır. Bağıl su içeriğindeki değişim hücrenin su eksikliğinin sonucu olarak ortaya çıkan fizyolojik bir durumdur. Bitkinin suya doyması için gerekli su miktarını belirler. Huang et al. (2009) salatalıkta yaptığı çalışmada 100 mM NaCl uygulamasında bağıl su içeriğinin %16 indirgendiğini belirlemiştir. Beith Alpha bitkisinde ise RWC, 14. günde bağıl su içeriği kontrole göre tüm gruplarda artmıştır. Bu artış genellikle %6-9 arasında gerçekleşmiştir. *C. sativus L.* bitkisinde 0, 50, 100 mM NaCl uygulaması yapılmış ve tuz konsantrasyonu arttıkça RWC'nin azaldığı belirlenmiştir. Tuzluluğun 8. gününde 50 ve 100 mM NaCl streslerine bitkinin RWC değeri sırasıyla %13 ve %27 azalmıştır. Bizim çalışmamızda da Sardes çeşidinde bağıl su içeriğindeki düşüş tuz konsantrasyonun artması ile artmıştır fakat bu miktarda bir düşüş gözlenenemiştir. Ayrıca biyotik stres uygulanan gruplarda hastalığın nemli ortamda yaşaması bitkinin bağıl su içeriğini arttırdığı bu nedenle tuz stresine maruz kalmasına rağmen bir değişiklik gözlenmediği düşünülebilir.

Çalışmamızda salatalık çeşitlerinin maruz kaldığı stres nedeniyle oluşan hasarı belirlemek için kullanılan klorofil flüoresansı (Fv/Fm) ölçümleri yapılmıştır. Uygulamanın 7. gününde Sardes'te sadece 100 mM tuz uygulamasında düşüş gözlenmiştir. 14. günde ise 50 mM ve 100 mM tuzda azalma olmuştur. Burada biyotik stresin fotosentetik verime etkisi olmamıştır. Beith Alpha çeşidinin stres koşulları altında fotosentetik verimi etkilenmemiştir.

Bitkiler stressiz koşullar altında ROS üretimi ve detoksifikasyonu arasındaki dengeyi sıkıca kontrol etmek zorundadırlar (Apel and Hirt, 2004). ROS seviyesi büyüme, gelişme, abiyotik stres faktörlerine patojenlere ve hücre ölümüne yanıt mekanizmalarında sinyal olarak görev alır (Gechev et al., 2006). ROS bitkilerin streslere karşı verdikleri yanıtta stres metabolizması ürünleri olarak toksik ya da önemli bir sinyal molekülü olarak görev yapar (Miller et al., 2010). Optimal koşullar altında birçok metabolik işlem ROS üretir (Zhu et al., 2004). Bitkiler kendilerini oksidatif reaksiyonların olumsuz etkilerinden koruyan aktif türleri süpürmede etkili sistemlere sahiptirler. Bu sistemin bir parçası olan antioksidatif enzimler savunma mekanizmasının anahtar parçasıdır. Antioksidan enzim aktivitesinin tuza toleranslı pamuk (Meloni et al., 2003), çeltik (Fadzilla et al., 1997), salatalık (Lechno et al., 1997), buğday (Meneguzzo et al., 1999) ve bezelye (Hernandez et al., 1999) bitkilerinde arttığı belirlenmiştir.

SOD'lar $O_2^{\cdot -}$ 'i süpürebilen ve ROS'u süpürücü ilk enzimdir. Çalışmamızda Sardes çeşitlerinde SOD aktivitesi, 7. günde tuz konsantrasyonunun artması ile artmıştır. En belirgin artışı biyotik stres uygulanan gruplarda göstermiştir. Sardes çeşidinde biyotik stres uygulanan grupta SOD aktivitesi %67'lik bir artış gösterirken Beith Alpha çeşidi %404'lük bir artış saptanmıştır. Sardes çeşidinin yalnız tuz stresi uygulanan gruplarında 7. günde SOD aktivitesi kontrole göre düşüş göstermiştir, 14. günde ise 50 ve 100 mM tuz uygulanan gruplarda SOD aktivitesi kontrole göre sırasıyla %8 ve %14 artmıştır. Beith Alpha çeşidinin yalnızca tuz stresi uygulanan gruplarında ise SOD aktivitesi kontrole göre 7. ve 14. günlerde yaklaşık 3 kat artmıştır. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak Lechno et al. (1997) salatalıkta tuz stresinin SOD aktivitesini arttırdığını belirtmiştir. Li

(2009), domateste, Huang (2009) ise salatalıkta yaptığı çalışmada SOD aktivitesinde artış gözlemlemiştirlerdir. Koca ve ark. (2007) tuza duyarlı *Sesamum indicum*'da tuza toleranslı olan çeşide göre SOD aktivitesinde düşüş gözlemlemiştir.

CAT, bitkide stres nedeniyle ortaya çıkan H_2O_2 'in süpürülmesinde görevli, peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Oksidatif stres toleransında anahtar rol oynar (Apel, 2004). Katalaz aktivitesi tuz stresi, sıcaklık ve soğuk stresi ile azalabilir çünkü çevresel streslerle uyarılan ikincil oksidatif strese karşı bitkinin cevabı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. APX ve CAT enzimleri birbirine benzerdir. APX, ROS sinyalleşmesinde rol oynar iken, CAT'da stres sırasında ROS'ların süpürülmesinden sorumludur (Mittler, 2002). Fazla miktardaki H_2O_2 öncelikle CAT tarafından ortadan kaldırılır, az miktardaki H_2O_2 , APX ya da diğer peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılır.

CAT enzim aktivitesinin temel seviyesinin Beith Alpha çeşidinde yüksek olduğu saptanmıştır. Sardes çeşidinin 100 mM tuz stresi uygulanan gruplarında CAT aktivitesinde 7. günde %19'luk, 14. günde ise %8'lik bir artış gözlenmiştir. Buna karşılık Beith Alpha CAT aktivitesi 100 mM tuz uygulanan gruplarda 7. günde kontrole göre 4 kat, 14 günde ise 2 kat artmıştır. Sardes çeşidinde biyotik stresin tek olarak uygulandığı gruplarda 7. günde CAT aktivitesi kontrole göre %63 artarken, Beith Alpha çeşidinde yalnızca %16'lık bir artış gözlenmiştir. Sardes çeşidinde biyotik stres ve tuzun birlikte uygulandığı gruplarda genellikle kontrole göre düşük CAT aktiviteleri belirlenmiştir. Beith Alpha çeşidinde biyotik stres ve tuzun birlikte uygulandığı gruplarda ise oldukça yüksek CAT aktivitesi saptanmıştır. Biyotik stres+ 50 mM tuz uygulanan gruplarda 7. ve 14. günde kontrole göre yaklaşık %57 daha yüksek CAT aktivitesi saptanmıştır. CAT aktivitesindeki artış özellikle 7. Gün biyotik stres+100 mM tuz uygulanan grupta çok dikkat çekicidir (kontrolün 6 katı). Beith Alpha'nın CAT aktivitesi ise Sardes'e göre çok yüksektir. Huang et al. (2009), 100 mM NaCl uyguladıkları salatalık bitkisinde tuz stresine bağlı olarak CAT enzim aktivitesinde artış meydana geldiğini ifade ederken, Lechno et al., (1997) salatalıkta, Yaşar ve ark., (2008a,b) fasulye ve karpuzda, yaptıkları çalışmalarda CAT enzim aktivitesinin tuz stresi karşısında artış gösterdiğini

bu artışın toleranslı olan bitkilerde ön plana çıktığını ifade etmişlerdir. Baskılanmış katalazlı transgenik tütün bitkilerinde ROS seviyeleri hem biyotik hem abiyotik strese karşı artmıştır (Apel and Hirt, 2004). Lee et al. (2001) çeltikte CAT aktivitesinin tuz stresi uygulanan bitkilerde kontrole göre düşmesini, CAT'ın deaktive olmasının bitkide askorbat glutatyon döngüsü ile alakalı olarak APX enzim aktivitesinde artışla ilişkilendirerek açıklamıştır.

APX, sitoplazmada, glioksizom ve peroksizomlarda ve mitokondride bulunur. Bitkinin kloroplastında meydana gelen H_2O_2 'nin süpürülmesini ve kloroplastın oksidatif hasara karşı korunmasını sağlar. Sardes'te tuz stresi uygulanan gruplarda enzim aktivitesi kontrole göre artmıştır fakat en belirgin şekilde biyotik stres ile artmıştır. Biyotik stres uygulanan grupta 7. günde kontrole göre yaklaşık 6 katına çıkmıştır. Biyotik stres uygulamasının 14. gününde de APX aktivitesinde %112'lik bir artış gözlenmiştir. Yine Sardes çeşidinde biyotik strese eşzamanlı uygulanan 100 mM tuz stresi gruplarında tuz stresi gruplarında APX aktivitesi 14. günde kontrol grubunun 10 katına çıkmıştır. APX, GPX, tuz stresi artışında artma gösterir. Çeltik yapraklarında NaCl stresi ile APX aktivitesi artmıştır (Lee et al., 2001). Beith Alpha çeşidinin temel APX enzim seviyesi diğer çeşide göre daha yüksektir. Yalnız tuz uygulanan gruplarda Sardes çeşidine göre çok yüksek APX aktivitesi tespit edilmiştir. Beith Alpha çeşidinin biyotik stres uygulanan gruplarında APX aktivitesi çok yüksektir. Sardes çeşidinden farklı olarak Beith Alpha'nın biyotik stres +100 mM tuz uygulanan gruplarında APX aktivitesi 7. günde kontrole göre yaklaşık 8 kat yüksek iken, 14. günde ise APX aktivitesi kontrole göre yaklaşık 3 kat daha fazladır. Lee et al (2001) çeltikte yaptığı çalışmada tuz stresi uygulamasından 1 gün sonra APX aktivitesinin arttığını, 3 gün sonrada en üst seviyeye geldiğini belirtmiştir.

H_2O_2 , kloroplastlardaki peroksidazlar tarafından süpürülür (Asada and Takashi, 1987). Peroksidazların bu süpürücü görevinin dışında büyüme gelişme ve lignifikasyonda da görevi vardır. Sardes çeşidinde POX aktivitesi 7. ve 14. günlerde 50 ve 100 mM tuz stresinde artmıştır fakat 50 mM NaCl'de daha çok artış göstermiştir. Aynı şekilde Beith Alpha çeşidinde de 50 mM ve 100 mM NaCl'de artış göstermiş fakat 50 mM da

daha çok artış olmuştur. Bu POX'un tuz stresine bağlı olarak oluşan ve bitkinin köklerinden suyu alamaması ile ortaya çıkan kuraklığın bitkideki POX aktivitesini arttırdığı söylenebilir. Sardes çeşidinin temel POX seviyesi diğer çeşide göre daha yüksektir. Biyotik stres uygulanan gruplarda POX aktivitesi kontrole yakın değerlere düşmüştür. Biyotik stres+tuz uygulanan gruplarda 7. günde kontrole göre düşüş, 14. günde ise kontrole göre büyük bir artış (%124) olmuştur. Beith Alpha çeşidinde biyotik stres uygulanması ile POX aktivitesi 7. günde kontrole göre 5 kat, 14. günde kontrole göre yaklaşık 2 kat artmıştır. Biyotik stres ve tuz stresinin birlikte uygulandığı gruplarda da POX aktivitesinin hem 7. günde hem de 14. günde kontrole göre yüksek olduğu gözlenmiştir. Sardes'e göre Beith Alpha'da biyotik strese yanıtta POX'un daha etkin olduğu görülmüştür.

GR, mitokondri ve sitoplazmanın yanı sıra kloroplastlarda bulunur (Edwards et al., 1990). GR aktivitesi, Sardes çeşidinde 7. günde yalnız tuz uygulanan gruplarda düşük bir artış gösterirken biyotik stres uygulanan gruplarda kontrole göre 3 kat artış göstermiştir. Biyotik stres +50 mM tuz uygulanan grupta kontrole göre %50, biyotik stres +100 mM tuz uygulanan grupta ise %16'lık bir artış gözlenmiştir. Sardes çeşidinde stres uygulamasının 14. gününde biyotik stres +100 mM tuz uygulanan grupta GR aktivitesi yaklaşık 2 kat artış gösterirken, diğer stres gruplarında kontrole göre GR aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. 7. günde Beith Alpha çeşidinin 50 mM tuz stresi uygulanan gruplarında GR aktivitesinde kontrole göre yaklaşık 4 kat, 100 mM tuz uygulanan grubunda ise 3 kat artış gözlenmiştir. Benzer şekilde tuz stresi uygulamasının 14. gününde de GR aktivitesinde 50 mM tuz uygulanan grupta kontrole göre yaklaşık 3 kat, 100 mM tuz uygulanan grupta da yaklaşık 3.5 kat artış belirlenmiştir. Beith Alpha'nın 7 gün biyotik strese maruz kalmış gruplarında GR aktivitesi kontrole göre yaklaşık 10 kat artmıştır. 14 gün biyotik strese maruz kalmış gruplarında ise GR aktivitesi 2 kat artış göstermiştir. 7. günde Beith Alpha çeşidinde biyotik stres+ 50 mM tuz uygulanan grupta GR aktivitesi kontrole göre 4 kat artmıştır. Biyotik stres+ tuz uygulanan gruplarda ise 14 kat artmıştır. 14. günde ise biyotik stres ile birlikte uygulanan her iki tuz konsantrasyonunda da GR aktivitesinde kontrole göre yaklaşık 2 kat artış devam etmiştir. Koca ve ark. (2007) tuz stresinde artış ile susam bitkisinde

GR aktivitesinin arttığını belirtmiştir. Mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada, tuz stresinin bitkilerde GR enzim aktivitesini kontrol bitkilerine göre arttırdığı bildirilmiştir (Neto et al., 2006).

Lipit peroksidasyonu, çeşitli çevresel streslerle uyarılır ve tuza bağlı oksidatif hasarın varlığını belirlemek için kullanılabilir (Elkahoui et al. 2005). Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA içeriği tiobarbiturik asit reaksiyonu sonucu elde edilir (Seckin et al., 2008). Sardes'te MDA miktarı tuz stresinin uygulanması ile artmış, fakat biyotik streste azalmıştır. Biyotik+50 mM tuz stresinde yine artış göstermiştir. MDA seviyesi biyotik stresle etkilenmemiş, tuz stresi ile artış göstermiştir. SOD, POX, APX, CAT, GR enzim aktiviteleri biyotik stresle artarken, MDA seviyesi biyotik stresle değişmemiştir. Biyotik stresin ROS süpürücü olarak enzim aktivitelerini kullandığı söylenebilir. Beith Alpha'da da biyotik stresle MDA seviyesi değişmemiştir.

Prolin en çok sitoplazmada sentezlenir, son yıllarda kloroplastlarda da sentezlendiği belirlenmiştir (Szekely et al., 2008). Membran kararlığında rolü vardır. Stres sırasında vakuol ve sitoplazmada birikerek, OH[•]'nin oluşturduğu hasara karşı protein, DNA ve zarları korur. Prolin miktarının artışı bitkinin strese tolerans kazanmasını sağlar. Sardes'te stres miktarının artması ile kademe kademe artış gösteren prolin miktarı, Beith Alpha 'da 7. gün biyotik streste artış göstermiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Amor, N.B., Jimenez, A., Megdiche, W., Lundqvist, M., Sevilla, F., Abdelly, C.,** 2007, Kinetics of the anti-oxidant response to salinity in the halophyte, *Cakile maritima*. *J. Integr Plant Biol.*, 49, 1-11 pp.
- Apel, K., and Hirt H.,** 2004, Reactive oxygen species; metabolism, oxidative stress, and signal transduction, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399 pp.
- Asada, K. and Takahashi M.,** 1987, Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, Amsterdam: Elsevier/North Holland, *hotoinhibition*, 227–287 pp.
- Ashraf, M. and Arfan, M.,** 2005, Gas exchange characteristics and water relations in two cultivars of *Hibiscus esculentus* under waterlogging, *Biologia Plantarum* 49, 459-462pp.
- Aylor, D. E., Taylor G. S. and Raynor, G. S.,** 1982, Long-range transport of tobacco blue mold spores, *Agricultural Meteorology*, 27, 217- 232 pp.
- Balachandran, S., Hurry, V.M., Kelley, S.E., Osmond, S.E., Robinson, S.A., Rohozinski, J., Seaton, G.G.R. and Sims, D.A.,** 1997, Concepts of plant biotic stress. Some insights into the stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis, *Physiologia Plantarum*, 100, 203-213 pp.
- Bartosz, G.,** 1997, Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19, 47–64 pp.
- Bates, S. L., Waldren R. P. and Teare I. D.,** 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and Soil*, 39, 205-207 pp.
- Bolwell G.P. and Wojtaszek P.,** 1997, Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence — a broad perspective, *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51, 347–366 pp.
- Bergmeyer, N.,** 1970, Methoden der enzymatischen Analyse, Akademie Verlag, Berlin, 1, 636-647 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bhattacharje, S.**, 2005, Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plant. *Current Science*, 89, 7 pp.
- Bor, M., Ozdemir, F. and Türkan I.**, 2003, The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L., *Plant Science*, 164, 77-84 pp.
- Bowler, C., Montagu, M. V. and Inze, D.**, 1992, Superoxide dismutase and stress tolerance, *Plant Biology*, 43, 83-116 pp.
- Bradford, M.M.**, 1976, A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254 pp.
- Chen, Z., Cuin, T., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B. and Shabala, S.**, 2007, Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58, 4245-4255 pp.
- Cohen, Y., Meron, I., Mor, N. and Zuriel, S.**, 2003, A new pathotype of *Pseudoperonospora cubensis* causing downy mildew in cucurbits in Israel, *Phytoparasitica* 31, 458-466 pp.
- Dietz, K.-J., Jacob, S., Oelze, M.L., Laxa, M., Tognetti, V., de Miranda, S.M., Baier, M., and Finkemeier, I.** (2006). The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. *J. Exp. Bot.* 57, 1697–709.
- Epstein, E., Norlyn, J.D., Rush, D.W., Kingsbury, R.W. and Kelly, D.B.**, 1980, Saline culture of crops: A genetic approach, *Science*, 210, 399–404 pp.
- Edwards, E. A., Rawsthorne, S. and Milluneaux, P. M.**, 1990, Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) *Planta*, 180, 278-284 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Elkahoui, S., Hemandez, J. A., Abdelly, C., Ghrir, R., Limam, F.,** 2005, Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharanthus roseus* suspension cells. *Plant Sci.*,168, 607–613 pp.
- Dietz, K. J., Jacob, S., Oelze, M. L., Laxa, M., Tognetti, V., Miranda, S. M. N. Baier, M. and Finkemeier, İ.,** 2006, The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism, *Journal of Experimental Botany*, 57, 1697-1709 pp.
- Fadzilla, N.M., Finch R.P., Burdon, R.H.,** 1997, Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice, *J. Exp. Bot.*,49, 325-331pp.
- FAO,** 2008, Land and Plant Nutrition Management Service.
- Forcat S, Bennett MH, Mansfield JW, Grant MR.,** 2008. A rapid and robust method for simultaneously measuring changes in the phytohormones ABA, JA and SA in plants following biotic abiotic stress. *Plant Methods* 4, 16.
- Foyer, C.H., Noctor, G.,** 2003, Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol Plant.* 119, 355-364 pp.
- Foyer, CH., Halliwell, B.,** 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, 133 21-25.
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Ymaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki, K.,** 2006, Crosstalk between abiotic and biotic stress responses:a current view from the points of convergence in the stress signaling networks, *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 436–442 pp.
- Gapper, C. and Dolan, L.,** 2006, Control of plant development by reactive oxygen species, *Plant Physiology*, 141, 341-345 pp.
- Gara, L., Pinto, M. C., Paradiso, A., Leonetti, P.,** 2006, Hydrogen peroxide, nitric oxide and cytosolic ascorbate peroxidase at the crossroad between defence and cell death, *The Plant Journal*, 48, 784-795pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Grant, J.J., and Loake, G.J.,** 2000, Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiol.* **124**: 21-29
- Hammond-Kosack, K. and Jones, J.D.G.,** 2000, Responses to plant pathogens. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, eds. BB Buchanan, W Gruissem, RL Jones., 1102–156 pp.
- Hernandez, J.A., Campillo, A., Jimenez, A., Alarcon, J.J. and Sevilla, F.,** 1999, Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants, 141, 214-251 pp.
- Herzog, V. and Fahimi, H.,** 1973, Determination of the activity of peroxidase, *Analytical Biochemistry*, **55** 554–562 pp.
- Hideg, E.,** 1997, Free radical production in photosynthesis under stress conditions. In: Pessaraki M, editor. *Photosynthesis*. 2nd edition. New York, USA: CRC Press; 911-30 pp.
- Hou, D., Fujii, M., Terahara, N. and Yoshimoto, M.,** 2004, Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins, *Journal of Biomedical Biotechnology*, **5**: 321–325 pp.
- Huang, S., Li, R., Zhang, Z., Li, L., Gu, X., Fan, W., Lucas, W., Wang, X., Xie, B., Ni, P., Ren, Y., Zhu, H., Lin, K., Jin, W., Fei, Z. and Li, G.,** 2009, The genome of cucumber, *Cucumis sativus L.*, *Nature genetics*, **41**, doi:10.1038/ng.47
- Jimenez, A., Hernandez, J. A., Rio, L.A. and Sevilla, F.,** 1997, Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves, *Plant Physiology*, **114**, 275-284 pp.
- Kacperska, A.,** 2004, Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity, *Physiol Plant.*, **122**, 159-168 pp.
- Knight, H. and Knight, M.R.,** 2001, Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk, *Trends in Plant Science* **6**, 6 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I.,** 2007, The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars, *Environmental and Experimental Botany*, 60, 344-350 pp.
- Lauchli, A. and Grathan, S. R.,** 2007, Plant growth and development under salinity, *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*, 1-32 pp.
- Lechno, S., Zamski, E. and Tel-or, E.,** 1997, Salt stress-induced responses in cucumber plants, *J. Plant Physiol.*,150, 206-211 pp.
- Lee, DH., Kim, YS., Lee, CB.,** 2001, The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L), *Plant Physiology*, 158, 735-747.
- Lindenthal, M., Steiner, U., Dehne U-W. and Oerke, E-C.,** 2005, Effect of Downy Mildew Development on Transpiration of Cucumber Leaves Visualized by Digital Infrared Thermography, DOI: 10, 109 pp.
- Madhava, Rao K.V., Sresty TVS.,** 2000, Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses, *Plant Science*, 157 113–128 pp.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A. and Cambria, J.,** 2003, Photosynthesis and ability of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress, *Environ. Exp. Bot.*, 49, 69-76 pp.
- Meneguzzo, S., Navari-Izzo, F., Ízzo, R.,** 1999, Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations, 155, 274-280 pp.
- Miller, G., Suzuki, N., Çiftci-Yılmaz, S. and Mittler, R.,** 2010, Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses, *Plant, Cell and Environment* 33, 453–467 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mittler, M.**, 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Science*, 7, 405-410 pp.
- Mittova, V., Tal, M., Volakita, M. And Guy, M.**, 2003, Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt tolerant tomato species *Lycopersicon pennelli*, *Plant Cell and Environment*, 28, 845-856 pp.
- Moller, I. M.**, 2001, Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species, *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 561–591 pp.
- Moller, I. M., Jensen, E. P. and Hansson A.**, 2007, Oxidative modifications to cellular components in plants, *Annual Review of Plant Biology*, 58, 459-481 pp.
- Munns, R. and Tester, M.**, 2008, Mechanisms of salinity tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681 pp.
- Mohammadkhani, N. and Heidari, R.**, 2008, Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties, *Turk J Biol*, 32, 23-30pp.
- Nakano, Y. and Asada, K.**, 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant Cell Physiology*, 22, 867–880 pp.
- Oercke, E.C., Steiner, U., Dehne H.W. and Lindenthal, M.**, 2006, Thermal imaging of cucumber leaves affected by downy mildew and environmental conditions, *Journal of Experimental Botany*, 57, 2121-2132 pp.
- Parida, A.K. and Das, A.B.**, 2005, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, *Ecotoxicol. Environ.* 60, 324-349 pp.
- Qui, Q.S., Guo, Y., Dietrich, M.A., Schumaker, K.S. and Zhu, J.K.**, 2002, Regulation of SOS1, plasma membrane Na^+/H^+ exchanger in *Arabidopsis thaliana* by SOS2 and SOS, *Proceed. Natl. Acad. Sci.*, 99, 9061-9066 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rhoads, D. M. and Subbaiah, C. C.**, 2006, Mitochondrial retrograde regulation in plants, *Mitochondria*, 7, 177-194 pp.
- Rio, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, J. F., Palma, J. M. and Barroso, J. B.**, 2006, Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. production, scavenging, and role in cell signaling, *Plant Physiology*, 141, 330-335 pp.
- Sagi, M. and Fluhr, R.**, 2006, Production of reactive oxygen species by plant nadph oxidases, *Plant Physiology*, 141, 336-340 pp.
- Santa-Cruz, A., Martinez-Rodriguez, M.M., Perez-Alfocea, F., Romero-Aranda, R. and Bolarin, M.C.**, 2002, The rootstock effect on the tomato salinity response depends on the shoot genotype, *Plant Sci.*, 162- 825-831 pp.
- Scandolios, J. G., Guan, L. M. and Polidoros, A.**, 1997, Catalases in plants: gen structure, properties, regulation and expression. In oxidative stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. *Plainview,NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 343-346 pp.
- Schmidt-Ullrich, R.K., Dent, P., Grant, S., Mikkelsen R.B. and Valerie, K.**, 2000, Signal Transduction and Cellular Radiation Responses, *Radiation Society*, 153, 245-257 pp.
- Seckin, B., Sekmen, A. H. ve Turkan İ.**, 2008, an enhancing effect of exogenous mannitol on the antioxidant enzyme activities in roots of wheat under salt stress, *J Plant Growth Regul*, 28, 12-22 pp.
- SeEVERS, F.M., DALY, J.M. and CATEDRAL, F.F.**, 1971, The role of peroxidase isoenzymes in resistance to wheat stem rust, *Plant Physiology*, 48, 353–360 pp.
- Shi, H., Quintero, F.J., Pardo, J.M. and Zhu, J.K.**, 2002, The putative plasma membrane Na/H antiporter SOS1 controls long distance Na transport in plants, *Plant Cell*, 14, 465-477 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shi, H., Quintero, F.J., Pardo, J.M., Zhu, J.-K.,** 2002, The putative plasma membrane Na/H antiporter SOS1 controls long distance Na transport in plants. *Plant Cell*, 14, 465-477 pp.
- Shi, H., Zhu, J.K.,** 2002, SOS4 a pyridoxial kinase gene, is required for root hair development in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 129, 585-593.
- Smart, R. and Bingham, G. E.,** 1974, Rapid estimates of relative water content, *Plant Physiology*, 53, 258-260 pp.
- Storey, R. and Walker, R. R.,** 1999, Citrus and salinity, *Science Hortic*, 78, 39-81 pp.
- Szekely, G., Abraham, E., and Cseplo, A.,** 2008, Duplicated P5CS genes of Arabidopsis play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis, *The Plant Journal*, 53, 11-28 pp.
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P. and McDonald, G.K.,** 2010, High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress, *Journal of Experimental Botany*, 61, 4449-4459 pp.
- Tester, M. and Davenport, R.,** 2003, Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants, *Annals of Botany* 91, 503- 527 pp.
- Turkan, I. and Demiral, T.,** 2008, Salinity tolerance mechanisms of higher plants. In: Khan NA, Singh S, editor. Abiotic stress and plant responses, I.K. International Publishing House Pvt, Ltd. 105-123 pp.
- Wojtaszek, P.,** 1997, Oxidative burst : an early plant response to pathogen infection, *Biochem. J.* 322, 681-692 pp.
- Yasar, F., Ellialtıoğlu, S., Yildiz, K.,** 2008, effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean, *Russian Journal of Plant Physiology*, 55-6, 869-873 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S.,** 2000, Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiol.* 123, 223–234 pp.
- Zhang, J., Jia, W., Yang, J., Ismail, A.M.,** 2006, Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. *Field Crop Research* 97, 111-119 pp.
- Zhu, J.K.,** 2001, Plant salt tolerance, *Trends in Plant Science*, 6, pp.
- Zhu, J., Dong, CH. and Zhu, J.,** 2007, Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation, *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3) 290-295 pp.

Özgeçmiş

27.09.1984 yılında Aydın'da doğan Özge Nostar, 2002 yılında Aydın Adnan Menderes Anadolu Lisesi'nden mezun olmuştur. 2003-2008 yılları arasında lisans eğitimini Marmara Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği Eğitimi bölümünde tamamladıktan sonra 2008 yılında Ege Üniversitesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Filiz Özdemir danışmanlığında yüksek lisans programına başlamıştır. Özge Nostar halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.