

ŞUBAT 2019

Yüksek Lisans-Biyoloji

SUNA GÜNGÖR

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*OENOTHERA BIENNIS* L.'DE NaCl UYGULAMASININ  
FİZYOLOJİK ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ

SUNA GÜNGÖR  
ŞUBAT 2019

***Oenothera biennis* L.'de NaCl Uygulamasının Fizyolojik Etkileri**

**Gaziantep Üniversitesi**

**Biyoloji**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman**

**Doç. Dr. Muhittin DOĞAN**

**Suna GÜNGÖR**

**ŞUBAT 2019**



©2019[Suna GÜNGÖR]

T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: *Oenothera biennis* L.'de NaCl Uygulamasının Fizyolojik Etkileri

Öğrencinin, Adı Soyadı: Suna GÜNGÖR

Tez Savunma Tarihi: 07.02.2019

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. A. Necmeddin YAZICI  
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylarım.

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

İmzası

Doç. Dr. Murat KÜTÜK

.....

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

.....

Dr. Öğr. Üyesi Hidayet SAĞLAM

.....

**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Suna GÜNGÖR**

## **ABSTRACT**

### **PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF NaCl APPLICATION ON *OENOTHERA BIENNIS* L.**

**GÜNGÖR, Suna**

**M.Sc. in Biology**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhittin DOĞAN**

**February, 2019**

**46 pages**

Salinity is one of the most important environmental factors that limit plant growth and development. The aim of the present study is to evaluate the physiological effects of different NaCl concentrations (0, 25, 50 and 100 mM) on *Oenothera biennis* (evening primrose), which were grown in a climate chamber as hydroponically. The seeds of the plant were germinated in a controlled climate chamber in perlite. The seedlings were then transferred to vessels containing 10% nutrient solution. At the end of the acclimatization period, different concentrations of NaCl were applied to the seedlings during 10 days. Root and shoot weights of the seedlings were decreased by NaCl concentrations. Photosynthetic pigment contents were decreased with the increase in NaCl concentrations. Similarly, the protein contents of roots and shoots were decreased due to NaCl concentrations. Total carbohydrate content decreased in the roots of seedling, but increased in shoots. Non-protein SH groups of the roots and shoots were reduced by NaCl concentrations. Increases in the amount of hydrogen peroxide and malondialdehyde in seedlings and shoots were found. This may indicate the presence of oxidative stress due to NaCl toxicity.

**Key words:** *Oenothera biennis* L., NaCl stress, physiological effect.

## ÖZET

### ***OENOTHERA BIENNIS* L.'DE NaCl UYGULAMASININ FİZYOLOJİK ETKİLERİ**

**GÜNGÖR, Suna**

**Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji**

**Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Muhittin DOĞAN**

**Şubat, 2019**

**46 Sayfa**

Tuzluluk, bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan en önemli çevresel faktörlerden biridir. Bu çalışmada, farklı NaCl derişimlerinin (0, 25, 50 ve 100 mM) etkisinde ve su kültürü şartlarında yetiştirilen *Oenothera biennis*'teki (eşek otu) bazı fizyolojik değişimler araştırılmıştır. Bitkinin tohumları perlit ortamında ve kontrollü iklim dolabında çimlendirilmiştir. Fideler %10 besin çözeltisi içeren su kültürü kaplarına aktarılmıştır. Aklimasyon süresi sonunda, fidelere NaCl'nin farklı derişimleri 10 gün boyunca uygulanmıştır. Fidelerin kök ve sürgün ağırlıkları NaCl uygulamaları ile azalmıştır. Fotosentetik pigment içerikleri NaCl derişimlerindeki artışla birlikte azaldığı belirlenmiştir. Benzer olarak, kök ve sürgünlerin protein içerikleri de derişime bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Toplam karbonhidrat içerikleri, fide köklerinde azalmış iken, sürgünde ise artmıştır. Protein olmayan SH grupları ise kök ve sürgünde NaCl derişimleri tarafından azaltılmıştır. Fide kök ve sürgünlerinin hidrojen peroksit ve malondialdehit miktarlarında artışlar belirlenmiştir. Bu durum, NaCl toksisitesine bağlı oksidatif stresin varlığını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Oenothera biennis* L., NaCl stresi, fizyolojik etki



**Hayatımı daha değerli kılan prenseslerime...**



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezım süresince değerli bilgilerini paylaşan, akademik tecrübesiyle yolumu aydınlatan, bu süreçte sabrını ve desteğini hiç esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Muhittin DOĞAN'a;

Uzun bir aradan sonra tekrar akademik çalışma yapmak için beni yüreklendiren sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER'e

Tez çalışmam boyunca yardımcı olan arkadaşlarım Serap Şahin YİĞİT'e, Oummu Kulthum MOHAMMED ALI HASSENE'ye, Gülcan ÇINAR'a, Seda TAŞ'a,

Hayatımın her saniyesinde yanımda olduklarını hissettiğim Canım Aileme,

Varlığıyla beni daha güçlü kılan sevgili Eşime, Prenseslerim Ela ve Eylül'e

En içten teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT .....	v
ÖZET.....	vi
Hayatımı daha değerli kılan prenseslerime. . . . .	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
BÖLÜM 1 .....	1
GİRİŞ .....	1
1.1 Tuz Stresi.....	1
1.1.1 Toprak Tuzluluğu .....	3
1.1.2 Tuzluluğun Bitkiler Üzerinde Etkileri .....	5
1.1.3 Tuz Toleransı .....	7
1.1.3.1 Ozmotik Tolerans.....	7
1.1.3.2 Sodyum Dışlama.....	8
1.1.3.3 Doku Toleransı.....	10
1.2 <i>Oenothera biennis</i> L.....	12
1.2.1 Sistematığı .....	12
1.2.2 Ekonomik Önemi .....	12
1.2.3 Habitat.....	13
1.2.4 Büyüme ve Gelişme.....	14
1.2.5 Coğrafik Dağılımı .....	14
1.3 Çalışmanın Amacı .....	14
BÖLÜM 2 .....	15
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	15
BÖLÜM 3 .....	19
MATERYAL VE METOD .....	19

3.1 Deney Ortamı ve Uygulama.....	19
3.2 Ölçümler ve Tartımlar .....	19
3.3 Fizyolojik Analizler.....	20
3.4 İstatistiksel Analiz .....	21
<b>BÖLÜM 4 .....</b>	<b>22</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>22</b>
4.1 NaCl Stresinin Bitkinin Büyüme ve Gelişmesi Üzerine Etkileri .....	22
4.2 Protein İçeriği .....	23
4.3 MDA (Malondialdehit) İçeriği .....	24
4.4 Protein Olmayan SH grup Miktarı .....	24
4.5 Toplam Karbonhidrat Miktarları .....	25
4.6 Toplam Fenolik Bileşik Miktarları.....	26
4.7 Hidrojen Peroksit Miktarları .....	27
4.8 Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid Miktarları.....	27
4.9 Na İçerikleri.....	29
<b>BÖLÜM 5 .....</b>	<b>30</b>
<b>TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>30</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>35</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. 1 Tuzluluktan etkilenmiş toprakların tipi ve etkilenme düzeyleri.....	4
Şekil 1. 2 Tuz stresi altındaki <i>Arabidopsis</i> 'te sodyum dışlaması için sorumlu yollar..	10
Şekil 4. 1 NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin deney sonu genel görünümü.....	222
Şekil 4. 2 NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin taze ağırlıkları .....	23
Şekil 4. 3 NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin kuru ağırlıkları .....	23
Şekil 4. 4 NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin protein içerikleri .....	24
Şekil 4. 5 NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin MDA miktarları .....	25
Şekil 4. 6 NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin protein olmayan SH grup miktarları.....	25
Şekil 4. 7 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen <i>O. biennis</i> fide organlarının toplam karbonhidrat miktarları.....	26
Şekil 4. 8 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen <i>O. biennis</i> fidelerinin toplam fenolik madde miktarları. ....	27
Şekil 4. 9 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen <i>O. biennis</i> fidelerinin hidrojen peroksit miktarları .....	28
Şekil 4. 10 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen <i>O. biennis</i> fide yapraklarının fotosentetik pigment içerikleri .....	28
Şekil 4. 11 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen <i>O. biennis</i> fide organlarının Na içeriği.....	29

## SİMGELER VE KISALTMALAR

°C : Santigrat derece

g : Gram

km : Kilometre

m : Metre

ml :Mililitre

mm : Milimetre

M.Ö. : Milattan önce

NaCl : Sodyum klorür

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

#### 1.1 Tuz Stresi

Tuzluluk, çimlenme, bitki sağlığı ve bitki verimliliği üzerinde olumsuz etkileri olan tarımsal ürünlerin verimliliğini sınırlandıran en ciddi faktörlerden biridir (Munns ve Tester, 2008). Toprakların tuzluluktan etkilenmelerini sağlayan en önemli neden bu alanların tuzlu sularla sulanmasıdır. Dünya çapında sulanan 45 milyon hektardan fazla toprak tuz tarafından etkilenmiş ve toprakta yüksek tuzluluk seviyelerinin bir sonucu olarak her yıl 1.5 milyon hektar üretim dışı bırakılmıştır (Munns ve Tester, 2008; Carillo vd., 2011).

Tuzluluk, artan insan nüfusu göz önüne alındığında dünyada tarımın verimliliğini tehlikeye atarak besin ürünlerinin üretimini önemli düzeyde kısıtlayan çevresel faktörlerden birisidir (Botella vd., 2005). Bitkilerin en iyi gelişim gösterdikleri koşullar kendileri için optimum olan koşullardır. Bitki metabolizmasının esnekliğine bağlı olarak, bitkiler günlük ve mevsimlik değişimler karşısında büyüme ve gelişmelerini devam ettirebilmelerine rağmen, beklenmedik bir koşula sürekli veya zaman zaman maruz kalmaları sonucunda, hayatta kalmalarını etkileyecek hastalıklar, hasarlar veya fizyolojik değişimler meydana gelebilmektedir (Shao vd., 2008). Bu elverişsiz şartlara sebep olan faktörlere stres denir. Bitkileri etkileyen stres faktörleri biyotik (bitkiler, mikroorganizmalar, hayvanlar ve antropojenik etkiler) ve abiyotik stres faktörleri (radyasyon, sıcaklık, su, gazlar, mineraller vb.) olmak üzere ikiye ayrılır (Larcher, 1995; Çulha ve Çakırlar, 2012).

Abiyotik streslerden mineral stresi %20'lik oranıyla kuraklıktan (%26) sonra kullanılabilir alanları en fazla etkileyen stres faktörüdür (Blum, 1986). Mineral stresinin çoğunu tuzluluk oluşturur ve dünyada tuzluluğa maruz kalmış alan 9 milyon ha'dan fazladır (Tuteja, 2007). Yeryüzünde tarım alanlarının %17'si sulanmakta olup bu sulanan tarım alanlarının yaklaşık %20'sinin (227 milyon ha) tuzdan etkilendiği belirlenmiştir (Pitman ve Läuchli, 2002; Tuteja, 2007). Türkiye'de ise çorak alanlar

yüzey alanının %2'sini kaplamaktadır ve bu çorak alanların da %74'ünü (yaklaşık 12 bin ha) tuzlu topraklar oluşturmaktadır (Kendirli vd., 2005). Dünyada verimli toprakları kuşatan tuz stresi, bitkilerin gelişimini yapısal, fizyolojik ve biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarında değişimlere neden olarak etkilemektedir (Çulha ve Çakırlar, 2012).

Toprak çözeltisinde aşırı tuz birikiminin olması bitkinin büyümesini inhibe eder. Maruziyet devam ederse bu durum bitkinin ölümüne kadar gidebilir. Dünya ölçeğinde, hiçbir toksik madde bitki büyümesini tuzdan daha fazla kısıtlamaz. Tuz stresi bitki tarımı için artan bir tehdit oluşturmaktadır. Çeşitli toprak tuzluluğu kaynakları arasında, zayıf drenajla birlikte aşırı sulama (yanlış sulama) en ciddi boyutta olanlarıdır. Çünkü bu şekilde verimli tarım arazilerinin kaybedildiği bilinmektedir. (Zhu, 2007)

Yüksek tuzluluk bitkileri çeşitli şekillerde etkiler. Bunlar arasında su stresi, iyon toksisitesi, beslenme bozuklukları, oksidatif stres, metabolik süreçlerin değişmesi, membran yapısı, hücre bölünmesinin ve gelişmesinin azaltılması, genotoksite sayılabilir (Hasegawa vd., 2000; Munns, 2002; Zhu, 2007). Bu etkilerin hepsi birlikte bitki büyümesini, gelişmesini ve hayatta kalmasını azaltmaktadır (Carillo vd., 2011)

Bir bitkinin içinde bulunduğu tuz stresinin başlangıcı ve devamı sırasında fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması gibi tüm önemli süreçler etkilenir (Parida ve Das, 2005). Tuzluluğa ilk maruz kalma esnasında, bitkiler su stresine girer. Bu da yaprak genişlemesini azaltır. Tuzluluk stresinin osmotik etkileri, tuz uygulamasından hemen sonra görülebilir ve maruz kalma süresi boyunca devam ettiğine inanılmaktadır. Tuz stresi hücre genişlemesini ve hücre bölünmesini inhibe ederek stomatal kapanmaya neden olmaktadır (Flowers, 2004; Munns, 2002). Uzun süren tuzluluk maruzeti sırasında bitkiler, iyonik stres yaşarlar. Bitkiler yetişkin yaprakların erken yaşlanmasına dolayısıyla büyümeyi desteklemek için mevcut olan fotosentetik alanını azalmasına neden olabilecek iyonik stres yaşarlar (Cramer ve Novak, 1992). Aslında aşırı sodyum ve daha da önemlisi klorür bitki enzimlerini etkileyebilir ve hücre şişmesine neden olarak enerji üretiminde azalma ve diğer fizyolojik değişiklikler yapma potansiyeline sahiptir (Larcher, 1980). İyonik stres, protein sentezini bozarak ve enzim aktivesine müdahale ederek bitkileri etkiler. Yüksek sodyum iyonu  $Na^+$  olgun yapraklarda toksisite semptomlarına (kloroz ve nekroz) neden olur ve bu durum

yaşlı yaprakların erken yaşlanmasıyla sonuçlanır (Hasegawa vd., 2000; Munns, 2002; Munns ve Termaat, 1986).

Birçok bitki, tuzu hücrelerinden çıkarmak ya da hücredeki varlığını tolere etmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir (Carillo vd., 2011). Bu mekanizmalar seçici olarak iyonların biriktirilmesi veya atımı, kökten iyon alımının ve sürgüne iletiminin kontrolü, hücrelerde iyonların belirli bölümlerde (vakuol gibi) biriktirilmesi, bitkide eski yapraklarda fazla tuzun biriktirilip bu yaprakların dökülerek atılmasıyla fazla tuzdan kurtulma ve ozmotik düzenleyicilerin sentezi ve antioksidan sistemlerin devreye girmesi başlıca tuza tolerans mekanizmalarıdır (Parida ve Das, 2005; Çulha ve Çakırlar, 2012).

### **1.1.1 Toprak Tuzluluğu**

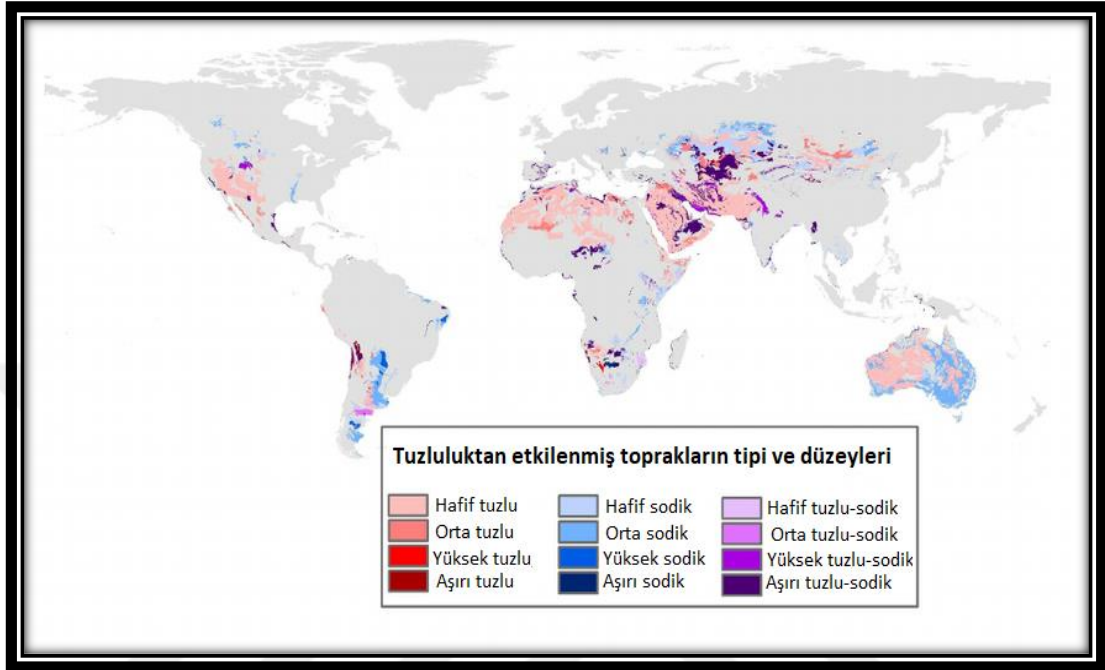
Toprak tuzluluğu ile ilgili en eski yazılı bilgiler M.Ö. 2400 yılına dayanmaktadır ve Irak'ın Dicle-Fırat alüvyon ovalarında kaydedilmiştir (Russel vd., 1965). Pratikte, hemen hemen tüm iklim bölgelerindeki topraklar tuzdan etkilenmektedir. Nemli tropik bölgelerden kutup bölgelerine kadar olan alanların hepsindeki topraklar tuzdan etkilenebilmektedir.

Tuzlu topraklar, deniz seviyesinin altından (Ölü Denizin etrafında) Tibet Platosu veya Rocky Dağları gibi 5000 metreden fazla yükseklikteki dağlara kadar farklı yüksekliklerde bulunabilir. Ayrıca, tuzlu toprakların oluşumu çöl şartlarıyla sınırlı değildir (Singh ve Chtrath, 2001). Tüm topraklar tuz içerir ve çok iyi kalitede olanlarda dahil olmak üzere, kanallardan ya da yer altı pompalamasından gelen sulama suları, bazı çözünmüş tuzlar içermektedir. Aslında tuz, toprakların ortak ve gerekli bir bileşenidir ve birçok tuz (örn. nitratlar ve potasyum) gerekli bitki besin maddeleridir. Tuzlar mineral ayrışma, inorganik gübreler, topraktaki değişiklikler yani tadilatla (Örneğin alçıtaşı, bitki artıklarının çürümesiyle oluşan organik gübreler, inorganik gübreler) ve sulama suları kaynaklıdır (Kotuby vd., 2000).

Sulamanın tuzluluk bağlamındaki genel etkisi, daha önce orada bulunmayan büyük miktarlarda yeni tuzların topraklara gelmesidir (Munns vd., 2004). Aslında, kuru tarımla yetiştirilen arazilerin yaklaşık %2'si ve sulama yapılan alanın 45 milyon hektarı (toplam sulanmış alanın en az %20 si) zaten tuz tarafından hasar görmüştür (Şekil 1.1) (Lauchli vd., 2008). Akdeniz bölgesi toprakları şu anda deniz suyundan su



sızmasıyla ve tuzlu suyla sulamanın sonucu olarak artan tuz stres problemlerine maruz kalmaktadır (Rana ve Katerji, 2000). Avustralya kıtasındaki tuzluluğun önemli bir nedeni rüzgâr ve yağmurda taşınan okyanus tuzlarının çökmesidir (Munns ve Tester, 2008).



**Şekil 1. 1** Tuzluluktan etkilenmiş toprakların tipi ve etkilenme düzeyleri (Zheng, 2014)

Bunlara ek olarak, pek çok peyzaj toprağındaki tuzun önemli bir kaynağı da yollarda ve kaldırımlarda kullanılan buz eritme amacıyla yapılan tuzlama çalışmalarıdır. Neredeyse çözünür olan bu malzemelerin de eklenmesi toprak tuzluluğunu artırmaktadır (Singh ve Chatrath, 2001). Toprak tuzluluğunun çeşitli kaynakları arasında zayıf drenajlı toprağıın sulanması en ciddi problemlerden birini temsil etmektedir. Yanlış sulama üretken tarım arazilerinin kaybedilmesiyle sonuçlanmaktadır (Zhu, 2007).

Sulama suyu kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ), magnezyum ( $Mg^{2+}$ ) ve sodyum ( $Na^{2+}$ ) içerir. Su buharlaşınca kalsiyum ve magnezyum genellikle karbonatla çökelir ve bunun sonucu olarak toprakta sodyum baskın hale gelir (Serrano vd., 1999). Sonuç olarak sodyum konsantrasyonunun yüksekliği makro ve mikro besin elementlerinin topraktan alımını olumsuz şekilde etkilemektedir (Grattana ve Grieveb, 1999). Topraktaki tuz miktarının artması (özellikle de NaCl) suyun kök içine atmasını önleyebilen veya

azaltabilen dış ozmotik potansiyel üretir. Ortaya çıkan su eksikliği kuraklık koşullarına benzemektedir (Bohmert, 2007).

### **1.1.2 Tuzluluğun Bitkiler Üzerinde Etkileri**

Toprak tuzluluğu, tarımsal ürünlerin verimini sınırlayan, tarımın gün geçtikçe çoğalan nüfus artışını sürdürme kapasitesini tehlikeye atan önemli bir faktördür (Flowers, 2004; Parida ve Das, 2005; Munns ve Tester, 2008).

Düşük tuz konsantrasyonlarında, verim az etkilenir veya hiç etkilenmez (Maggio vd., 2001). Konsantrasyonlar arttıkça, glikoliftler yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişemez ve 100-200 mM NaCl tarafından ciddi şekilde inhibe edilir veya ölürlür. Pek çok bitki glikofitler grubundadır (Zhu, 2007). Bunun nedeni, bu bitkilerin toprak tuzluluğunun düşük olduğu koşullara adapte olması yani tuza tolerans gösterememesidir (Munns ve Termaat, 1986). Aksine halofitler, 300-400 mM'ı aşan tuzluluğun üstesinden gelebilirler. Halofitler tuza tolerans gösterebilmek için spesifik mekanizmalara bağlı olarak filogenetik adaptasyon geliştirmişlerdir Kurşunlu ve kurak bölgelerin tuzlu topraklarında, halofitlerin büyüme kabiliyetlerinin olduğu belirtilmektedir. Tuz stresi altında bitkilerdeki iyon içeriğinin ölçülmesi halofitlerin tuz biriktirdiğini, buna karşın glikofitlerin tuzu dışlama eğiliminde olduklarını ortaya koymuştur (Zhu, 2007).

Yüksek tuzluluk, bitkileri iki ana şekilde etkiler. (i) Topraktaki yüksek tuz konsantrasyonları, köklerin su absorblama kapasitesini bozar ve bitkinin bünyesinde toksik etkiye neden olabilir. Böylelikle bir çok fizyolojik ve biyokimyasal işlemler engellenebilir (besin alımı ve asimilasyonu gibi) (Hasegawa vd., 2000; Munns, 2002; Munns vd., 1995; Munns ve Tester, 2008). Bu etkilerin her ikisi de bitki büyümesini, gelişimini ve yaşam süresini azaltır. Bitkiler yapraklarındaki tuz miktarının toksik seviyeye ulaşma oranına göre tuzluluğa toleranslı ya da hassas olarak değişiklik gösterirler. Tuzluluk seviyesine ve türlere bağlı olarak tuzun toksik etki yapma zaman ölçeği, günler, haftalar veya aylar alabilir. Faz 1 boyunca, her iki tip bitkinin büyümesi, tuz solüsyonunun kökün dışındaki osmotik etkisi nedeniyle azaltılmıştır. Faz 2 boyunca, hassas bitkideki eski yapraklar ölür ve bitkinin fotosentetik kapasitesini düşürür. Bu, büyüme üzerinde ek bir etki yaratır. Birincisinde, köklerin etrafındaki tuz konsantrasyonunun artmasından hemen sonra başlayan osmotik faz, köklerin su çekmesini zorlaştıran bir eşik seviyesine yükselir; sürgün büyüme oranı önemli

derecede düşer. Aynı zamanda, bu etkiye ani bir yanıt olarak filize doğru olan iyon akışı azalır, stomatal kapanma olur. Bununla birlikte, atmosfer ve yaprak hücreleri arasındaki su potansiyel farkı ve karbon fiksasyonu ihtiyacı nedeniyle, bitki kendini savunamayacak kadar uzun vadeli bir strese girer (Hasegawa vd., 2000). Sürgün büyümesi kök büyümesinden tuza bağlı osmotik strese karşı daha duyarlıdır. Muhtemelen yaprak alanının kök büyümesine oranla azalması, bitkinin su kullanımını azaltacağı ve böylece topraktaki nemi korumasına ve toprağın tuz konsantrasyonunu önlemesine engel olur (Munns ve Tester, 2008).

Tuzluluk dolayısıyla sürgünün büyümesindeki azalma genellikle azaltılmış bir yaprak alanı ve bodur sürgünlerle ifade edilir (Lauchli ve Epstein, 1990). Nihai yaprak büyüklüğü hem hücre bölünmesine hem de hücre uzamasına bağlıdır. Şeker pancarında hücre bölünmesini takiben yaprak oluşumunun başlangıcı, tuz stresinden etkilenmediğini göstermiştir. Ancak yaprak uzamasının  $Ca^{2+}$  durumuna bağlı olarak tuza duyarlı bir süreç olduğu belirlenmiştir (Papp vd., 1983). Dahası,  $K^+$  ve  $Ca^{2+}$  gibi önemli mineral besinlerin alınımının tuz tarafından indüklenen inhibisyonu kök hücre büyümesini daha da azaltmıştır. Özellikle, kök uçlarının genişlemesine zarar vermiştir (Larcher, 1980). Tuzluluk stresi altındaki köklerin apikal bölgesi geniş kofullaşma ve apikal dokunun tipik düzenlenmesinin eksikliği olarak görülmüştür. Fotosentetik dokularda, aslında,  $Na^+$  birikimi, enzimler, klorofiller ve karetenoidler gibi fotosentetik bileşenleri de etkiler (Davenport vd., 2005). Tuza duyarlı bitkilerde elde edilen fotosentetik hızdaki azalma, aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini de artırabilir. Normal olarak, ROT antioksidatif mekanizmalarla tetiklenebilir, ancak bu uzaklaştırma tuz stresi ile bozulabilir (Allen ve Fluhr, 1997; Foyer ve Noctor, 2003). ROT, aslında bitkilerin stres metabolizmasının toksik yan ürünleri olarak işlev gören abiyotik streslerin yanı sıra, kalsiyum, hormon ve protein fosforilasyonunun aracı olduğu stres yanıt yolu ağlarına entegre edilmiş önemli sinyal iletim moleküllerine tepki olarak ikili bir rol oynamaktadır (Miller vd., 2010).

Tuz stresi hasarlarının genel semptomları büyüme inhibisyonu, yaşlanmanın hızlanması, gelişimin yavaşlaması ve bitkinin ölümüne kadar devam eden bir süreçtir. Maruz kalma süresine göre bitkinin aldığı hasarlar değişmektedir. Tuz stresi ile karşı karşıya kalan bitkilerde stoma kapanması, fotosentezin azalması, fotohibisyon, oksidatif stres meydana gelebilir. Kök yüzeyindeki aşırı sodyum iyonları bitki potasyum beslenmesini bozmaktadır. Sodyum ve potasyum iyonlarının benzer

kimyasal niteliğinden dolayı, kök tarafından potasyum alımı üzerine sodyum güçlü bir engelleyici etkiye sahiptir. Toprak çözeltisinde sodyum iyonu fazlaysa bitki yeteri kadar potasyum alamaz. Potasyum eksikliği kaçınılmaz olarak büyümeyi inhibe edilir. Çünkü en bol hücre katyon olan potasyum hücre turgorunu ayarlamada, membran potansiyeli ve enzim aktivitelerinin sürdürülmesinde kritik rol oynamaktadır (Zhu, 2007).

### **1.1.3 Tuz Toleransı**

Bitkilerde tuz toleransının genetik kontrol mekanizmaları henüz karmaşıklığı nedeniyle tam olarak anlaşılamamıştır. Aslında, etkileri çevresel koşullarla çok etkileşen farklı türlerde tuzluluk toleransını kontrol eden birkaç gen vardır. Dolayısıyla, genetik varyasyon ancak farklı genotiplerin yanıtlarını ölçerek dolaylı olarak gösterilebilir. Özellikle orta dereceli tuzluluklarda büyüme veya verim muhtemelen yeni tür ölçümü için en uygun yoldur (Allen vd., 1994).

Tuz toleransı genetik özelliklerle önemli ölçüde değişebilir. Tuzluluğa toleranslı bir bitki türü, halofit bir tür bile olsa ani bir tuzluluğa maruz kalırsa tuza toleransı geçersiz olabilecektir (Albert, 1975). Ani bir şokun ayarlanmasının aksine farklı adaptif mekanizmalar tuzluluğa kademeli olarak uyum sağlanabilir. Belirli bir türün tuzluluk duyarlılığı, ontogenez sırasında değişebilir. Tuzluluk toleransları, bitki türlerini ve/veya çevresel faktörlere bağlı olarak artabilir veya azalabilir. Bazı türleri için, tuz duyarlılığı en fazla çimlenmede olabilirken, diğer türler için çoğalma sırasında duyarlılık artabilir (Howat, 2000; Marschner, 1986). Bitkiler tuzluğa alışmak için birkaç mekanizma geliştirmişlerdir. Bitki yanıtının ya da toleransının üçe ayırmak mümkündür. Bunlar osmotik tolerans, yaprak ayarlarından sodyumun dışlanması ve doku toleransıdır.

#### **1.1.3.1 Ozmotik Tolerans**

Ozmotik stres şartlarında, bitkilerin büyümesi çoğunlukla tuzu dışlama kapasitesine bakılmaksızın sınırlanır. Bu da büyüme oranlarının ve stomatal geçirgenliğin azalmasına neden olur (Fricke vd., 2004; James vd., 2008). Aslında, osmotik tolerans, bitkinin tuz stresinin kuraklık yönünü tolere etme, yaprak genişlemesi ve stomatal iletkenliği korumayı içerir (Rajendran vd., 2009).

Tuz uygulaması yapılan bitkilerde stomatal geçirgenlik ve nispi büyüme oranı arasında pozitif bir ilişki vardır ve yüksek stomatal geçirgenlik, daha yüksek CO<sub>2</sub> asimilasyon oranı ile ilişkilidir (Tames vd., 2008). Ancak tuz birikimi toksik konsantrasyonları aşarsa, yaşlı yapraklar ölür (genellikle eski genişletilmiş yapraklar) ve fotosentez ürünlerinin dışa aktarımı ile desteklenmeyen genç yapraklar büyümenin azalmasına yol açar. Bu sebeple artan ozmotik tolerans yeni ve daha çok yaprak üretimini ve daha yüksek stomatal iletkenliği içerir (Munns ve Tester, 2008). Sonuç olarak bitkilerin ozmotik strese verdiği tepki, habitatındaki besin elementleri seviyelerinden bağımsızdır. Stomaların geçirgenliği, karbon iskelet üretiminin sürdürülebilirliği, hücrelerin büyümeyi karşılamak için enerji talebi, bunların hepsi ortamdaki suyun mevcudiyetine ve kullana bilirlğine bağlıdır. Topraktaki tuz fazlaysa ortamda su olsa da bitkiler strese girebilirler (Nu vd., 2007).

### **1.1.3.2 Sodyum Dışlama**

Tuzluluk stresi altında büyüyen bitki türlerinin çoğunda, Na<sup>+</sup>'nın Cl<sup>-</sup>'den önce toksik bir konsantrasyona ulaştığı görülmektedir. Bu nedenle çoğu çalışma Na<sup>+</sup> dışlama ve bitki içindeki Na<sup>+</sup> taşınmasının kontrolü üzerinde yoğunlaşmıştır (Munns ve Tester, 2008). Dolayısıyla, toleransın önemli bir diğer mekanizması, bitkilerin hücrelerinin sitosolde sodyum birikmesini minimize ederek bitkideki iyonik stresin azaltılmasını içerir. Özellikler sodyumun yapraklara yayılmasının önlenmesi çok önemlidir. Bu süreç bununla birlikte doku toleransı, spesifik iyon kanallarının ve taşıyıcıların ekspresyonunun yukarıya ve aşağıya düzenlenmesini içerir ve bitki boyunca Na<sup>+</sup> transportunun kontrol edilmesine izin verir (Munns ve Tester, 2008 ; Rajendran vd., 2009).

Yapraklardan sodyumun dışlanması, pirinç, makarnalık buğday, ekmeçlik buğday ve arpa gibi hububat mahsullerinde tuza karşı toleransla ilişkilidir (Richard vd., 2011). Yapraklardan Na<sup>+</sup>'nın dışarıda bırakılması, kök korteksindeki hücelere bağlı net Na<sup>+</sup> alımının düşük olması ve ksilemin parankima hücreleri tarafından net yüklenmesinin sıkı biçimde kontrol edilmesinden kaynaklanmaktadır. (Davenport vd., 2005).

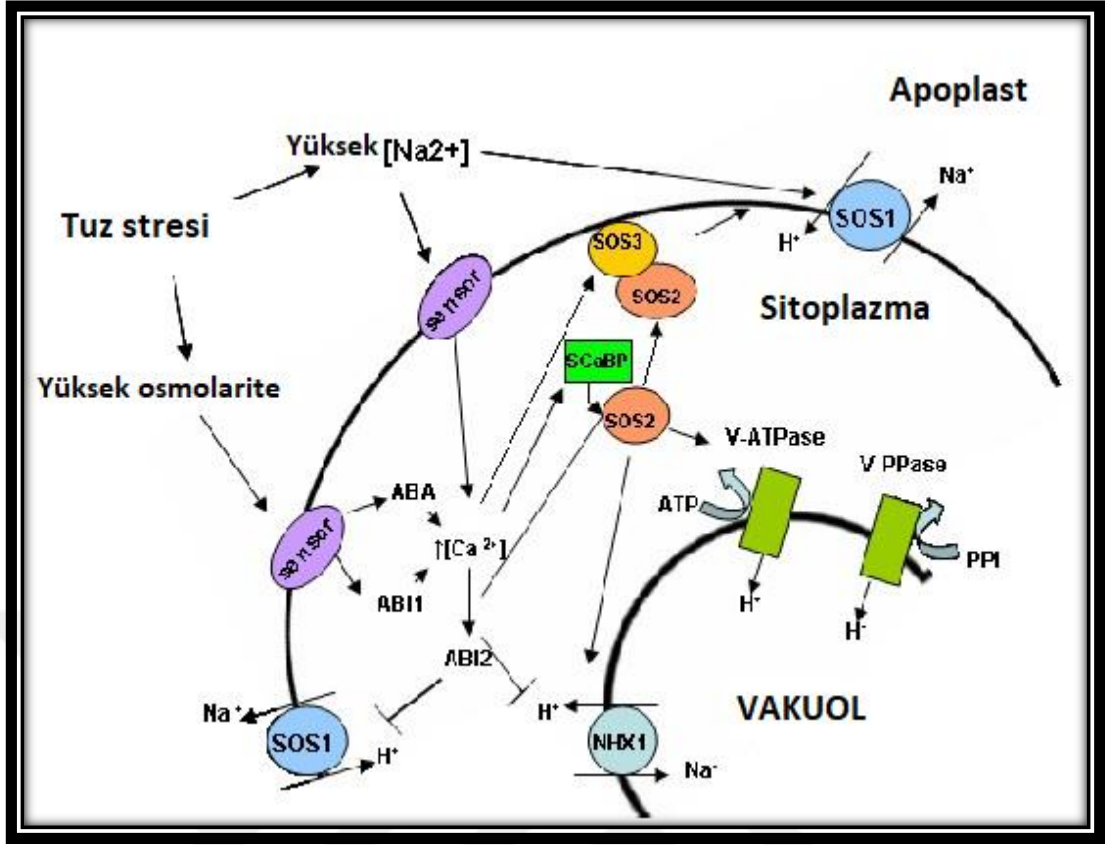
Kökler sayesinde sodyum alımının kontrol edilmesi yaprak ayası içerisindeki sodyumun toksik konsantrasyonlara ulaşmasını engeller. Sodyum dışlaması türlere bağlı olarak belli bir noktaya kadar tolere edilebilir. Türlerin göstereceği tolerans bağlı olarak günler veya haftalar sonrasında toksik etkisini gösterir ve yaşlı yaprakların

erken ölümüne neden olur (Munns ve Tester, 2008). Bu mekanizmada en önemlisi köklerin sodyum ve klor iyonlarının geçirgenliği azalır. Böylece tuz bitki bünyesine daha az dahil edilir. Kökteki bu engelleme ultrafiltrasyon denilen (kaspari şeridi) filtre sistemi ile gerçekleştirilir (Botella vd, 2005).

Tuzun köklerle alınmasını engelleyen bir diğer sistem de sürgüne ulaşan  $\text{Na}^+$  miktarını minimum düzeyde tutabilmek için toprakta ilişkili olan hücrelerinden sodyum girişi baskılanırken, toprak çözeltisine doğru sodyum çıkışını artırmaktır (Tester ve Davenport, 2003). Kök tarafından sodyum miktarının bu şekilde düzenlenmesi kökte iletim hücrelerinde yer alan kontrol noktaları (transport proteinleri vb.) tarafından gerçekleştirilir (Botella vd., 2005).

Sodyumun nasıl algılandığına dair bilgiler çoğu hücresel sistemde henüz tam olarak anlaşılammıştır. Teorik olarak, sodyum hücreye girmeden önce veya sonra ya da her ikisi birden algılanabilir. Hücre dışındaki sodyum bir membran reseptörü tarafından algılanabilirken, hücre içi sodyum membran proteinleri yada sitoplazmadaki bir çok sodyuma duyarlı enzimden biri aracılığıyla algılanabilir (Carillo vd., 2011).

Köke giriş yapan  $\text{Na}^+$ 'un bir kısmı sürgüne doğru taşınırken, bir kısmı geçilen hücrelerin vakuollerinde vakuol tipi  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  taşıyıcıları (NHX) aracılığı ile depolanır ve böylece sürgüne taşınan  $\text{Na}^+$  miktarı azalır (Şekil 1.2).  $\text{Na}^+$ , merkezi silindirden ksileme hücre zarına bağlı  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  taşıyıcıları (SOS1) ile yüklenir. Kökte,  $\text{Na}^+$ 'un ksilemden köke geri yüklenmesi  $\text{Na}^+$ 'a karşı seçici olmayan uniportlar (HKT ve Nax) aracılığıyla gerçekleştirilir. Yapraklarda ise  $\text{Na}^+$  'un ksilemden parankima hücrelerine taşınımı  $\text{Na}^+$ 'a karşı seçici olmayan uniportlarla ve NSCC kanallarıyla gerçekleşir (Apse ve Blumwald, 2007). Yaprakta biriken fazla  $\text{Na}^+$ , SOS1'ler ile ksileme geri yüklenerek veya floem döngüsüne katılarak köke geri gönderilebileceği gibi NHX aracılığıyla vakuolde biriktirilerek de azaltılır (Botella vd., 2005).  $\text{Na}^+$ 'un floemden köke geri taşınmasıyla ilgili mekanizma tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen, Berthomieu vd. (2003)'nin *Arabidopsis* ile yaptıkları çalışmada,  $\text{Na}^+$ 'un sürgünde floeme aktarılarak köke geri gönderilmesine, AtHKT1 geninin ürünü olan  $\text{Na}^+$  taşıyıcılarının aracılık ettiği belirtilmiştir (Çulha ve Çakırlar, 2012).



Şekil 1. 2 Tuz stresi altındaki *Arabidopsis*'te sodyum dışlaması için sorulu yollar (Silva ve Geros, 2009).

### 1.1.3.3 Doku Toleransı

Doku toleransı bitki tolerans mekanizmalarının üçüncüsüdür ve eski yaprakların hayatta kalma oranını artırır. Sitoplazmada, özellikle yapraklarda bulunan mezofil hücrelerinde uyumlu çözünenlerin sentezi ve aşırı birikimin toksik konsantrasyonlara ulaşmasını önlemek amacıyla hücre içi sodyum ve klor iyonlarının birbirinden ayrılması gerekmektedir (Munns vd., 2008). Uyumlu çözünenler bitki osmotoleransın da çeşitli yollarla , enzimlerin denatürasyondan korunması, stabilize edici membran veya makromoleküllerin rol oynadığı veya osmotik ayarlamaya aracılık etmede adaptif roller oynamaktadır (Ashraf vd., 2007). Uyumlu çözünenlerin işlevi osmotik dengeyi sağlamak ile sınırlı değildir. Uyumlu çözünenler tipik olarak hidrofiliktir, proteinlerin ve zarların yüzeyindeki suyun yerini alabilir, böylece düşük moleküler ağırlıklı şaperonlar gibi davranabilir (Hasegowa vd., 2000). Bu çözünmüş maddeler, aynı zamanda ROS'u süpürmek yoluyla hücresel yapıları korumak üzere işlev görür (Hasegawa vd., 2000; Zhu, 2001). Uyumlu çözünenler küçük moleküllerdir, suda çözünebilirler, hücre içinde homojen dağılım gösterirler, nötrdürler, yüksek

konsanstrasyonlara ulaşsalar bile hücresel işlevlerin bozulmasına yol açmazlar (Sakamoto, 2002; Yancey vd., 1982). Bunlar, aminoasitler, aminler ve betainler gibi nitrojen içeren bileşiklerdir, ayrıca organik asitler, şekerler ve polioller içerirler.

Kuraklık stresi altında ve tuz stresi altında bitkilerle yapılan çalışmalarda prolin ve glisin betain büyük oranda arttığı rapor edilmiştir (Munns, 2002; Sakamoto vd., 2002). Tuz stresi altındaki makarnalık buğdayda ve buğdaygillerden farklı bazı bitkilerde de önemli metabolitlerin oluşturduğu bildirilmiştir (Ashraf vd. 2007; Carillo vd., 2005; Sairem vd., 2004). Birçok halofitte yapraklardaki prolin ve/veya glisin betain konsantrasyonları, bir bütün olarak hücredeki osmotik basınca katkıda bulunur (Flowers vd., 1977). Glikofitlerde konsantrasyonları çok daha düşüktür, ancak stoplazmaya dağılımlarıyla önemli derecede osmotik basınç oluşturabilir ve sonrasında vakuolar osmotik potansiyeli dengeleyebilirler.

Prolin, birincil metabolizma için gerekli olağanüstü konformasyonel sertliğe sahip, genellikle tuzluluk veya kuraklık stresine yanıt olarak büyük miktarlarda biriken proteinojenik bir amino asittir (Ashila vd., 2007; Carillo vd., 2008; Hasegawa vd., 2000; Szabados vd., 2010). Normalde prolin birikimi sitozolde meydana gelir. Görevi stoplazmik osmotik ayarlamaya katkıda bulunmaktır. Ayrıca oksidasyonu azaltmak için de biriktirilir (Ketchum vd., 1991).

Prolin birikimi, stresin başlangıcından sonra hızla gerçekleşir ve bu, başlangıçta bu birikimin tuz stresine bir reaksiyon olduğu ve toleransa bağlı bir bitki olduğu hipotezini desteklemektedir (Carillo vd., 2008; Lacerda vd., 2003). Osmotik ayarlama işlev görmesine ek olarak, prolin, proteinlerin ve membranların stabilize edilmesine, serbest radikallerin temizlenmesine ve stres koşulları altında hücresel redoks potansiyelinin tamponlanmasına da katkıda bulunur. Ayrıca stoplazmadaki asidozu hafifleten bir işlev gösterebilir (Hare vd., 1997). Bunlara ek olarak, stresin etkilerinin hafifletilebilmesi için prolinin hızlı bir biçimde parçalanması, stres hasarının onarımını ve mitokondriyi uyararak ATP'yi üreten indirgeyici ajanları sağlayabilir. (Carillo vd., 2008; Cress, 1997). Dahası, prolin tuz stresine tepkili genlerin ekspresyonunu indüklediği bilinmektedir (Ashrat vd., 2007; Chinusamy vd., 2005)



## 1.2 *Oenothera biennis* L.

### 1.2.1 Sistematığı

- **Alem** = Plantae
- **Bölüm** = Angiospermae
- **Sınıf** = Dicotyledonae
- **Takım** = Mrytales
- **Familiya** = Onagraceae
- **Cins** = *Oenothera*
- **Tür** = *Oenothera biennis*

*O. biennis*, eşek otu olarak bilinir. Hafif kumlu veya çakıllı topraklarda yaygın olarak oluşan, yol kenarı ve atık alanlarının yaygın yabancı bitki türüdür. Tür, Kuzey Amerika'ya özgüdür. Kanada şehrinde yaygın olarak görülse de doğuda batıya kıyasla daha fazla yetişmektedir. Bitkinin yaygın olarak bulunmasını sağlayan önemli ana faktörlerden biri de tohumlarının ve kendisinin kuraklığı tolere etme kabiliyetidir (Hall vd., 1988).

Yaşam süresi boyunca yalnızca bir kez çiçek açar ve tohum verir. Bir kış boyunca yaşar ya da 2 yıllık olabilirler. Küçük düzensiz şekilli tohumların yağ içeriği yüksektir.  $\gamma$ -Linoleik asit ve tıbbi açıdan değerli yağ asitleri içermektedir. *O. biennis* tohumlarındaki yağdan dolayı ekonomik açıdan büyük önem taşır. Endüstriyel alanda, tıbbi alanda ve tedavi edici besin olarak geniş kullanım alanları vardır (Hall vd., 1988).

### 1.2.2 Ekonomik Önemi

*O. biennis* yenilebilir bir bitkidir. Genç yaprakları salatalarda çiğ olarak yenilebileceği gibi kazık kökleri pişirilerek de yenilebilir (Fernald vd., 1958; Peterson, 1977; Szczawinski ve Turner, 1978).

Sonbaharda geç dönemde toplanan olgun bitki kapsülleri kurutulmuş çiçek aranjmanlarında kullanılır. Bu bitkinin tıbbi bir bitki olarak uzun bir geçmişi vardır (Ericksen-Brown, 1979; Meyer, 1979). Zihinsel depresyonlara karşı çay gibi demleme içecekleri hazırlanabilir. Ayrıca soğuk algınlığına bağlı öksürüklerde çay gibi demlenip içilebilir. Kızarıklık, kaşıntı ve deri döküntüleri için yatıştırıcı merhem hazırlamada da bu bitki kullanılır (Lust, 1974). *O. biennis*'in tohumları prosteglandin

E<sub>1</sub> öncülü olan  $\gamma$ -linoleik asitten ve diğer yağ asitlerinden ve bunların türevlerinden oluşan geniş bir yağ fraksiyonu içerir (Wolf vd., 1983; Hudson 1984). Prosteglandin E<sub>1</sub> hayvanlarda fizyolojik olarak kan damarlarını genişletici olarak etkilidir. İnsanda pıhtı toplanmasını engeller, böbreklerdeki kan akışını uyarır ve yağların ayrışmasında temel bir inhibe edici etkisi vardır (Moncada vd. 1985). Ayrıca, bu bitkiden elde edilen yağ, tromboz riskini azaltmakta yani kanın damar içinde pıhtılaşmasını engellemekte, kandaki kolesterol düzeyini düşürmekte ve adet öncesi sendromunu hafifletmektedir. Hulen vd. (1987) tohumların lipid içeriğinin %16-34 arasında değiştiğini ve bunun yaklaşık %10'unun  $\gamma$ -linoleik asit olduğunu bulmuştur. Tohumdaki lipid oluşumu, tam tohumluk boyuta ulaşıldıktan sonra tohum renginin değişmesinden kısa bir süre önce ortaya çıkar (Palmer, 1985). Tohumların ham protein içeriği %16,5'tir.

*O. biennis*, Kanada Federal Bölgesi veya Eyaletlerinde yabancı ot ve taban tohum olarak listelenmemiştir. Tohumdan üreyen bitki kışın yıllık veya çevre koşullarına göre iki yıllık olabilmektedir. Kazık kökleri kalın ve etlidir. Tohum çimlenmesi yaz mevsiminde ya da sonbaharda olmaktadır. Çimlenmesi sonbahara kalırsa yani gecikirse bu kısa kalın rozet yapraklarla çevrili bir gövde oluşumuna sebep olur. Rozet yapraklar basit, taban ve uçları akut, rekumbent oblanseulat-ovattır. Genellikle ikinci yılda gelişen çiçekli gövdeler dallanan ya da dallanmayan yapıda olabilir. Yapraklar alternat dizilişlidir. Gövde yaprakları basit yapıda 8-12 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde, repand-dentikulat marjinli, lanseolat-ovat şekilde akut uçlu kuneat tabanlı, tüsüz pulsu kabuğa benzer yapıda rekumbenttir. Çiçek durumu 40 cm ye kadar uzanan bir çiçek sapı üzerinde ve dikkat çekicidir. Çiçek tipi (hipantiyum) 3-6 cm sarı-yeşil, 20-22 cm uzunluğunda ve 4-5 milimetre genişliğinde, lanseolat 4sepal, orbikular (dairesel küre biçiminde), 15-25 mm uzunluğunda sarı 4 petal, anterleri filamentlere ortasından bağlı 8 anter 4 loplulı sitgmatoya sahip pistillidir. Meyve kapsül şeklinde olup, 25-29 mm uzunluğunda 6 mm genişliğindedir. Çok sayıda tohum içerir. Tohumlar 1.5x0.8x0.6 mm ebatlarında düzensiz (irregular), sivri çıkıntılı köşeleri olan buruşuk yüzeyle obcalı ve kahverengidir (Montgomery1977).

### 1.2.3 Habitat

- a) **İklimsel gereklilikler:** *O. biennis*'in uzun zamandır süs bitkisi olarak yetiştirildiğini ve her iki yarım kürenin ılıman bölgelerinde doğallaştırıldığını belirtmektedir. Türler 5 °C üzerinde büyüdüğü bildirilmiştir (Palmer, 1985).

- b) **Yetiştigi toprak koşulları:** *O. biennis* iyi drene edilmiş, hafif kumlu ve çakıllı topraklarda yetişir. Çorak arazileri ve kurak yerleri sever. Bunun yanında günümüzde yaygın dağılımın sebebi, yerleşimin artması, çöp atılan alanlarda yayılımı ve açık alanlardaki dağılımıdır (Fernald, 1950).

Ottawa bölgesindeki varlığı, ilk olarak 1880’de, Field Naturalists Club Transactions (No:1 S.51) bölümünde belirtilmiştir. Ulusal müzenin en erken herbaryum kaydı Chatham’da (Ont.) 1870’de toplanmıştır.

#### **1.2.4 Büyüme ve Gelişme**

Genç bitki üst kısmı düz rozet yapraklarla desteklenen etli kalın bir gövde ve kazık kökten oluşur. Gelişmenin ilk yılında kuvvetli bir kazık kök oluşturulması çok önemlidir. Besin maddelerinin topraktan alımı ve nem kaynağı sağlayan toprağın kumlu veya çakıllı bir zemin olması, ışık geçirgenliği ve nemin alımını kolaylaştırmak açısından oldukça önemlidir (Hall vd., 1988).

#### **1.2.5 Coğrafik Dağılımı**

*O. biennis* doğal olarak kuzey Amerika ya dağılım gösteren bir türdür. Newfoundland’dan Kanada’nın bir eyaleti olan Quebec’e oradan güney Florida’ya kadar uzanır (Fernald, 1950). Teksas’da ve Alberta’nın güney kısmı ve batısında ve Washington’da doğal olarak yayılışı vardır (Gleason, 1958). Kanada’da bu türün örnekleri toplanabilir. Vancouver’de ve Newfoundland’ın doğu kıyılarında *Oenothera* türlerine rastlanabilir. Bununla birlikte batıya doğru olan taşra bölgelerde sınırlı olarak ortaya çıkmaktadır (Hall vd., 1988).

#### **1.3 Çalışmanın Amacı**

Bu çalışma, bitki büyüme ve gelişmesini sınırlayan önemli edafik faktör olan NaCl tuzluluğunun, hidroponik ortamda yetiştirilmiş olan *Oenothera biennis*’de meydana getireceği fizyolojik etkileri belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmamız sonuçlandırıldığında, *Oenothera biennis*’de NaCl tuzluluğunun fizyolojik parametrelere etkileri ilk kez araştırılmış olacaktır.

## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sikha vd. (2014) yaptıkları çalışmada *O. biennis*'in fide büyümesi ve tohum canlılığına tuzluluğun etkisini araştırmışlardır. 4 farklı tuz konsantrasyonu uygulamışlardır. (25, 50, 75 ve 100 mM) 50mm konsantrasyona kadar çıkarıldığında tuzun tohum çimlenmesine pozitif etki yaparak artırdığını görmüşlerdir. Araştırmacılar daha yüksek tuz konsantrasyonlarında tohum çimlenmesinin negatif olarak etkilendiğini bulmuşlardır. 100mM tuz konsantrasyonu uygulanan fide hayatta kalmış ve büyüdüğü görülmüştür. Sonuç olarak araştırmacılar bu türün fidelik evresinde tuza tolerans gösterebildiğini görmüşlerdir. Tuz stresi arttıkça kök ve kökün uzamasının azaldığı gözlemlenmiştir. Tohumun canlılık endeksinin, stres konsantrasyonları arttıkça azaldığı görülmüştür.

Meloni vd. (2004) yaptıkları çalışmada *Prosobis alba* (algarrobo) (gıda ve mobilya endüstrisinde kullanılan en önemli tuza dayanıklı mezgitlelerden biridir.) bitkisinde tuzluluğun bazı büyüme ve fizyolojik parametreler etkilerini araştırmışlardır. 17 günlük fideler 0,300 ve 600mmol L<sup>-1</sup> son konsantrasyonuna ulaşılan kadar her 24 saatte 50 mmol L<sup>-1</sup> artışlarla büyüme ortamına tuz ekleyerek 3 tuz muamelesine tabi tutulan bitkide sadece en yüksek tuz konsantrasyonu araştırılan parametrelerin hepsinde etkili olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar en yüksek tuz konsantrasyonun kök ve sürgün büyümesinde belirgin bir azalmaya neden olurken, kök/sürgün oranında bir artışa neden olduğunu gözlemlenmişlerdir. Yaprak ve köklerde yaprak bağıl su içeriği, nitrat içeriği ve nitrat redüktaz aktivitesinde azaldığı bulunmuştur.

Ghoulam vd. (2002) yaptıkları çalışmada 5 şeker pancarı çeşidine kum kültüründe 30 gün boyunca 0, 50, 100 ve 200 mM NaCl olmak üzere 4 tuz muamelesine tabi tutarak fizyolojik parametrelerini ölçmüşlerdir. Yüksek tuz konsantrasyonları, köklerin taze ve kuru ağırlığı, yaprak ve yaprak alanı gibi büyüme parametrelerinde büyük bir azalmaya neden olurken, yaprak sayısı bu durumdan daha az etkilenmiştir. Bu değişimler su içeriği ve K<sup>+</sup> konsantrasyonlarındaki azalmayla ilişkilidir. Ancak Na<sup>+</sup> ve

Cl<sup>-</sup> içerikleri yapraklarda büyük oranda artmıştır. Potasyum sızıntısı ve prolin içeriğinde arttığı, ancak nitrat redüktaz aktivitesinin test edilen tüm çeşitlerin yapraklarında azaldığı belirlenmiştir

Heuer vd. (2002) yaptıkları çalışmada 3 farklı bitkinin yağ verimi ve kalitesi üzerine tuzlu su ile sulamanın etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar tuzluluğun yağ içeriğini ve her bitkinin kompozisyonunu farklı şekilde etkilediğini gözlemlemişlerdir. Tuzlu su ile sulamanın *Salvia hispanica* bitkilerinde yağ verimini düşürdüğü bulunmuştur. Bunun aksine *O. biennis* yağ veriminin arttığı gözlemlenmiştir. *Matthiola tricuspidata* bitkisinde ise yağ verimi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Araştırmacılar ayrıca tuz uygulamasının klinik etkileri olabilecek yağların kompozisyonunda değişiklikler bulmuşlardır.

Yakut ve Tuna (2006) yaptıkları çalışmada tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine (membran geçirgenliği, nispi su içeriği, prolin, klorofil ve karetonoid miktarları ile yaprak ve köklerde makro elementler) kalsiyum, potasyum ve magnezyumun etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar mısır bitkisinin besin ortamına tuzla birlikte verilen kalsiyum, magnezyum ve potasyumlu bileşiklerin membran geçirgenliği ve bağıl su içeriği üzerine iyileştirici etki yaptığını bulmuşlardır. Bu uygulamanın tuz stresinin olumsuz etkilerini kısmen hafiflettiği gözlemlenmiştir. Araştırmacılar prolin oranının tuz uygulaması ile beraber arttığını bulmuşlardır. Araştırmacılar ayrıca toplam klorofil ve toplam karetonoid miktarlarında tuz uygulamasıyla olumsuz etkilendiğini ancak besin çözeltisine ilave edilen kalsiyum, magnezyum ve potasyumlu bileşiklerin tuzun olumsuz etkilerini hafiflettiğini saptamışlardır.

Tuna vd. (2007) yaptıkları çalışmada domates (*Lycopersicum esculantum*) ile bir saksı deneyi tasarlamışlardır. Deneyde kontrol grubu, sadece tuz stresi (75 mM) uygulanan grup ve iki farklı derişimde uygulanan (2.5 ve 5 mM CaSO<sub>4</sub>) kalsiyum sülfat tuz stresi ile birlikte domates bitkisinde meydana getirdiği fizyoloji değişimleri gözlemlemişlerdir. Tuz stresi altında yetiştirilen bitkilerin standart besin solüsyonunda yetiştirilenlerden daha düşük kuru madde, meyve ağırlığı ve nispi su içeriği bulunduğu araştırmacılar tarafından görülmüştür. Araştırmacılar tuz içeren besin çözeltisine ilave edilen kalsiyum sülfatın domates bitkisinde bitki büyümesini, meyve verme, membran geçirgenliği gibi fizyolojik değişkenleri önemli ölçüde geliştirdiğini bulmuşlardır.

Araştırmacılara göre kalsiyum sülfatın buradaki en önemli iyileştirici etkileri; membran geçirgenliğini korumak, yaprakta  $Ca^{2+}$ , N ve  $K^+$  iyonlarının konsantrasyonlarını artırmak, sodyum iyonunun konsantrasyonunu düşürmek (kök bölgesindeki katyon rekabetinden dolayı) olarak gösterilebilir. Bu alışma göstermiştir ki  $CaSO_4$  uygulaması domates bitkilerinde üretim problemlerine ekonomik ve basit bir çözüm sunabilir. Böylece domateste daha yüksek verim elde edilebilir.

Hancı vd. (2016) yaptıkları çalışmada bazı soğan eşitlerinin (*Allium cepa* L.) tuz stresi altındaki yapraklarında prolin, klorofil a, klorofil b, toplam klorofil, karetonoidler, sodyum, kalsiyum, potasyum, klorür içerikleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Yedi farklı soğan çeşidi kullanılan çalışmada 63 günlük bitkilere 3 farklı konsantrasyonda tuz stresi uygulanmıştır. Araştırmacılar 6 hafta boyunca tuz stresi altında yetiştirilen soğan çeşitlerinin farklı yanıtlar gösterdiğini bulmuşlardır. Artan tuzluluk seviyeleri, azalmış klorofil ve karetonoidler, artmış prolin ile sonuçlanmıştır. Çalışmada kullanılan tüm çeşitlerin Sodyum, potasyum ve klorür içeriklerinin tuzluluktan önemli ölçüde etkilendiği araştırmacılar tarafından gözlemlenmiştir.

Memon vd, (2010) yaptıkları çalışmada 6 farklı tuz konsantrasyonu (0, 50, 100, 150, 200, 250 mMol NaCl) ve 6 farklı pak choi (in lahanası) tohumu kullanarak tuz konsantrasyonlarının tohum çimlenmesi üzerine etkisini araştırmışlardır. 250 mmol tuz uygulamasında tüm çeşitlerde çimlenmenin gerçekleşmediğini bulmuşlardır. Araştırmacılar düşük tuz konsantrasyonunun kontrolle karşılaştığında tohum çimlenme ve fide büyümesinin yüzdesini önemli ölçüde artırdığını bulmuşlardır. Ancak artan tuz konsantrasyonlarının çimlenme yüzdesini azalttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada 50 mMol NaCl uygulamasının bu bitki için daha yüksek tohum çimlenme yüzdeleri elde etmek için faydalı olabileceğini gözlemlenmişlerdir.

Sikha vd. (2014) yaptıkları çalışmada tıbbi bir bitki olan *O. biennis*'in farklı konsantrasyonlardaki (25, 50, 75 ve 100 mM) tuzun tohum canlılığı, fide büyümesi ve fidenin ortaya çıkışına olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar 50 mM e kadar artan stres rejiminin tohum çimlenmesini artırdığını gözlemlenmişlerdir. Ancak daha yüksek tuz konsantrasyonları ile tohum çimlenmesi arasında negatif bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar 100 mM NaCl konsantrasyonunda bile fidenin hayatta

kaldığını ve büyüdüğünü görmüşlerdir. Bu çalışmada bu türün tohum büyümesi aşamasında tuza toleranslı olduğu düşünülmüştür. Tuz stresi arttıkça kök ve kök uzamasının yavaşladığı görülmüştür.



## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOD

#### 3.1 Deney Ortamı ve Uygulama

Eşek otu (*Oenothera biennis*) tohumları Gaziantep Yavuzeli ilçesi civarından toplanmıştır. Eşek otu perlit ortamına ekimden önce %5'lik sodyum hipoklorit ile 15 dakika boyunca steril edildi. Bu tohumlar sonra, üç kez distile sudan geçirilerek yüzeylerindeki sodyum hipoklorit arındırılmıştır. Daha sonra, eşek otu tohumları kalsiyum nitrat ile ıslatılmış perlit ortamına ekimi yapılmıştır. Ortam ihtiyaç durumunda distile su ile sulanmıştır. Çimlendirme aşaması kontrollü iklimlendirme dolabında ve  $23\pm 1$  °C'de gerçekleştirilmiştir. Tohumlar 3-4 gün içinde çimlenmeye başlamıştır. Çimlenen eşek otu fideleri yine kontrollü şartlarda ( $\sim 120 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$  ışık ve  $23\pm 1$  °C sıcaklık) gelişimlerinde devam ettirilmiştir. İki ay boyunca, eşek otu fidelerinin yetiştirilmesinde 0,88 mM  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 2 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 0,25 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 mM  $\text{MgSO}_4$ , 0,11 mM  $\text{KCl}$ , 100  $\mu\text{M}$  Fe-EDTA, 10  $\mu\text{M}$   $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 5  $\mu\text{M}$   $\text{MnSO}_4$ , 10  $\mu\text{M}$   $\text{ZnSO}_4$ , 2  $\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4$  ve 0,2  $\mu\text{M}$   $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  içeren besin çözeltisi %10'luk derişimde kullanılmıştır. Daha sonra, her kaptaki üç bitki olacak şekilde, eşek otu fideleri %10'luk besin çözeltisi ihtiva eden 500 ml'lik su kültürü kaplarına aktarılmış ve on gün boyunca su kültürü ortamına aklımasyonu sağlanmıştır. Yeni deney ortamına alışma periyodu sonunda eşek otu fidelerine NaCl'nin 0, 25, 50 ve 100 mM derişimleri uygulanmıştır. Uygulama çözeltileri iki güne bir değiştirilerek yenilenmiştir. On günlük tuz uygulamasının ardından, fideler hasat edilmiştir. Fidelerin yaprakları ve kökleri üç kez distile su ile yıkanmıştır. Fizyolojik analizlerde kullanılacak eşek otu organları analiz edilinceye kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

#### 3.2 Ölçümler ve Tartımlar

Hasat edilen fidelerin kök ve yaprak taze ağırlıkları hasat anında, kuru ağırlıkları ise 80°C'de sabit tartıma kadar etüvde kurutulduktan sonra hassas terazi ile tartılarak belirlenmiştir.



### 3.3 Fizyolojik Analizler

Pigment tayini için taze bitki yapraklarından 100 mg tartılmış ve porselen havanda % 80'lik aseton ile homojenize edilmiştir. Daha sonra son hacim 10 ml olacak şekilde % 80'lik asetonla tamamlanmış ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Klorofil a için 662 nm, klorofil b için 645 nm ve karotenoid için 470 nm'de UV spektrofotometrede asetona karşı (tanık) okumalar yapılmıştır. Klorofil a, klorofil b ve karotenoid hesaplamaları Lichtenthaler ve Wellburn (1985)'e göre yapılmıştır.

Eşek otu (*O. biennis*) fidelerinin kök ve sürgünlerinin MDA (Malondialdehit) analizleri için, örnekler %10'luk trikloroasetik asitte homojenize edilmiştir. Bu numuneler santrifüj edildikten sonra, 2 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml tiyobarbitirik asit eklenmiş ve 95°C'de 30 dakika su banyosunda bekletilmiştir. Bu işlemi takiben numuneler buzlu su ortamında şok soğutulmuştur. MDA miktarının belirlenmesi için örnekler UV/VIS spektrofotometrede (Cintra 202) 532, 600 ve 450 nm'de okunmuştur (Zhou,2001).

Kök ve sürgünlerinin toplam fenolik bileşiklerin belirlenmesi Ratkevicius vd. (2003)'ne göre yapılmıştır. Santrifüj edilen örneklerin süpernatantından 50 µl alınarak son hacim 1 ml olacak şekilde % 3'lük sodyum karbonat ve 0,3 N Folin-Ciocalteu eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra bu örnekler spektrofotometrede 765 nm'de okunmuştur. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır.

Fidelerinin organlarının protein olmayan -SH grupların belirlenmesi Ellman, 1959'a göre yapılmıştır. Tartılan taze bitki materyali 5 ml % 5'lik meta-fosforik içinde homojenize edilmiştir. Homojenizat santrifüj edildikten sonra, süpernatanttan 500 µl alınmış ve üzerine 2,5 ml fosfat tamponu (pH 7,4) eklenmiştir. Son olarak 0,5 ml 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) eklenmiş ve karıştırılmıştır. Yirmi dakika inkübasyondan sonra hazırlanan örnekler spektrofotometrede (Cintra 202) 412 nm'de okunmuştur (Ellman, 1959). Standart olarak redükte glutatyon kullanılmıştır.

Toplam karbohidrat analizi için taze bitkilerden 0,5 gram tartılmıştır. Santrifüj edilen Süpernatanttan 0.1 ml alınarak distile su ile 3 ml'ye tamamlanmıştır. Üzerine 5 ml Antron çözeltisi eklenerek 80°C'de su banyosunda yaklaşık 5 dakika bekletilmiştir. Soğuk su banyosunda şok soğutulan bu örneklerin absorbanları 620 nm'de

spektrofotometrede okunmuştur (Plummer, 1998). Karbonhidrat miktarının belirlenmesi için standart olarak glukoz kullanılmıştır.

Protein analizi için taze kök ve sürgünler 5 ml 0,1 M fosfor tamponunda (pH 7,4) homojenize edildikten sonra santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 0,1 ml alınmış, üzerine 0,4 ml distile su eklenmiştir. Sonra 2,5 ml alkali çözelti ilave edilip 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonra 0,25 ml Folin-Ciocalteu ayıracağı eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek UV/VIS spektrofotometrede (Cintra 202) 750 nm'de okunmuştur. Protein miktarını belirlemek için standart olarak bovin serum albumin kullanılmıştır (Lowry vd., 1951).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerikleri Sergiev vd. (1997)'ne göre belirlenmiştir. Tartılan taze fide organları %0,1'lik trikloroasetik asitte homojenize edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerden 0,5 ml alınmıştır. Üzerine 0,5 ml fosfor tamponu ve 1 M'lık KI'dan 1 ml eklenmiştir. Bu karışım 390 nm'de UV/VIS spektrofotometrede (Cintra 202) okunmuştur.

Sodyum içeriklerinin belirlenmesi için bitki örnekleri etüvde sabit tartıma kadar kurutulmuştur. Öğütülmüş bitki örnekleri üç tekerrürlü olacak şekilde tartılmış ve 50 ml'lik erlene konulmuştur. Sonra konsantre HNO<sub>3</sub> ve HCl ile ısıtıcı tablada mineralize edilmiştir. Örnekler istenilen hacme distile su ile getirildikten sonra, örneklerin metal derişimleri alevli atomik absorpsiyon spektrometresinde (AAS) belirlenmiştir. Blank için de aynı işlemler uygulanmıştır.

### **3.4 İstatistiksel Analiz**

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS (SPSS 11.0 for Windows) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Hangi grubun ya da grupların farklı olduğunu belirlemek amacıyla One-Way ANOVA LSD testi uygulanmıştır. Grafiklerde, barlar üzerindeki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

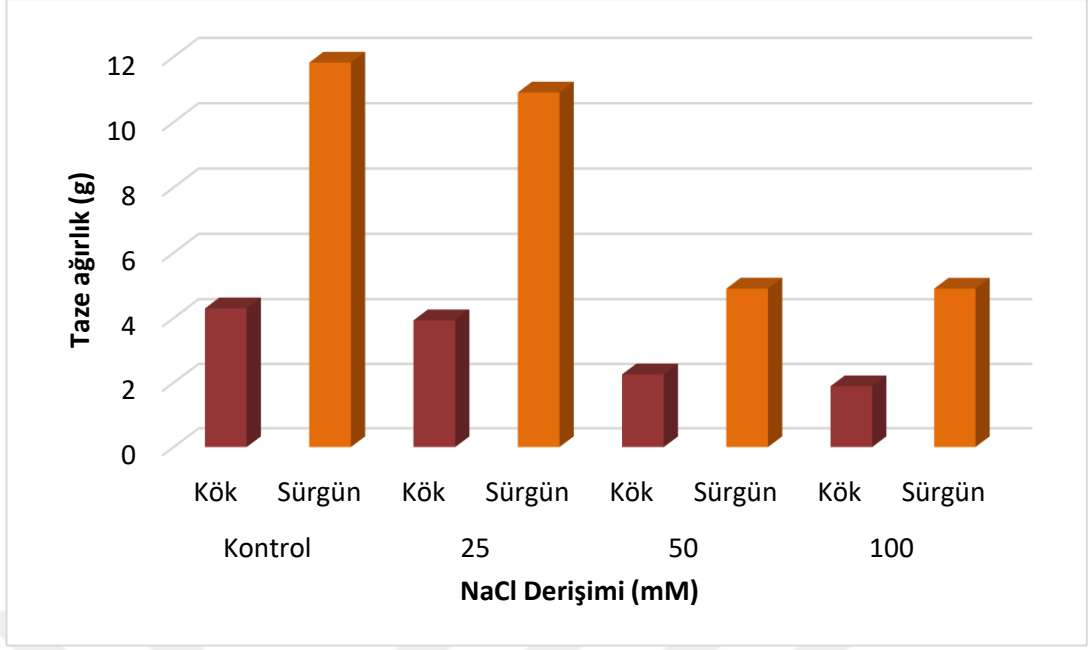
Yaptığımız bu çalışmada, su kültürü şartlarında farklı konsantrasyonlardaki NaCl'nin (0, 25, 50, 100 mM) etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerindeki bazı fizyolojik değişimler belirlenmiştir. Tuz stresinin fidelerin büyüme ve gelişmesi üzerindeki etkisi 10. gün sonunda açıkça görülmüştür (Şekil 4.1).



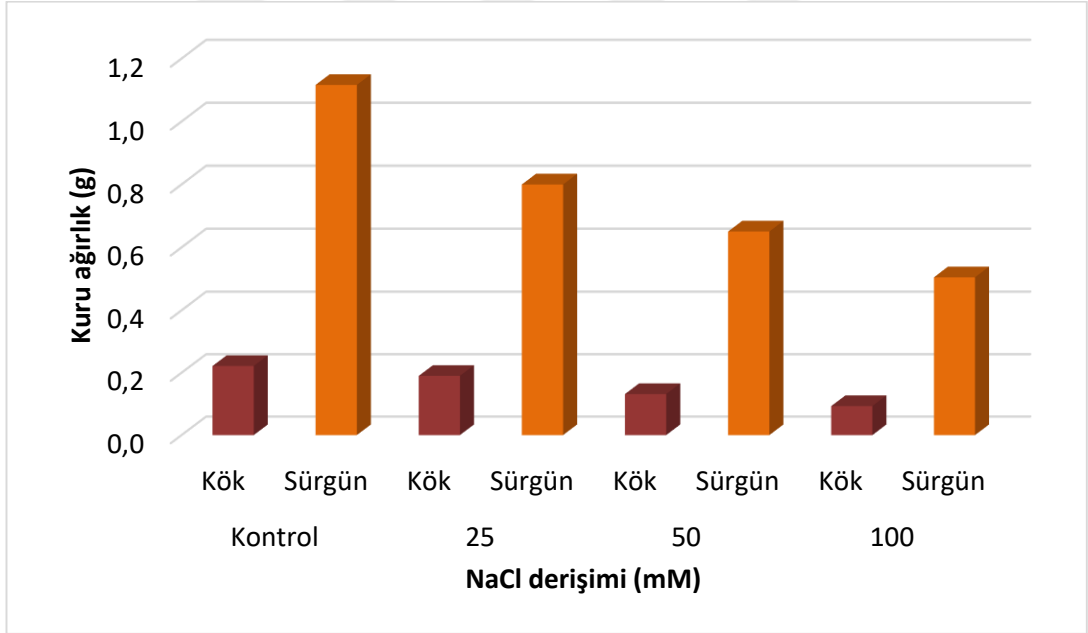
**Şekil 4. 1** NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin deney sonu genel görünümü

#### **4.1 NaCl Stresinin Bitkinin Büyüme ve Gelişmesi Üzerine Etkileri**

Fide organlarının taze ve kuru ağırlıkları üzerinde NaCl uygulamasının olumsuz etkileri Şekil 4.1'de görülmektedir. NaCl uygulaması 25, 50 ve 100 mM konsantrasyonlarının her üçünde de bitkinin kök ve sürgün gibi yapılarının taze ve kuru ağırlıklarında azalmalara neden olmuştur. Ancak 100 mM konsantrasyonda azalma çok daha belirgin olmuştur (Şekil 4.2 ve 4.3 ).



**Şekil 4. 2** NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin taze ağırlıkları

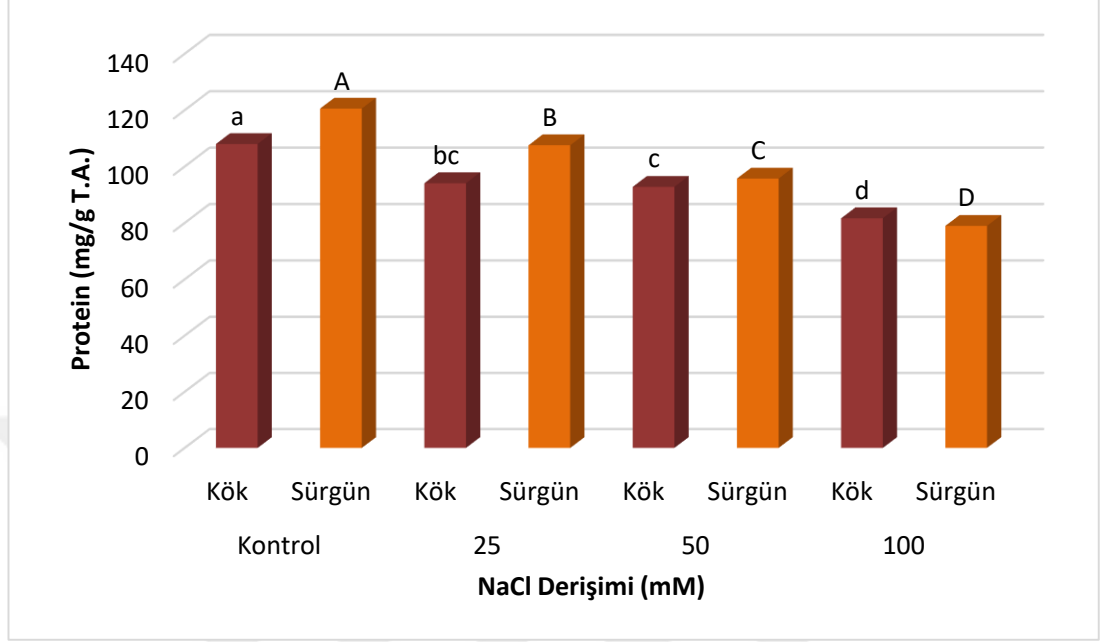


**Şekil 4. 3** NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin kuru ağırlıkları

#### 4.2 Protein İçeriği

Eşek otu fidelerinin protein içerikleri NaCl etkisi altında azalmıştır (Şekil 4.4). Kök organlarında NaCl'nin 25, 50 ve 100 mM derişimlerinde kontrole göre sırasıyla

%12.87, %14.07 ve % 24.38 düzeylerine kadar azalma görülmüştür. Sürgün dokularında NaCl'nin 25, 50 ve 100 mM derişimlerinde kontrole göre sırasıyla % 10.78, % 20.60 ve % 34.34 azalma olduğu gözlemlenmiştir.



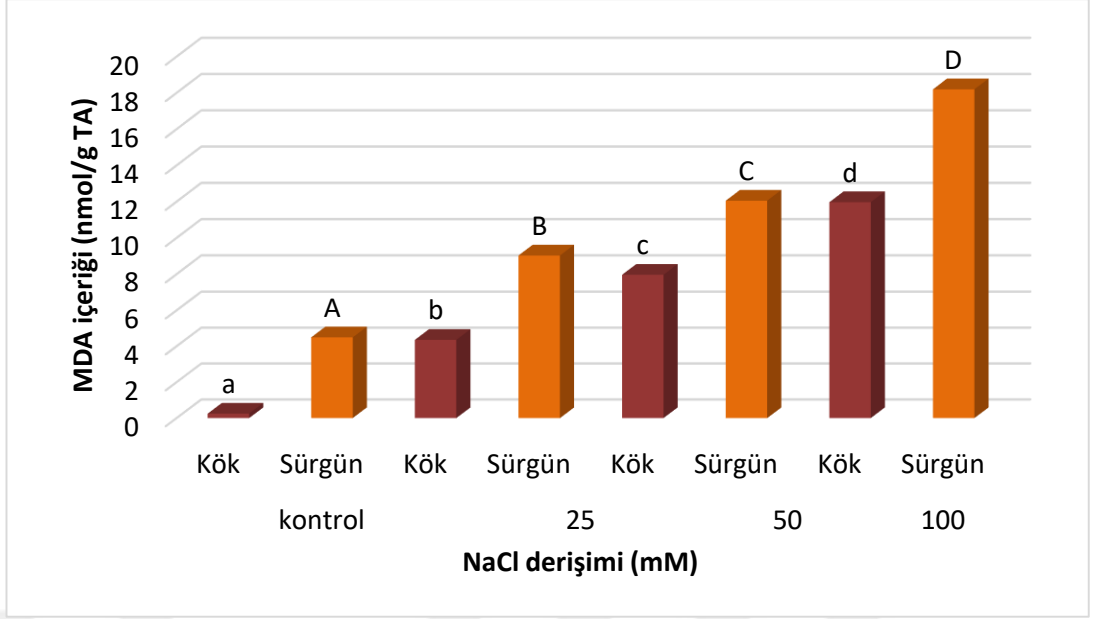
**Şekil 4. 4** NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin protein içerikleri. Barlar üzerindeki farklı harfler  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

#### 4.3 MDA (Malondialdehit) İçeriği

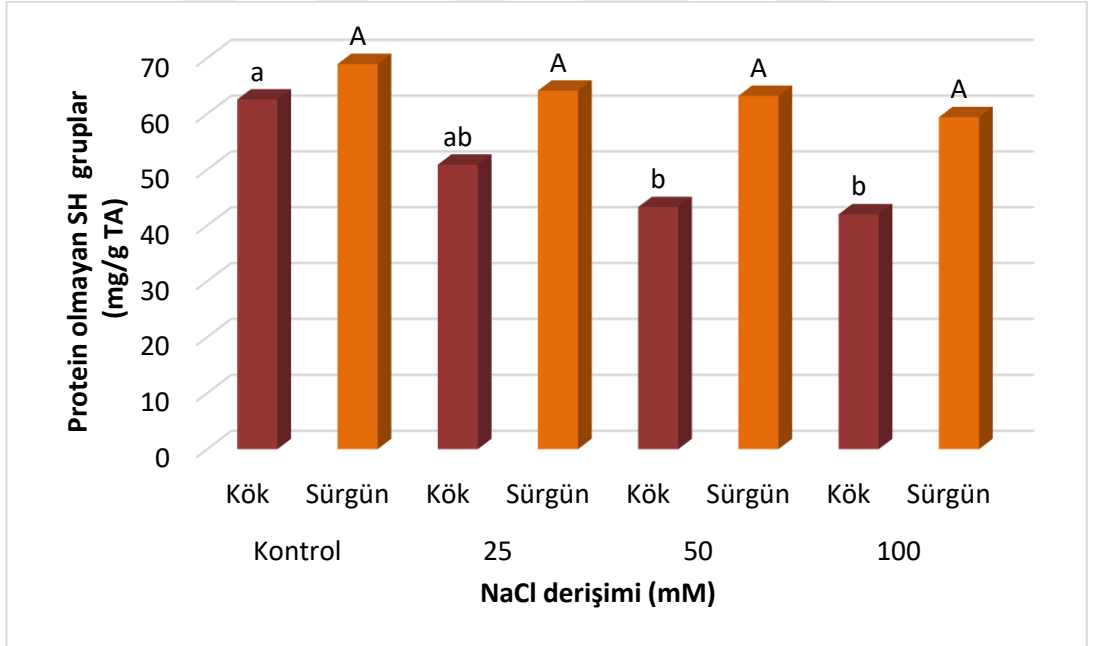
*O. biennis* organlarının MDA içeriğinin NaCl stresinin etkisi ile arttığı bulunmuştur (Şekil 4.5). Fidenin köklerindeki bu artışlar 25, 50, 100 mM NaCl konsantrasyonlarında kontrole göre sırasıyla 17.4, 31.9 ve 47.9 kat düzeylerinde olmuştur. Sürgünlerin MDA miktarları 25, 50 ve 100 mM konsantrasyonlarda kontrole göre sırasıyla 2.01, 2.7 ve 4.0 kat arttığı belirlenmiştir.

#### 4.4 Protein Olmayan SH grup Miktarı

*O. biennis* organlarının protein olmayan SH grup miktarları NaCl stresinin etkisiyle azalma göstermiştir (Şekil 4.6). Köklerin protein olmayan SH grup miktarları 25, 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarında kontrole göre sırasıyla %18.68 , %30.83 ve %32.91 düzeylerinde azaldığı saptanmıştır. Sürgünlerin protein olmayan SH grup miktarları ise 25, 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonunda kontrole göre sırasıyla %6.91, %8.26 ve %13.80 düzeylerinde azaldığı tespit edilmiştir.



**şekil 4. 5** NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin MDA miktarları. Barlar üzerindeki farklı harfler  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

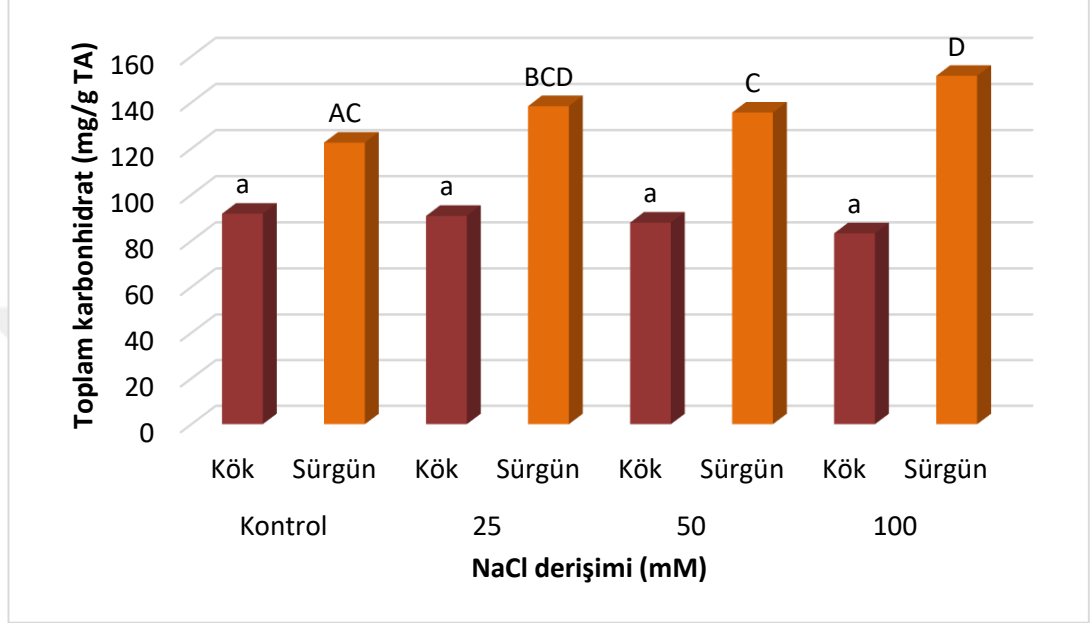


**şekil 4. 6** NaCl stresi etkisinde yetiştirilen eşek otu fidelerinin kök ve sürgünlerin protein olmayan SH grup miktarları

#### 4.5 Toplam Karbonhidrat Miktarları

*O. biennis* organlarının toplam karbonhidrat miktarları şekil 4.7'de verilmiştir. Fidenin köklerinde toplam karbonhidrat miktarı NaCl derişiminin artmasıyla kontrole

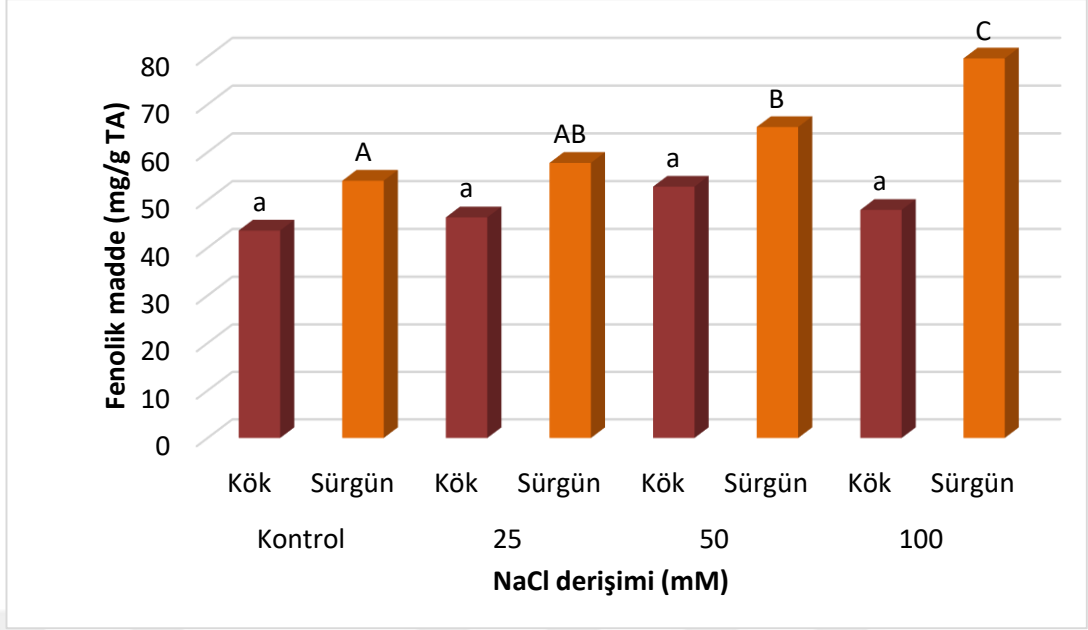
göre azalmıştır. Köklerin karbonhidrat miktarları 25, 50 ve 100 mM NaCl derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %1.03, %4.21 ve %9.24 düzeylerinde azaldığı bulunmuştur. Fide sürgünlerinin karbonhidrat miktarları 25, 50 ve 100 mM NaCl derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %12.92, %10.62 ve %23.62 düzeylerinde arttığı tespit edilmiştir.



**Şekil 4. 7** NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen *O. biennis* fide organlarının toplam karbonhidrat miktarları. Barlar üzerindeki farklı harfler  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

#### 4.6 Toplam Fenolik Bileşik Miktarları

*O. biennis* fidelerinin toplam fenolik bileşik miktarları NaCl etkisiyle artmıştır (Şekil 4.8). Kök dokularının fenolik bileşik miktarları 25, 50 ve 100 mM konsantrasyonlarında kontrole göre sırasıyla %6.33, %21.06 ve %9.90 düzeylerinde artış göstermiştir. Ayrıca sürgün dokularının fenolik bileşik miktarları 25, 50 ve 100mM NaCl konsantrasyonunun etkisiyle kontrole göre sırasıyla %6.90, %20.78 ve %47.36 düzeylerinde artmıştır.



**Şekil 4. 8** NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen *O. biennis* fidelerinin toplam fenolik madde miktarları. Barlar üzerindeki farklı harfler  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

#### 4.7 Hidrojen Peroksit Miktarları

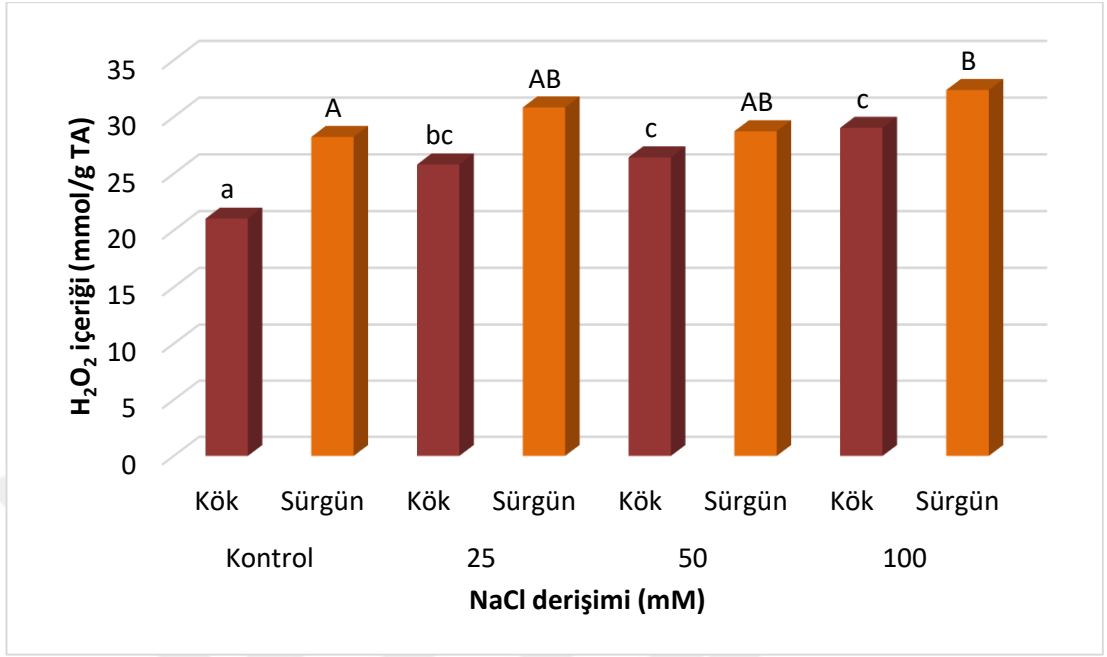
*O. biennis* fidelerinin hidrojen peroksit miktarları NaCl stresinin etkisiyle artış göstermiştir (Şekil 4.9). Fide köklerindeki bu artışlar 25, 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarının etkisinde kontrole göre sırasıyla %22.66, %25.67 ve %38.03 düzeylerinde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sürgünlerin hidrojen peroksit miktarları 25, 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarında kontrole göre sırasıyla %9.20, %1.77 ve %14.63 düzeylerine kadar arttığı görülmüştür.

#### 4.8 Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid Miktarları

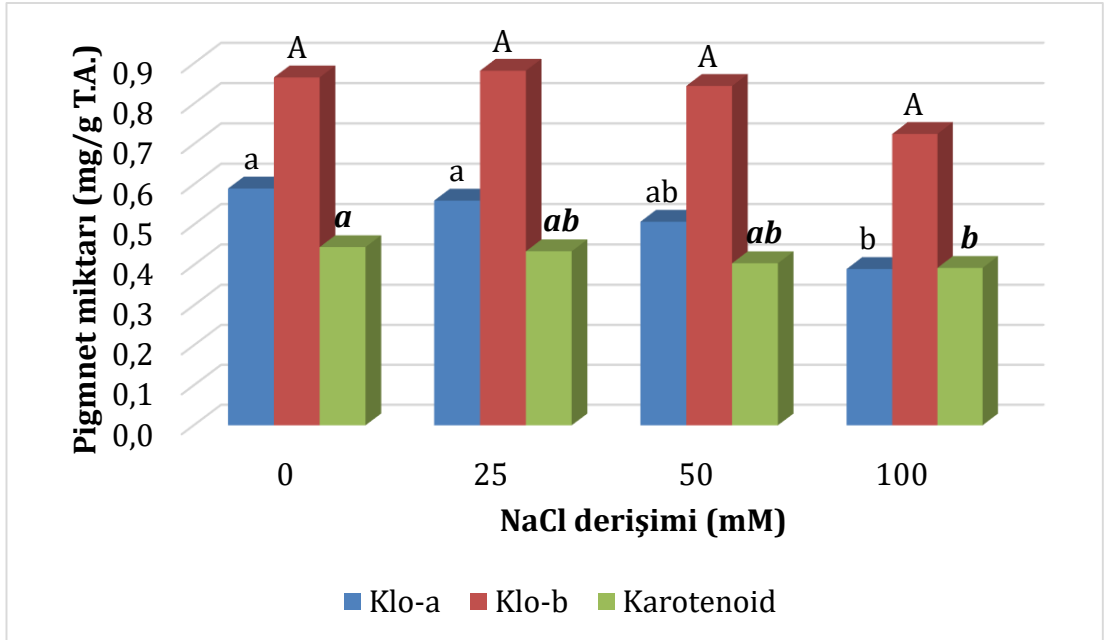
*O. biennis* fide yapraklarının fotosentetik pigment içerikleri Şekil 4.10'da verilmiştir. Pigment miktarları NaCl etkisiyle azalmıştır. Klorofil-a için bu azalmalar 25, 50 ve 100 mM NaCl derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %5.07, %13.97 ve %33.82 düzeylerinde olmuştur. Fide yapraklarının klorofil-b miktarları 25 mM NaCl derişiminde %1.95 artarken, 50 ve 100 mM derişimlerde kontrole göre sırasıyla %2.43 ve %16.19 düzeylerinde azalma olmuştur. Benzer olarak karotenoid miktarlarının da NaCl etkisiyle azaldığı belirlenmiştir. Karotenoid için bu azalmalar 25, 50 ve 100 mM



NaCl derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %2.34, %8.99 ve %11.63 düzeylerinde olmuştur.



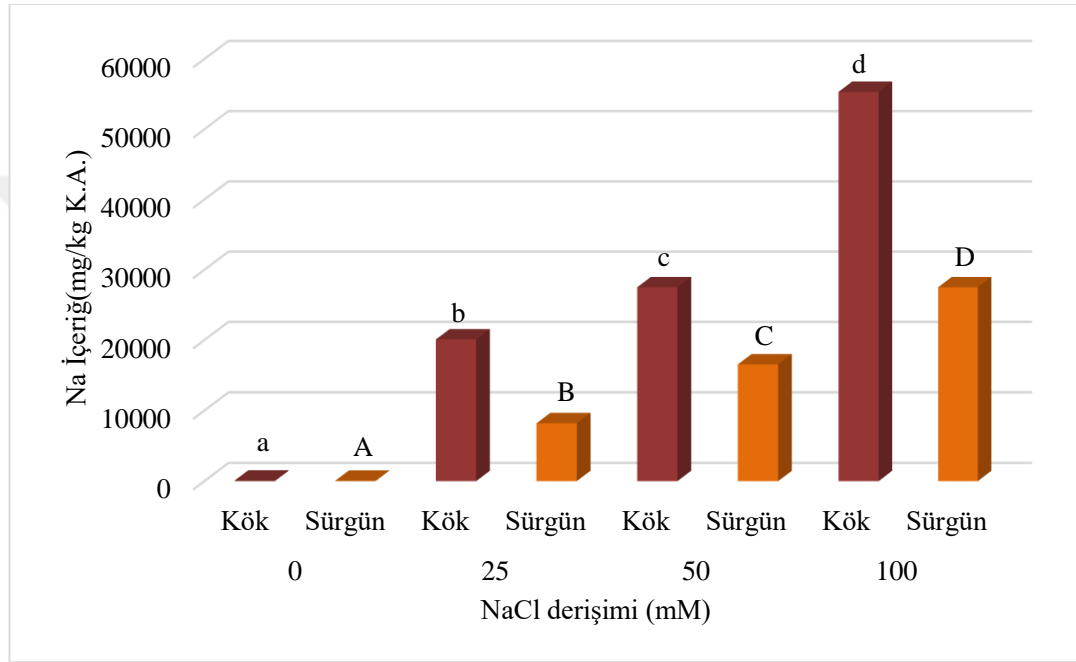
Şekil 4. 9 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen *O. biennis* fidelerinin hidrojen peroksit miktarları. Barlar üzerindeki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



Şekil 4. 10 NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen *O. biennis* fide yapraklarının fotosentetik pigment içerikleri. Barlar üzerindeki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

#### 4.9 Na İçerikleri

*O. biennis*'in kök ve sürgünlerinin Na içerikleri uygulanan NaCl konsantrasyonlarındaki artışla birlikte önemli artışlar göstermiştir (Şekil 4.11). NaCl'nin 25, 50 ve 100 mM derişimlerinin etkisinde köklerin Na içerikleri kontrole göre sırasıyla 261.8, 358.7, 721.3 kat artmıştır. Benzer şekilde NaCl'nin 25, 50 ve 100 mM derişimlerinin etkisinde sürgünlerin Na içerikleri kontrole göre sırasıyla 143.6, 289.6, 481.8 kat artmıştır.



**Şekil 4. 11** NaCl konsantrasyonlarının etkisinde yetiştirilen *O. biennis* fide organlarının Na içeriği. Barlar üzerindeki farklı harfler  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya genelindeki tarım uygulamalarında, artan nüfus için daha fazla gıda üretilmesi gerekmektedir. Ancak, gıda talebine paralel olarak mahsullerin verimliliğinin artmaması gibi birçok zorlukla karşılaşmaktadır. Verimdeki bu azalmalar genellikle çeşitli biyotik ve abiyotik streslere bağlanmaktadır. Çeşitli çevresel stres faktörlerine bağlı olarak ürün kayıplarındaki azalmalar, artan gıda gereksinimlerinin karşılanmasında önemli bir endişe kaynağı oluşturmaktadır (Shanker ve Venkateswarlu, 2011). Yüksek tuzluluk, kuraklık, soğuk ve ısı gibi başlıca abiyotik stresler, hayatta kalma oranını, biyokütle üretimini ve temel gıda ürünlerinin verimini olumsuz yönde etkilemektedir (Vorasoot vd., 2003; Kaur vd., 2008).

$\text{Na}^+$  ve /veya  $\text{Cl}^-$  gibi fazla minerallerin bitki üzerindeki olumsuz etkisi tuz stresidir (Munns 2005). Tuz stresi, özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde bitki üretimini sınırlayan başlıca abiyotik streslerden biridir. Toplam kullanılabilir toprakların % 7'sinin ve toplam ekilebilir alanın % 20'sinin yüksek tuz içeriklerinden etkilendiği bildirilmektedir. Tuzdan etkilenen toprakların ıslahı, tuzun her geçen gün ekilebilir araziye etkilemesi nedeniyle daha da önemli hale gelmektedir. Bitkilerin tuz stresine en erken cevabın başında büyüme hızında azalma gelmektedir. Fotosentez, protein sentezi ve lipid metabolizması gibi metabolik prosesler tuz stresinden etkilenirler. Tuzluluk, ozmotik stres, iyonik stres, oksidatif stres ve hormonal dengesizlikler gibi farklı stres türlerinden sorumludur. Ozmotik stres, ozmotik potansiyeli azaltan ve su alımını ve besin maddelerini engelleyen topraktaki  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının fazlalığından kaynaklanmaktadır. Uyumlu çözünen maddeler olarak bilinen düşük moleküler ağırlıklı bileşikler tuz stresi altında birikmektedir. Bu uyumlu bileşikler, prolin, glisinbetain, şekerler, proteinler, polioller, vb. içerir. Normal biyokimyasal reaksiyonlara müdahale etmezler ve bitkilerin strese karşı direnç oluşturmasında yardımcı olurlar (Rasool vd., 2013).

Bitki verimi tuzluluk stresinden ciddi şekilde etkilenir. Bu durum, tuzluluğun fotosentez, solunum, besin asimilasyonu, hormonal dengesizlik vb. üzerindeki etkisine bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Tuzluluğun dolaylı olumsuz etkisi, bitkide reaktif oksijen türlerinin artması ve bunların da lipidler, proteinler gibi makromoleküllere ve nükleik asitlere zarar vermesidir. Bu nedenle, tuza toleranslı bitkilerin tespit edilebilmesi için, tuz toleransının temel bileşenlerini bulmak önemlidir. Son zamanlarda, genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik yöntemler başarıyla uygulanmış ve bitkilerde tuz toleransının farklı bileşenlerinin açığa çıkarılması kayda değer sonuçlar ortaya koymuştur (Parihar vd., 2015).

Yaptığımız çalışmada, su kültürü şartlarında farklı derişimlerde NaCl etkisinde yetiştirilen *O. biennis*'de bazı fizyolojik değişimler belirlenmiştir. *O. biennis* fidelerinin kök ve sürgünlerinin Na içeriği, uygulanan NaCl derişimindeki artışla önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Ancak, fide köklerdeki Na miktarının artışı, sürgünlerine oranla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun, yaprakların bitkide fotosentetik aktivite merkezi olarak kilit rol oynamasından dolayı, Na iyonunun köklerde biriktirilmesi olabilir. Daha önce şeker pancarında (Ghoulam vd., 2002), sorgumda (Lacerda vd., 2002) ve soyada (Essa, 2002) da araştırma bulgularımıza benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Araştırma sonuçlarımıza göre, NaCl uygulamasının bitki büyüme ve gelişmesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu görülmüştür. Bu durum, tuz stresi altındaki bitkinin taze ve kuru ağırlıklarındaki azalmalar ile ortaya çıkmıştır. Kaiser vd. (1983)'ne göre tuzlu ortamda yetişen ıspanak bitkilerinde büyümenin azalması fotosentezin inhibisyonundan ziyade stoma direncinin artışına bağlanmıştır. Ayrıca araştırmacılar, büyüme azalmasının besin ve su alımının azalmasından kaynaklanabileceğini de bildirmişlerdir. Bunun yanında, Wang vd. (1997), tuzluluğunun zararlı etkilerini su stresi, iyon toksitesi ve iyon dengesizliği ( $K^+$  alımında inhibisyon) ya da bu faktörlerin bir kombinasyonuna bağlamışlardır. Ayrıca Wang vd. (1997) ise fotosentez oranlarındaki azalmanın stoma iletkenliğinin azalması ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Tuz stresi altında yetiştirdiğimiz *O. biennis*'deki büyüme ve gelişmedeki azalmalar yukarıda bahsedilen nedenlerden kaynaklanmış olabilir.

Yaptığımız çalışmada klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid miktarlarının da NaCl etkisiyle azaldığı tespit edilmiştir. Klorofil içeriği de, tuz stresi altındaki bitkilerde

olumsuz etkilenmektedir. Tuz stresi altında genel metabolik faaliyetlerin aksaması, başta Ca ve K olmak üzere N, P ve Mg gibi makro besin elementlerinin alınım mekanizmalarının bozulması gibi faktörler klorofil aktivasyonunu olumsuz etkilemektedir. Literatürde, tuz stresi altında klorofil miktarlarında genel metabolik süreçteki aksamaya bağlı olarak azalma birçok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir. . Mısır (Çiçek ve Çakırlar, 2002) ve baklada (Gadallah, 1999) tuz stresi altındaki yaprakların klorofil içeriğinde azalmalar olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda *O. biennis* fidelerinin NaCl etkisiyle protein içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Stres faktörlerinin bitkilerde protein miktarında azalmaya neden olduğunu gösteren pek çok araştırma bulunmaktadır (Agastian vd., 2000; Parida vd., 2002). Parida vd. (2004), yaptıkları çalışmada tuz stresi şartlarında protein miktarındaki bu azalmaların proteoaz enziminin aktivitesinin artmasının yol açtığını bildirmişlerdir (Parida vd., 2004). Çalışmamızda da protein miktarının azalmasının nedeni, iyon dengesizliğinden dolayı protein sentezinin engellenmesi, proteoaz enziminin aktivitesinin artmasının ve/veya reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu proteolizisten kaynaklanmış olabilir.

ROT'lar aerobik organizmaların metabolizması sonucunda meydana gelebilmektedir. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijen türlerinin bir formudur. Biyolojik sistemlerde  $H_2O_2$ 'nin asıl üretimi, süperoksit radikalinin nonenzimatik veya süperoksit dismutaz (SOD) katalizli dismutasyon reaksiyonu ile  $H_2O_2$ 'ye dönüşmesi yoluyla olmaktadır (Özdamar vd., 2016). Hidrojen peroksit zararlı oksijen türleri arasında yer almaktadır. Bu oksijen türü, bitkilerde peroksizomlarda fotorespirasyon anında, mitokondride elektron taşıma esnasında, kloroplastlarda Mehler reaksiyonunda oluşmaktadır.  $H_2O_2$  üretiminin başka bir yolu da hücre zarına yerleşmiş NADPH oksidaz gibi enzimlerle enzimatik yolla oluşmasıdır (Ślesak vd., 2007). Yaptığımız çalışmada *O. biennis* fidelerinin kök ve sürgünlerinde NaCl stresinin etkisiyle hidrojen peroksit miktarlarının arttığı tespit edilmiştir. Bunun nedeni, *O. biennis* fidelerinde tuz stresinin tetiklediği oksidatif stresten dolayı olabilir.

NaCl stresinin *O. biennis* fidelerinin kök ve sürgünlerinde MDA içeriğini artırdığı bulunmuştur. MDA ile yapılan birçok çalışmada, tuz stresiyyle lipid peroksidasyonunun arttığı görülmüştür (Doğan vd., 2010; Doğan, 2012). Stres koşullarında üretilen aktif oksijen radikalleri membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve bu durum

da membran tahribatına yol açmaktadır Kendall ve McKersie, 1989). Farklı tuz konsantrasyonlarının soyada MDA içeriğinde artışa neden olduğu ve bu durumun da oksidatif hasarın bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Baran ve Doğan, 2014). Yapılan bir çalışmada bitkinin tuzdan etkilenme düzeyi ile yapraklarda ölçülen MDA miktarı arasında ilişki bulunduğu bildirilmiştir (Kuşvuran vd., 2008). Benzer olarak, *O. biennis* hücrelerinde NaCl tuzluluğunun tetiklediği oksidatif stres ile membran lipidler peroksidasyona uğramış olabilir. Bu durumu MDA miktarlarındaki artışlar açıkça göstermektedir. Ayrıca *O. biennis* kök ve sürgünlerinin hidrojen peroksit miktarındaki artışlar da bu sonucu desteklemektedir.

Farklı çevresel faktörler ve stres koşulları altında bitkilerin feniloproponoid metabolizmasında ve fenolik bileşik miktarlarında artışlar meydana geldiği rapor edilmiştir (Qiao vd., 2014). Literatürde NaCl stresi altında bitkilerin fenolik bileşik miktarlarında artışların olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Öncel ve Keleş, 2003; Minh vd., 2016). Yaptığımız çalışmada, *O. biennis* kök ve sürgünlerinin toplam fenolik bileşik miktarlarının da NaCl stresi etkisiyle arttığı belirlenmiştir. Bitkilerin hasarlanma ve birçok çevresel stres durumlarında fenolik bileşiklerin miktarlarında artışların olduğu bilindiğinden, *O. biennis* dokularında NaCl etkisiyle fenolik bileşiklerin düzeyindeki artışların bulunması, bu bileşiklerin strese yanıtta rollerinin olabileceğini gösterebilir.

*O. biennis* fidelerinin toplam karbonhidrat miktarları NaCl stresi etkisiyle değiştiği görülmüştür. Fidenin köklerinde toplam karbonhidrat miktarı NaCl derişiminin artmasıyla azaldığı belirlenmiştir. Literatürde NaCl stresi etkisiyle bitki organlarının toplam karbonhidrat miktarlarının azaldığını rapor eden birçok çalışma bulunmaktadır (Furtana ve Tıprıdamaz, 2010; Demiralay vd., 2013). Bunun aksine, *O. biennis* fidelerinin sürgünlerinin karbonhidrat miktarları artan NaCl derişimleri ile artmıştır. BURAYA YORUM EKLENECEK!

SH-bileşikleri stres koşullarında oluşan serbest radikallerle reaksiyona girerek enzimlerin SH (sulfidril) gruplarının okside olmasını önler. Ayrıca askorbik asit döngüsüne de katılır ve askorbik asitin dihidroaskorbattan tekrar oluşumunu sağlar (Foyer, 1993). Bitkilerde herhangi bir stresin oluşturacağı hasarı gidermede SH-bileşiklerinin önemli olduğu ve bu nedenle stres koşulları altında azaldığı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Foyer and Mullineaux, 1999). Yaptığımız

çalışmada da *O. biennis* fidelerinin kök ve sürgünlerinde protein olmayan SH grup miktarlarının azaldığı görülmüştür. Bulgularımıza benzer olarak iki portakal çeşidinin yapraklarında pestisid uygulamasından önce SH bileşikleri daha yüksekken uygulamadan sonra SH bileşiklerinin düştüğünü gözlemlemiştir (Fidan, 2007). Ayrıca, literatürde stres şartları altında bitkilerin protein olmayan SH grup miktarlarında artışların olduğunu gösteren çalışmalarda da mevcuttur (Dogan ve Demirors Saygideger, 2018).

Sonuç olarak, tıbbi özellikleri de bulunan *O. biennis* bitkilerinde NaCl'nin fizyolojik ve morfolojik değişimlere neden olduğu görülmüştür. Bu bitkinin NaCl stresine fizyolojik yanıtları ilk kez belirlenmiştir. Bu bağlamda yaptığımız çalışmamız bundan sonra yapılacak olan benzer çalışmalara kaynak teşkil edebilir. Ayrıca, bu bitkide farklı tuzların ve/veya stres faktörlerinin fizyolojik etkilerinin araştırılmasında da fayda vardır.

## KAYNAKLAR

- Agastian, P., Kingsley, S. J., Vivekanandan, M. (2000). Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, **38(2)**, 287-290.
- Albert, R. (1975). Salt regulation in halophytes. *Oecologia*, **21(1)**, 57-71.
- Allan, A. C., Fluhr, R. (1997). Two Distinct Sources of Elicited Reactive Oxygen Species in Tobacco Epidermal Cells. *Plant Cell*, **9**, 1559-1572.
- Allen, J. A., Chambers, J. L., Stine, M. (1994). Prospects for increasing the salt tolerance of forest trees: a review. *Tree Physiology*, **14**, 843-853.
- Apse, M. P., Blumwald, E. (2007). Na<sup>+</sup> transport in plants. *FEBS letters*, **581(12)**, 2247-2254.
- Ashraf, M., Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, **59**, 206-216.
- Baran, A., Doğan, M. (2014). Tuz stresi uygulanan soyada (*Glycine max* L.) salisilik asidin fizyolojik etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **18(1)**.
- Berthomieu, P., Conéjéro, G., Nublat, A., Brackenbury, W. J., Lambert, C., Savio, C., Gosti, F. (2003). Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na<sup>+</sup> recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *The EMBO journal*, **22(9)**, 2004-2014.
- Blum, A. (1986). Breeding Crop Varieties for Stress Environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **2**, 199-237.
- Bohnert, H. J., Ma, S. (2007). Integration of Arabidopsis thaliana stress-related transcript profiles, promoter structures, and cell-specific expression. *Genome biology*, **8(4)**, R49.



- Botella, M., Rosado, A., Bressan, R., Hasegawa., Jenks, P., Hasegawa, M. (2005). Plant adaptive responses to salinity stress. *Plant Abiotic Stress*, 37-58. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- Carillo, P., Mastrolonardo, G., Nacca, F., Fuggi, A. (2005). Nitrate reductase in durum wheat seedlings as affected by nitrate nutrition and salinity. *Functional Plant Biology*, **32(3)**, 209-219.
- Carillo, P., Mastrolonardo, G., Nacca, F., Parisi, D., Verlotta, A., Fuggi, A. (2008). Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: accumulation of proline and glycine betaine. *Functional Plant Biology*, **35(5)**, 412-426.
- Carillo, P., Annunziata, M. G., Pontecorvo, G., Fuggi, A., Woodrow, P. (2011). Salinity stress and salt tolerance. In *Abiotic stress in plants-mechanisms and adaptations*. Prof. Arun Shanker (Ed.), ISBN: 978-953-307-394-1, InTech.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A., Zhu, J.-K. (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, **45**, 437-448.
- Cicek, N., Cakırlar, H. (2002). The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulg. J. plant physiol*, **28(1-2)**, 66-74.
- Cramer, G. R., Nowak, R. S. (1992). Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley. *Physiologia Plantarum*, **84(4)**, 600-605.
- Çulha, Ş., Çakırlar, H., (2012) . Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **11**, 11-34.
- Davenport, R., James, R., Zakrisson-Plogander, A., Tester, M., Munns, R. (2005). Control of sodium transport in durum wheat. *Plant Physiology*, **137**, 807-818.
- De Lacerda, C. F., Cambraia, J., Oliva, M. A., Ruiz, H. A., Prisco, J. T. (2003). Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, **49(2)**, 107-120.

- Demiralay, M., Sağlam, A., Kadioğlu, A. (2013). Salicylic acid delays leaf rolling by inducing antioxidant enzymes and modulating osmoprotectant content in *Ctenanthe setosa* under osmotic stress. *Turkish Journal of Biology*, **37(1)**, 49-59.
- Dogan, M., Demirors Saygideger, S. (2018). Pysiological effects of NaCl on *Ceratophyllum demersum* L., a submerged rootless aquatic macrophyte. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* **17**, 346-356.
- Dogan, M., Tipirdamaz, R., Demir, Y. (2010). Salt resistance of tomato species grown in sand culture. *Plant Soil Environ*, **56(11)**, 499-507.
- Ericksen-Brown, C. (1979). Use of plants for the past 500 years. Breezy Creeks Press, Aurora, Ontario, pp. 429-430.
- Essa, T. A. (2002). Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **188(2)**, 86-93.
- Fernald, M. L. (1950). Gray's manual of botany, 8th ed. American Book Co., New York, 1632 pp.
- Fernald, M. L., Kinsey, A. C. Rollins, R. C. (1958). Edible wild plants of Eastern North America. Harper and Row, Publishers, New York, 452 pp.
- Fidan, A. (2007) Bazı Pestisidlerin Turuğgillerin Fizyolojik ve Anatomik Özellikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, **55(396)**, 307-319.
- Flowers, T. J., Troke, P. F., Yeo, A. R. (1977). Mechanism of Salt Tolerance in Halophytes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **28**, 89-121
- Foyer, C. H. (1993). Interactions between electron transport and carbon assimilation in leaves: coordination of activities and control. In *Photosynthesis: Photoreactions to plant productivity* (pp. 199-224). Springer, Dordrecht.

- Foyer, C. H., Mullineaux, P. M. (1998). The presence of dehydroascorbate and dehydroascorbate reductase in plant tissues. *FEBS letters*, **425(3)**, 528-529.
- Foyer, C., Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, **119**, 355-364.
- Fricke, W., Akhiyarova, G., Veselov, D., Kudoyarova, G. (2004). Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves. *Journal of Experimental Botany*, **55**, 1115-1123.
- Gadallah, M. A. A. (1999). Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* responses to salt stress. *Biologia plantarum*, **42(2)**, 249-257.
- Ghoulam, C., Foursy, A., Fares, K. (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and experimental Botany*, **47(1)**, 39-50.
- Gleason, H. A. (1958). The new Britton and Brown Illustrated flora of the northeastern United States and adjacent Canada. Vol. 2. The Choripetalous Dicotyledoneae Saururaceae to Cornaceae. Lancaster Press, Inc., Lancaster, Penn. pp.536-544.
- Grattana, S. R., Grieveb, C. M. (1999). Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, **78**, 127-157.
- Grime, J. P. (1977). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist*, **111(982)**, 1169-1194.
- Hall, I. V., Steiner, E., Threadgill, P., Jones, R. W. (1988). The biology of Canadian weeds. 84. *Oenothera biennis* L. *Can. J. Plant Sci.* **68**, 163–173.
- Hanci, F., Cebeci, E., Uysal, E., Dasgan, H. Y. (2015). Effects of salt stress on some physiological parameters and mineral element contents of onion (*Allium cepa* L.) plants. In *VII International Symposium on Edible Alliaceae* **1143**, 179-186).

- Hare, P. D., Cress, W. A. (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, **21**(2), 79-102.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **51**, 463-499.
- Heuer, B., Yaniv, Z., Ravina, I. (2002). Effect of late salinization of chia (*Salvia hispanica*), stock (*Matthiola tricuspidata*) and evening primrose (*Oenothera biennis*) on their oil content and quality. *Industrial Crops and Products*, **15**(2), 163-167.
- Howat, D. (2000). Acceptable salinity, sodicity and pH values for boreal forest reclamation. *Environmental Sciences Division*, 191.
- Hu, Y., Burucs, Z., von Tucher, S., Schmidhalter, U. (2007). Short-term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, **60**(2), 268-275.
- Hudson, B. J. F. (1984). Evening primrose (*Oenothera* spp.) oil and seed. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **61**(3), 540-543.
- Hulan, H. W., Hall, I. V., Nash, D. M., Proudfoot, F. G. (1987). Composition of native evening primrose seeds collected from Western Nova Scotia. *Crop research*.
- James, R. A., Blake, C., Byrt, C. S., Munns, R. (2011). Major genes for Na<sup>+</sup> exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na<sup>+</sup> accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of Experimental Botany*. **62**(8), 2939-2947.
- James, R. A., von Caemmerer, S., Condon, A. G., Zwart, A. B., Munns, R. (2008). Genetic variation in tolerance to the osmotic stress component of salinity stress in durum wheat. *Functional Plant Biology*, **35**(2), 111-123.
- Kaiser, W. M., Weber, H., Sauer, M. (1983). Photosynthetic capacity, osmotic response and solute content of leaves and chloroplasts from *Spinacia oleracea* under salt stress. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, **113**(1), 15-27.

- Kaur, G., Kumar, S., Nayyar, H., Upadhyaya, H. D. (2008). Cold stress injury during the pod-filling phase in chickpea (*Cicer arietinum* L.): effects on quantitative and qualitative components of seeds. *J. Agron. Crop Sci.* **194**, 457–464
- Kendall, E. J., Mckersie, B. D. (1989). Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat. *Physiology Plant*, **76**, 86-94.
- Kendirli, B., Çakmak, B. Uçar, Y. (2005). Salinity in the Southeastern Anatolia Project (GAP), *Turkey: Issues and Options, Irrigation and Drainage*, **54**, 115-122.
- Ketchum, R. E. B., Warren, R. S., Klima, L. J., Lopezgutierrez, F., Nabors, M. W. (1991). The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L.. *Journal of Plant Physiology*, **137(3)**, 368-374.
- Kotuby-Amacher, J., Koenig, K., Kitchen, B. (2000). Salinity and plant tolerance. Available at <https://extension.usu.edu/files/publications/publication/AG-SO-03.pdf>.
- Kuşvuran, Ş., Yaşar, F., Abak, K., Ellialtıoğlu, Ş. (2008). Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Tuza Tolerant ve Duyarlı Cucumis sp.'nin Bazı Genotiplerinde Lipid Peroksidasyonu, Klorofil ve İyon Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, **18(1)**, 13-20.
- Lacerda C. F., Cambraia J., Olivab M. A. Ruiz H. A., 2002. Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany* **54**, 69–76.
- Larcher, W. (1980). Physiological plant ecology. *In 2nd totally rev. Edition*, 303. Berlin and New York: Springer-Verlag.
- Larcher, W. (1995). *Physiological Plant Ecology*, Published by Springer, ISBN 0-387-09795-3, New York, 506.
- Läuchli, A., Epstein, E. (1990). Plant responses to saline and sodic conditions. In K. K. Tanji (Ed.), *Agricultural salinity assessment and management*, 113-137. New York: American Society of Civil Engineers.

- Lauchli, A., James, R. A., Huang, C. X., McCully, M., Munns, R. (2008). Cell-specific localization of Na<sup>+</sup> in roots of durum wheat and possible control points for salt exclusion. *Plant Cell and Environment*, **31(11)**, 1565-1574.
- Lust, J. B. (1974). The herb book. Benedict Lust Publications, Sini Valley, Calif. pp.659
- Maggio, A., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Consiglio, M. F., Joly, R. J. (2001). Unravelling the functional relationship between root anatomy and stress tolerance. *Functional Plant Biology*, **28(10)**, 999-1004.
- Marschner, H. (1986). Mineral Nutrition of Higher Plants (Vol. 150): Academic Press Inc. London.
- Meloni, D. A., Gulotta, M. R., Martínez, C. A., Oliva, M. A. (2004). The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **16(1)**, 39-46.
- Memon, S. A., Hou, X., Wang, L. J. (2010). Morphological Analysis Of Salt Stress Response of Pak Choi. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **9(1)**.
- Meyer, D. C. 1979, The herbalist. Meyerbooks, Glenwood, Ill. p. 134.
- Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., Mittler, R. O. N. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell and Environment*, **33(4)**, 453-467.
- Moncada, S., Flower, R. J., Yane, J. R. (1985). Prostaglandins, prostacyclin, thromboxane A<sub>2</sub>, and leukotrienes. In Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 7th ed. Macmillan Publishing Company, New York, pp. 660-673.
- Montgomery, F. H. (1977). Seeds and fruits of plants of Eastern Canada and Northeastern United States. University of Toronto Press, Toronto, Ont. 232 pp.

- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, **25**, 239-250.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, **167**, 645-663.
- Munns, R., Termaat, A. (1986). Whole-Plant Responses to Salinity. *Functional Plant Biology*, **13(1)**, 143-160.
- Munns, R., Goyal, S., Passioura, J. (2004). Salinity stress and its mitigation. *Plant Stress Website*. Blum A. (ed). Available at <http://www.plantstress.com/Articles/index.asp>.
- Munns, R., Schachtman, D., Condon, A. (1995). The Significance of a Two-Phase Growth Response to Salinity in Wheat and Barley. *Functional Plant Biology*, **22(4)**, 561-569.
- Munns, R., Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, **59**, 651-681.
- Öncel, I., Keleş, Y. (2002). Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. *Fen Bilimleri Dergisi*, **23(2)**.
- Özdamar, F. C., Furtana, G. B., Ellialtıoğlu, Ş. Ş., Tıprıdamaz, R. (2016). Hidrojen Peroksit ve Nitrik Oksit İlişkisinin Bitkilerde Abiyotik Stres Toleransındaki Rolü. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, **25**, 117-131.
- Palmer, J. (1985). The evening primrose – a source of essential fatty acids. *N. Z. Agric. Sci.* **19**, 119-212.
- Papp, J. C., Ball, M. C., Terry, N. (1983). A comparative study of the effects of NaCl salinity on respiration, photosynthesis, and leaf extension growth in *Beta vulgaris* L. (sugar beet). *Plant Cell and Environment*, **6(8)**, 675-677.
- Parida, A. K., Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **60**, 324-349.

- Parida, A. K., Das, A. B., Mitra, B. (2004). Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees*, **18**(2), 167-174.
- Parida, A., Das, A. B., Das, P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, **45**(1), 28-36.
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, **22**(6), 4056-4075.
- Peterson, L. (1977). A field guide to edible wild plants of Eastern and Central North America. Houghton Mifflin Co., Boston, Mass. 330 pp.
- Pitman, M. G., Läuchli, A. (2002). Global impact of salinity and agricultural ecosystems. *Salinity: environment-plants-molecules*, 3-20. Springer, Dordrecht.
- Plummer, D. T. (1998). An introduction to Practical Biochemistry. Third edition. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd., New Delhi.
- Qiao W., Li C., Fan L-M., (2014). Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses, *Environmental and Experimental Botany*, **100**, 84-93
- Rajendran, K., Tester, M., Roy, S. J. (2009). Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. *Plant Cell and Environment*, **32**(3), 237-249.
- Rana, G., Katerji, N. (2000). Measurement and estimation of actual evapotranspiration in the field under Mediterranean climate. *European Journal of Agronomy*, **13**, 125-153.
- Rasool, H. I., Ophus, C., Klug, W. S., Zettl, A., Gimzewski, J. K. (2013). Measurement of the intrinsic strength of crystalline and polycrystalline graphene. *Nature communications*, **4**, 2811.



- Russel, J. C., Kadry, L., Hanna, A. B. (1965). Sodic soils in Iraq. *Agrokonomia ES Talajtan. Tom 14*, 91-97.
- Sairam, R. K., Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, **86**, 407-421.
- Sakamoto, A., Murata, N. (2002). The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant Cell and Environment*, **25**, 163-171.
- Serrano, R., Culianz-Macia, F., Moreno, V. (1999). Genetic engineering of salt and drought tolerance with yeast regulatory genes. *Scientia Horticulturae*, **78**, 261-269.
- Shanker, A. K., Venkateswarlu, B. (2011). Chromium: environmental pollution, health effects and mode of action A2. *Encyclopedia of environmental health. Elsevier, Burlington*, 650-659.
- Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C. A. Zhao, C.-X., (2008). Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants, *Comptes Rendus Biologies*, **331**, 215-225.
- Sikha, S., Sunil, P., Arti, J., Sujata, B., Navdeep, D., Kranti, T. (2014). Effect of salt stress on seedling growth and survival of *Oenothera biennis*. *Int Res J Environ Sci*, **3**, 70-74.
- Silva, P., Geros, H. (2009). Regulation by salt of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase and H<sup>+</sup> pyrophosphatase activities and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange. *Plant Signaling Behavior*, **4(8)**, 718-726.
- Singh, K. N., Chatrath, R. (2001). Salinity tolerance pp. 101-110. *Eds.), Application of physiology in wheat breeding. Mexico: CIMMYT.* Szabados, L., Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, **15**, 89-97.
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., Miszalski, Z. (2007). The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling

- in response to environmental stresses. *Acta Biochimica Polonica-English Edition*-, **54**, 39.
- Szabados, L., Savoure, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, **15**(2), 89-97.
- Szczawinski A. F., Turner, N. H. (1978). Edible garden weeds of Canada. *National Museum of Natural Sciences, Ottawa, Ont.* pp. 184.
- Tester, M., Davenport R. (2003). Na<sup>+</sup> tolerant and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of Botany*, **91**, 503-527.
- Tuna, A. L., Kaya., C., Dikilitas, M., Yokaş, İ., Bürün, B., Altunlu, H. (2007). Comparative effects of various Salicylic Acid derivatives on key growth parameters and some enzyme activities in salinity stressed maize (*Zea mays* L.) plants. *Pakistan Journal of Botany*, **39**(3), 787-798.
- Minh, B (2016) Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., Minh, B. Q. W- IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research*, **44**), 232-235.
- Tuteja, N. (2007). Mechanisms of High Salinity Tolerance in Plants. *Methods in Enzymology*, **428**, 419-438.
- Vorasoot, N., Songsri, P., Akkasaeng, C., Jogloy, S., Patanothai, A. (2003). Effect of water stress on yield and agronomic characters of peanut. *Songklanakarın J. Sci. Technol.*, **25**, 283–288
- Wang, L. W., Showalter, A. M., Ungar, I. A. (1997). Effect of salinity on growth, ion content, and cell wall chemistry in *Atriplex prostrata* (Chenopodiaceae). *American Journal of Botany*, **84**(9), 1247-1255.
- Wolf, R. B., Kleiman, R., England, R. E. (1983). New sources of "γ-linolenic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **60**, 1858-1860.
- Xiong, L., Gong, Z., Rock, C. D., Subramanian, S., Guo, Y., Xu, W., Galbraith, D., Zhu, J.-K. (2001). Modulation of Abscisic Acid Signal Transduction and Biosynthesis by an Sm-like Protein in Arabidopsis. *Developmental cell*, **1**(6), 771-781.

- Yakit, S., Tuna, A. L. (2006). Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine Ca, Mg ve K'nın etkileri. *Mediterranean Agricultural Sciences*, **19(1)**, 59-67.
- Yancey, P. H., Clark, M. E., Hand, S. C., Bowlus, R. D., Somero, G. N. (1982). Living with Water-Stress - Evolution of Osmolyte Systems. *Science*, **217**,1214-1222.
- Zheng, T. (2014). Numerical Analysis of Modeling Concepts for Salt Precipitation and Porosity - Permeability Evolution during Brine Evaporation. Universit"at Stuttgart - Institut f"ur Wasser- und Umweltsystemmodellierung. Master's Thesis. 68s.
- Zhou, Q. (2001). The Measurements of Malondialdehyde in Plants. In: Zhou Q. (Ed.): *Methods in Plant Physiology*. China Agricultural Press, Beijing, 173-174.
- Zhu J-K (2007) Plant salt stress. In: *Encyclopedia of life sciences (eLS)*. Wiley, Chichester. doi: 10.1002/9780470015902.a0001300.pub2. (Accessed 11 Nov 2015).