

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ FEN  
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TUZ STRESİNİN TRİTİCALE VE BAZI *SECALE*  
TAKSONLARINDA SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ  
(SOD;EC 1.15.1.1) VE PEROKSİDAZ (POD; EC 1.11.1.7)  
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Filiz BAYKAL**

**Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR**

**Ağustos, 2006  
ÇANAKKALE**

**TUZ STRESİNİN TRİTİCALE VE BAZI *SECALE*  
TAKSONLARINDA SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ  
(SOD;EC 1.15.1.1) VE PEROKSİDAZ (POD; EC 1.11.1.7)  
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Biyoloji Bölümü**

---

**Filiz BAYKAL**

**Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR**

**Ağustos, 2006  
ÇANAKKALE**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

FİLİZ BAYKAL tarafından Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR yönetiminde hazırlanan “TUZ STRESİNİN TRITICALE VE BAZI *SECALE* TAKSONLARINDA SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ (SOD;EC 1.15.1.1) VE PEROKSİDAZ (POD; EC 1.11.1.7) AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Yönetici

.....

Jüri Üyesi

.....

Jüri Üyesi

Prof. Dr. M. Emin ÖZEL

\_\_\_\_\_  
Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

## TEŞEKKÜRLER

Araştırmamın her aşamasında ilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR' a teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Aynı zamanda bu süreçte bana her türlü imkanı sunan ve daima destek olan aileme de gönülden teşekkür ederim.

Araştırmamız, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından BAP 2005/103 nolu proje ile desteklenmiştir. Bu nedenle adı geçen kuruluşa teşekkür ederim.

Araştırmam süresince her aşamada bilgisini benimle paylaşan Yrd. Doç. Dr. Cüneyt AKI' ya, analiz aşamasında yardımlarını esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Muhammed TÜRKOĞLU' na teşekkür ederim.

Araştırmamın ve hayatımın her aşamasında yanımda olan arkadaşlarım Nurcihan HACIOĞLU, Arş. Gör. Ersin KARABACAK, Arş. Gör. Çiğdem GÜL, Arş. Gör. Sefer DEMİRBAŞ, Arş. Gör. Sibel YILMAZ ve Arş. Gör. Nurşen ÇÖRDÜK' e çok teşekkür ederim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

UV	Ultraviyole
$^1\text{O}_2$	Singlent oksijen
$\text{OH}^-$	Hidroksil radikali
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen peroksit
$\text{O}_2^-$	Süperoksit
ROT	Reaktif oksijen türleri
$\text{HO}_2$	Hidroperoksil radikali
$\text{Fe}^{+3}$	Hem
$\text{Fe}^{+2}$	Heme
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Hidrojen Fosfat
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrojen
P	Pigment
$\text{P}^*$	Uyarılmış pigment
$^+P^-$	Yük ayrımı olmuş pigment
hv	Yüksek enerjili foton
$\text{T}^*$	Triplet haldeki klorofil
$\text{S}_2^*$	Yüksek enerjili klorofil
$\text{S}_1^*$	Düşük enerjili klorofil
Fd	Ferredoksin
$\text{Q}_A$	Kinon A
$\text{Q}_B$	Kinon B
SOD	Süperoksit dismutaz
$\text{UQ}^-$	Ubikinon
$\text{UQ}^\cdot$	Ubisemiquinon anyon radikali

UQH <sub>2</sub>	Ubiquinol
Q <sub>o</sub>	Mitokondri iç membranında ilk elektron alanı
cyt b <sub>L</sub>	Sitosolik alana yakın stokrom b
RH	Substrat
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
PUFA-OOH	Lipit hidroksiperoksit
PUFA-O·	Lipit alkoksil radikali
X·	Oksidize bir radikal
GB	Glisin betain
M6PR	Mannoz-6-fosfat redüktaz
CAT	Katalaz
AP	Askorbat peroksidaz
POD	Peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
PEG	Polietilen glikol
P-5-CR	Prolin – 5 – karboksilat redüktaz
ABA	Absisik asit
GA <sub>3</sub>	Giberellik asit
KİN	Kinetin
IAA	Indol Asetik asit
GuPX	Guaiakol peroksidaz
MDA	Monodehidroaskorbat
DHA	Dehidroaskorbat
AP	Askorbat peroksidaz
MDHAR (MDAR)	Monodehidroaskorbat redüktaz

DHAR	Dehidroaskorbat reduktaz
AA	Askorbik asit
DHAsc	Dehidroaskorbik asit
Asc	Askorbik asit
FeSOD	Demir süperoksit dismütaz
MnSOD	Mangan süperoksit dismütaz
Cu-ZnSOD	Bakır-çinko süperoksit dismütaz
GSSG	Oksidize glutasyon
tAP	Tillakoide bağlı AP.
EGTA	Etilen gliko bis-( $\beta$ -aminoetileter) NNNN-tetraasetik asit

**TUZ STRESİNİN TRITICALE VE BAZI *SECALE* TAKSONLARINDA  
SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ (SOD;EC 1.15.1.1) VE PEROKSİDAZ (POD;  
EC 1.11.1.7) AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**ÖZET**

Bu araştırmada tuza duyarlı olduğu bilinen *Secale cereale*'nin bir varyetesi olan *Secale cereale var. ancestrale*, tuza toleransı bilinmeyen doğal yayılışlı bir endemik olan *Secale anatolicum* L. ve tuza toleransı iyi bilinen ve ülkemizde kültürü yapılan Triticale çeşitleri kullanılarak tuz stresine toleransta bu çeşitlerin antioksidatif savunma enzimleri temelinde verdikleri yanıtlar araştırılmıştır.

Araştırmada protein analizleri; Bradford (1976)'a, SOD aktivitesi; Beauchamp-Fridovich (1971) ve Giannipolities, N.- Ries S. K., (1977)'e ve POD aktivitesi ise Kanner ve Kinsella (1983) metoduna göre gerçekleştirilmiştir.

Araştırmamızın sonuçlarına göre, *Secale cereale var. ancestrale* tuza duyarlı bulunmuştur. Triticale ise tuz stresine yanıtta SOD aktivitesinde kısa süreli artışlar göstermiş, ancak POD aktiviteleri değişmemiştir. Bu durum, Triticale'nin tuz toleransında antioksidatif yoldan farklı mekanizmaların çalıştığını düşündürmektedir. *Secale anatolicum* ise diğer iki çeşide zıt olarak tuz stresine yanıtta hem SOD hem de POD aktivitelerinde kısa süreli artışlar sergilemiştir. Bu sonuç, *Secale anatolicum* endemiğinin tuza toleransta antioksidatif yolu çalıştırdığına işaret etmektedir. Böylece bu tür, tuza toleransta kullanışlı bir gen kaynağı olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Tuz Stresi, Süperoksit dismutaz (SOD), Peroksidaz (POD), Çavdar (*Secale spp.*), Triticale

Hazırlanan bu Yüksek Lisans / Doktora tezi BAP tarafından BAP 2005 /103 no'lu proje tarafından desteklenmiştir.



**THE EFFECTS OF SALT STRESS ON SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD; EC.1.15.1.1) AND PEROXIDASE (POD;EC.1.11.1.7) ACTIVITIES IN SOME *SECALE* TAXONS AND TRITICALE**

**ABSTRACT**

In this study one salt sensitive of rye genotype, *Secale cereale* var. *ancestrale*, and one salt tolerant Triticale and one natural endemic rye genotype, *Secale anatolicum*, whose tolerance to salt stress is unknown were employed. These genotypes are used for the determination of main antioxidant enzymes (SOD and POD) activities, which are important for antioxidative defence pathway in salt stress.

In this research protein analysis were realized by method of Bradford (1976), SOD activity analysis were realized by Beauchamp-Fridovich (1971) and Giannipolities, N.- Ries S. K., (1977), POD activity analysis were realized by Kanner and Kinsella (1983).

The results indicated that *Secale cereale* var. *ancestrale* is salt sensitive rye genotype as in other *Secale cerele* varieties. Triticale has shown short time increases in SOD activities but POD activities did not change during the salt stress treatment.

These results showed that Triticale is not effective for antioxidant enzyme defence system for salt stress in POD but SOD activities are serviceable for short time responses. The occurrence in antioxidative response indicated that salt tolerance for Triticale may be accomplished due to ion accumulation. *Secale anatolicum*, contrary to the other two cereals, showed increases in SOD and POD activities against salt stress in time. These results indicated that *Secale anatolicum* used antioxidative enzymes for salt tolerance. Thus, this endemic rye species may be used for salt tolerance as a natural gene source.

Key words: Salt Stress, Rye (*Secale spp.*), Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase, (POD), Triticale

The present M.Sc. thesis was supported by BAP under the project no of BAP 2005/103.

## İÇERİK

### TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ

TEŞEKKÜR .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iii
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii

### BÖLÜM I- GİRİŞ ..... 3

<i>1.1. ÇAVDAR HAKKINDA GENEL BİLGİ .....</i>	<i>3</i>
<i>1.1.1. Özellikleri.....</i>	<i>3</i>
<i>1.1.2. Kullanımı.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2.1. İnsan Yiyeceği .....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.2.2. Hayvan Yemi .....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.3. Yetiştirme Habitatı.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.3.1. Çevresel İstekleri.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.3.1.1. İklim .....</i>	<i>6</i>
<i>1.2. ÇAVDAR VE STRES FİZYOLOJİSİ.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.1. Stres Faktörleri .....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.1.1. Stresin Teşvik Ettiği Fazlar.....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.1.2. Strese Karşı Bitkilerin Tepkileri.....</i>	<i>9</i>
<i>1.2.1.3. Stres Çeşitleri.....</i>	<i>10</i>
<i>1.2.2. Tuz Stresi.....</i>	<i>10</i>
<i>1.2.2.1. Toprak ve Su.....</i>	<i>10</i>
<i>1.2.2.2. Toprak Tuzluluğunun Oluşumu.....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.2.2.1. Tuzluluk .....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.2.2.2. Toprak Tuzluluğunun Bitkiler Üzerine Etkileri .....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.2.2.2.1. Serbest Radikal Oluşumu .....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.2.2.2.2. ROT Oluşumu ve Aralarındaki Dönüşüm Reaksiyonları ....</i>	<i>13</i>
<i>1.2.2.2.2.3. Kloroplastlarda ROT Oluşumu .....</i>	<i>18</i>
<i>1.2.2.2.2.4. Mitokondride ROT Oluşumu .....</i>	<i>20</i>
<i>1.2.2.2.2.5. Endoplazmik Retikulumda ROT Oluşumu.....</i>	<i>22</i>
<i>1.2.2.2.2.6 Mikrobadilerde ROT Oluşumu.....</i>	<i>23</i>
<i>1.2.2.2.2.7. Plazma Membranları ve Hücre Duvarlarında ROT Oluşumu .....</i>	<i>23</i>
<i>1.2.3. Çimlenme ve Gelişim .....</i>	<i>24</i>
<i>1.2.3.1. Su Alınımı ve Taşınım.....</i>	<i>25</i>
<i>1.2.3.2. Bitki Anatomisi .....</i>	<i>26</i>
<i>1.2.3.3. Fotosentez .....</i>	<i>26</i>
<i>1.2.3.4. Proteinler ve DNA.....</i>	<i>27</i>
<i>1.2.3.5. Lipitler.....</i>	<i>28</i>
<i>1.2.3.6. İyon Seviyesi.....</i>	<i>30</i>
<i>1.2.4. Bitkilerde Tuzluluğa Karşı Oluşan Yanıtlar .....</i>	<i>31</i>
<i>1.2.4.1. Moleküler Yanıtlar .....</i>	<i>31</i>

1.2.4.2. <i>Biyokimyasal Yanıtlar</i> .....	31
1.2.4.2.1. <i>İyon Dengesinin Düzenlenmesi</i> .....	31
1.2.4.2.2. <i>Uygun Çözücülerin Biyosentezi</i> .....	32
1.2.4.2.3. <i>Hormonların İndüksiyonu</i> .....	35
1.2.4.2.4. <i>Fotosentetik Yollarda Değişiklikler</i> .....	36
1.2.4.2.5. <i>Antioksidatif Enzimlerin İndüksiyonu</i> .....	36
<b>BÖLÜM II - MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>45</b>
2.1. <i>Bitkilerin Yetiştirilmesi</i> .....	45
2.2. <i>BSİ (BAĞIL SU İÇERİĞİ) TESTİ</i> .....	45
2.3. <i>ENZİM EKSTRAKTININ HAZIRLANMASI</i> .....	46
2.4. <i>PROTEİN ANALİZİ</i> .....	46
2.5. <i>SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ (SOD; EC.1.15.1.1) AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ</i> .....	46
2.6. <i>PEROKSİDAZ (POD; EC.1.11.1.7) AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ</i> .....	47
<b>BÖLÜM III - SONUÇ VE TARTIŞMA</b> .....	<b>48</b>
3.1. <i>BAĞI NEM İÇERİĞİ (BNİ)</i> .....	48
3.2. <i>PROTEİN İÇERİKLERİ</i> .....	50
3.3. <i>SOD İÇERİKLERİ</i> .....	53
3.4. <i>POD İÇERİKLERİ</i> .....	56
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>60</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>73</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>83</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>84</b>
<b>YAŞAM ÖYKÜSÜ</b> .....	<b>85</b>

## BÖLÜM I- GİRİŞ

### 1.1. Çavdar Hakkında Genel Bilgi

Kültür çavdarının (*Secale cereale*) Suriye, Ermenistan, İran, Türkiye ve Kırgız Bozkırlarında yabani bir tür olarak bulunan *S. anatolicum* bitkisinde ya da Asya çevresi ve Güney Avrupa'da bulunan ve yabani bir tür olan *S. montanum* türlerinin her ikisinden de orjinlendiği düşünülmektedir. Çavdar Güney Asya'da buğday ve arpa tarlalarında yabani ot olarak tanımlanmıştır. Çavdar Amerika'nın kuzeyinden İngiliz ve Hollandalılar tarafından kuzey yarım küreye getirilmiştir. 1987 – 89 da Amerika Birleşik Devletleri'nde ortalama üretim 2,3 milyon ha. alanda yaklaşık 15,9 milyon tondur. Kuzey – Güney Dakota, Nebraska, Georgia ve Minnesota çavdar üretiminde önde gelen alanlardır (Oelke ve diğ., 1990).

#### 1.1.1. Özellikleri

Boy 1 – 1,5 m. arasında, kümelenmiş olarak bulunan, soğuğa ve kuraklığa dayanıklı tek yıllık bir bitkidir.

100 g'lık tanede 375 – 382 g kalori, 11,8 – 14,6 g protein, 1,9 – 3,0 g yağ, toplam olarak 80,5 –84,4 g karbonhidrat, 43 – 45 mg Ca, 377 – 422 mg P, 3,4 – 4,6 mg Fe, 1,1 – 6,9 mg Na, 524 mg K, 0,28 – 0,54 mg timin, 0,23 – 0,25 mg riboflavin, 1,8 – 1,9 mg niasin bulunmaktadır (Duke, 1978).

Kök sisteminin, ekildiği yerin toprak ve iklim özelliklerine göre derinlere doğru veya yüzeysel gelişmesi, adaptasyon sahasının çok geniş olmasını sağlamaktadır. Özellikle toprak kalınlığının az olduğu erozyona uğramış meyilli arazilerde çavdar, toprağı koruma ve canlılığını artırma bakımından da önemli bir kültür bitkisidir (Önmez, 1994).

Asya merkezi, Yakın Doğu ve Japon – Çin merkezlerine göre çavdar veya kültür varyeteleri alüminyum, bakteri, hastalık, kuraklık, mantar, yüksek pH, hidrojen florit, böceklerle, düşük pH'a, virüse, tuza, fazla suya ve yabancı otlara karşı toleranslıdır (Duke, 1978).



Şekil 1.1. *Secale cereale* bitkisinin genel görünüşü. (www.skk.affrc.go.jp)

### 1.1.2. Kullanımı

Çavdarın % 50' den azı tohum için yetiştirilirken geriye kalanı otlak, saman ya da yer örtücü olarak kullanılır. Yetiştirilen ürünün yaklaşık yarısı hayvan yemi olarak ya da ihraç edilmek için kullanılırken geriye kalanı alkollü içeceklerde, yiyecek olarak ve tohum olarak kullanılır. A.B.D.' nin orta bölgesinde öncelikle hububat için yetiştirilir, fakat bazen de otlak ya da saman olarak da yetiştirilir. Ayrıca yeşil gübre ya da örtücü olarak yetiştirilebilir. Bunlara ek olarak organik yapıya katkıda bulunur, toprak erozyonunu önler, su girişini ve tutulmasını artırır. Bununla beraber allelopatik etki göstererek yabancı otlarla mücadelede kullanılabilceği yönünde kanıtlar bulunmaktadır. Toprak yüzeyindeki çavdar kalıntıları fiziksel ve kimyasal çevreyi, tohum çimlenmesi ve bitki gelişmesi süresince değiştirebilir (Oelke ve diğ., 1990).

*DİE*'nin 2002 verilerine göre; ülkemizde 150.000 ha'lık alanda çavdar ekimi gerçekleştirilmiş ve toplam 255.000 ton ürün elde edilmiştir. Bu verilere göre çavdar, ülkemizde üretimi yapılan en önemli altıncı tahıl çeşididir. Ayrıca ülkemiz, dünya da temel çavdar üreticisi olan ülkeler arasında yer almaktadır.



Şekil 1.2. Çavdarın orjin bölgeleri. ■ Kültivasyon Bölgeleri: ■ Anavatanı (www.mpiz-koeln.mpg.de)

#### 1.1.2.1. İnsan Yiyeceği

Çavdar ekmeği nişastalı olmasına rağmen ekmek mayalanmasında besleyici proteinlere sahiptir. Çavdar genellikle ekmek yapımı sırasında % 25 – 50 buğday ile karıştırılır.

Arpa, yulaf, çavdar gibi tahıl taneleri ve bazı mantarların içerdiği  $\beta$ -D-glukanlar kandaki total kolesterolü düşürmede kullanılmaktadır.

#### 1.1.2.2. Hayvan Yemi

**Tane:** Çavdar, arpa ve yulafa göre; daha fazla sindirilebilir protein ve total sindirilebilir besin içerir ve mısırdan % 85 – 90 daha fazla besleyicidir. 1/3

oranında diğer tahıllarla karıştırıldığında kullanıma elverişlidir. Çünkü çiğnendiğinde çok lezzetli değildir ve yapış yapıştır (Oelke ve diğ., 1990).

**Yiyecek:** avdar kırmızı ya da koyu kırmızı yonca ve avdar imiyle karıştırıldığında mükemmel bir yiyecek olur. avdar triticale ve buğdaydan daha erken olgunlaşır ve protein seviyesi daha yüksektir. Bununla beraber kış avdarının kış buğdayı ve kış triticale' ye göre temel avantajı 7 – 10 gün önce olgunlaşmasıdır (Oelke ve diğ., 1990).

**Otlak:** avdar, sonbahar ve ilkbahar arasında genellikle diğer küçük tahıllardan daha fazla yiyecek sağlar çünkü düşük sıcaklıklara çabuk adapte olup hızla gelişir. avdar lezzetli bir yem olmamasına rağmen diğer yem bitkileri otlatmaya elverişli olmadığı zaman hayvanlar tarafından hızla tkutilir (Oelke ve diğ., 1990).

### *1.1.3.Yetişme Habitatı*

Kışlık avdar genellikle işlenmiş alanda sert kış koşullarında gelişir. Dondurucu kış sıcaklıklarında vernalizasyon işleminden sonra ilkbahar süresince reproduktif evre gerçekleşir (Oelke ve diğ., 1990).

#### *1.1.3.1. Çevresel İstekleri*

*1.1.3.1.1. İklım.* avdar diğer tahılların yetişemediği zor çevresel koşullarda yetişebilir. Kışlık avdar tüm tahıllara göre daha sert kış koşullarında yetişebilir. avdar sonbahar sonunda düşük sıcaklıklarda kolaylıkla gelişebilir ve ilkbahar başlarında hızlıca gelişimine devam eder. Fakat, avdar kışın buz tabakaları ya da su birikintileri gibi ıslak alanlarda ya da çukurluklarda canlılığını srdremeyebilir (Oelke ve diğ., 1990).

*1.1.3.1.2. Toprak.* Kışlık çavdar asidik, kuru, verimsiz ve özellikle fakir topraklarda diğer tahıllara göre daha iyi gelişir. Daha iyi sonuç almak için çavdarın verimli ve pH' ı 5,5 – 5,8 ya da daha yüksek pH' a sahip çorak topraklara ekilmesi önerilir. Çavdar hafif verimli ve kumlu topraklarda fazla killi topraklara göre daha iyi gelişir. Kurak topraklarda kuraklığa toleranslı olduğu için çimlenme gerçekleşebilir (Oelke ve diğ., 1990).

## *1.2. ÇAVDAR ve STRES FİZYOLOJİSİ*

Stres terimi, fizik bilimine ait terminolojiden alınmış, basınç veya gerilim anlamlarına gelmektedir. Bir çevrede devamlı olarak ya da ara sıra meydana gelen çok sayıdaki olumsuz fakat hemen öldürücü olmayan koşullar ''stres'' olarak bilinir. Bir başka yaklaşımla; bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi etkileyen veya engelleyen, uygun olmayan herhangi bir durum veya madde ''stres'' olarak kabul edilir. Aslında bitkide genellikle bir dış faktörün zorlaması ile oluşan etki olarak da tanımlanabilen stres kavramı, bitki toleransı ile da yakından ilişkilidir.

Türkçe'de; baskı, zorlama veya yoğun gerginlik gibi sözcüklerle karşılanmaya çalışılan stres sözcüğü kısaca; yaşam için optimal olan koşullardan önemli sapmalar olarak açıklanabilir. Organizmanın bütün fonksiyonel düzeylerinde meydana gelen değişiklikler ve tepkiler, önce geri dönüşümlü olmalarına rağmen daha sonra kalıcı hale de gelebilirler. Stres olayı geçici olarak meydana gelse bile bitki canlılığı gerilemeye başlar. Bitki, kapasitesinin sonuna ulaştığında ise o ana kadar belirti göstermeden (latent) kalan zarar, kronik hastalığa veya geri dönüşümsüz bir zarara dönüşebilir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

### *1.2.1. Stres Faktörleri*

Stres faktörleri orijinine göre değişik şekillerde sınıflandırılabilirler. Stresörlerin biyotik ve fizikokimyasal olarak iki grupta ele alındığı sınıflandırmada



biyotik faktörler; enfeksiyon oluşturan mikroorganizmaları (fungus, bakteri, virüs), zararlıları (böcek, nematod) ve diğer organizmalarla rekabeti içermektedir. Fizikokimyasal faktörler ise; sıcaklık, su, radyasyon, kimyasal, manyetik, elektriksel etkiler gibi çevre parametrelerindeki sapmalar olarak belirlenmektedir (Levitt, 1980).

Diğer bir sınıflandırma şeklinde ise stres faktörleri, doğal ve antropogenik olarak gruplandırılmaktadır. Bu durumda doğal stres faktörleri; yüksek ışık, ısı, üşüme, don, su azlığı ve fazlalığı, mineral eksikliği ile böcek ve patojenleri kapsamaktadır. Antropogenik stres ise herbisitler, fungusitler, pestisitler, havayı kirletici maddeler, ozon, fotooksidanlar, asit yağmurları, toprak ve su, aşırı N uygulaması, ağır metaller, artan UV radyasyonu ve CO<sub>2</sub> seviyesi gibi faktörleri içermektedir. Çevresel stres, çok az veya çok fazla enerji girdisi ile ya da kimyasalın çok hızlı veya yavaş olarak dolaşımı ile ortaya çıkmaktadır (Lichtenthaler, 1996; Edreva, 1998).

#### *1.2.1.1. Stresin Teşvik Ettiği Fazlar*

**Tepki Fazı:** Katabolizmanın anabolizmaya üstün olduğu bir stres reaksiyonu ile başlayan bu fazda normal yaşamsal etkinlikler için gereksinim duyulan yapısal (protein, biyo-membranlar) ve fonksiyonel (biyokimyasal olaylar, enerji metabolizması) koşullarda sapmalar meydana gelir. Ayrıca bu fazda canlılıkta gerilemektedir.

**Onarım Fazı:** Eğer uyartıların yoğunluğu değişmez ise protein veya koruyucu maddelerin sentezi gibi tamir olayları bu fazda gerçekleşir. Ayrıca bu fazda adaptasyon olayının gerçekleşmesi sağlanarak devam eden stres koşulları altında kuvvetlenmenin arttığı bir dayanıklılık fazına geçiş meydana gelir.

**Bitiş Fazı:** Eğer stres dönemi fazla uzun sürerse veya stres faktörünün yoğunluğu artarsa, bitiş fazı ortaya çıkmaktadır. Tolerans limitlerinin aşıldığı ve

adaptif kapasitenin aşırı yüklendiği durumlarda, kalıcı zararlar ve hatta ölüm de meydana gelebilmektedir.

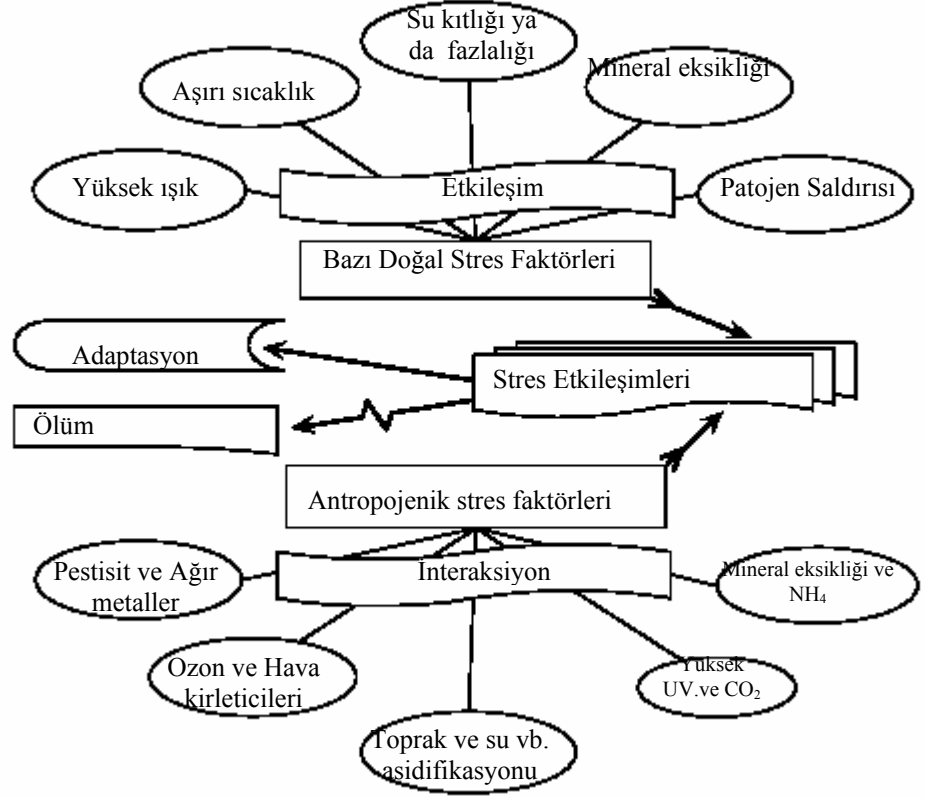
**Rejenerasyon Fazı:** Senesens olaylarının dominant hale gelmelerinden önce ve zararın çok yüksek olmadığı durumlarda stresörler uzaklaştırılırsa, bitkide fizyolojik fonksiyonların kısmi veya tam rejenerasyonu gerçekleştirilip zarar tamir edilebilmektedir (Edreva, 1998; Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

#### *1.2.1.2. Strese Karşı Bitkilerin Tepkileri*

**Kaçınma:** Bitki dokularında stres faktörlerinin azaltılmasına veya önlenmesine yönelik olarak gerçekleşir. Burada bitkinin çevreyle ilişkili yüzeylerinin bileşimi ve morfolojisindeki değişimler yer alır. Strese tepki olarak; yaprak ayasının kalınlığı, stomaların büyüklük ve sıklığı, kutikulanın inceliği ve kimyasal bileşimi değişmektedir. Stres faktörlerinden mevsimsel kaçış ise ontogenetik değişimler sonucunda ortaya çıkmaktadır. Böylece stres koşullarından önce baskın ontogenetik safhaya geçilerek bitkinin üremesi garanti altına alınmaktadır.

**Tolerans:** Stres etkisinin azaltılmasını veya düzeltilmesini kapsar. Bu aşamadaki değişimler; doku ile organel düzeyinde ve moleküler seviyede meydana gelmektedir (Levitt, 1980; Edreva, 1998; Acar, 1999).

### 1.2.1.3. Stres Çeşitleri



Şekil 1.3. Stres faktörleri ve aralarındaki etkileşimleri (Alexieva ve diğ., 2003).

### 1.2.2. Tuz Stresi

#### 1.2.2.1. Toprak ve Su

Topraktaki boşluklar hava veya su ile doludur. Toprağın drenaj durumu iyi ise toprak boşluklarına dolan suyun bir kısmı yerçekimi etkisiyle toprak profili içine sızar (drenaj suyu). Suyun diğer kısmı ise yerçekimine karşın toprak tarafından tutulur (toprağın tarla kapasitesi). Bitkiler yoğun şekilde toprak tarafından tutulan sudan yararlandıklarından, toprağın tarla veya su tutma kapasitesi bitki yetiştirme açısından önemlidir. Bu olay suyun adhezyon ve kohezyon özellikleriyle açıklanmaktadır. Normal şartlarda yağmur sonrasında suyun büyük bölümü yerçekimi etkisiyle toprağın alt tabakalarına doğru hareket eder (gravitasyonel su),

bu sudan geriye topraktaki boşlukları dolduran bir kısım su kalmaktadır – ki bitki büyümesinde en fazla bu sudan yararlanmaktadır – (Kapiller Su – Kılcal Su). Kurak günlerde genellikle topraktaki kılcal ve gravitasyonel su miktarı hemen hiç bulunmamaktadır, sadece toprak partiküllerince çok sıkı şekilde tutulmuş olan higroskopik su mevcuttur ancak bitki bundan hiçbir şekilde yararlanamamaktadır (Kadıoğlu, 1999).

Normal olarak toprağın alt katmanlarına akıp giden gravitasyonel su, erimiş ve kristal haldeki mineralleri de beraberinde taşıyarak toprağın yıkanmasına yol açar. Diğer yandan yağışın fazla olduğu ve doğal drenajın bulunmadığı yerlerde yerçekimi suyu taban suyu düzeyinin yükselmesine ve buna bağımlı olarak toprakların tuzlu ve alkali topraklar haline dönüşmesine neden olduğu gibi, bitki köklerinin normal solunumlarını güçleştirip fizyolojik kuraklıkla onların ölümüne yol açar (Tokur, 1994).

Toprakta var olan taban suyunun yüksekliği ve değişkenliği bitki yetiştiriciliği bakımından çok önemlidir. Bu seviye yağışlı mevsimde yükselir, kurak mevsimde ise düşer. Taban suyu yükselince, toprak zerreleri arasındaki hava yerini suya bırakır ve kökler oksijen alamadıklarından ölürlür (Tokur, 1994).

#### *1.2.2.2. Toprak Tuzluluğunun Oluşumu*

*1.2.2.2.1. Tuzluluk.* Özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanarak yeraltı suyuna karışan çözünebilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun uçmasıyla toprak yüzeyinde birikmesi olayıdır (Kwiatowski, 1998).

Sodyum klorür (NaCl) ve sodyum sülfat (NaSO<sub>4</sub>) toprakta fazla bulunan tuzlardır. Bu tuzlar çözünebilir oldukları için toprak profilinde suyun hareketiyle kolayca taşınabilirler. Bu taşınım kurak ve yarı kurak alanlarda biraz daha zordur. Çünkü bu alanlardaki yağış, tuzları yaklaşık olarak bir metre derinliklere kadar

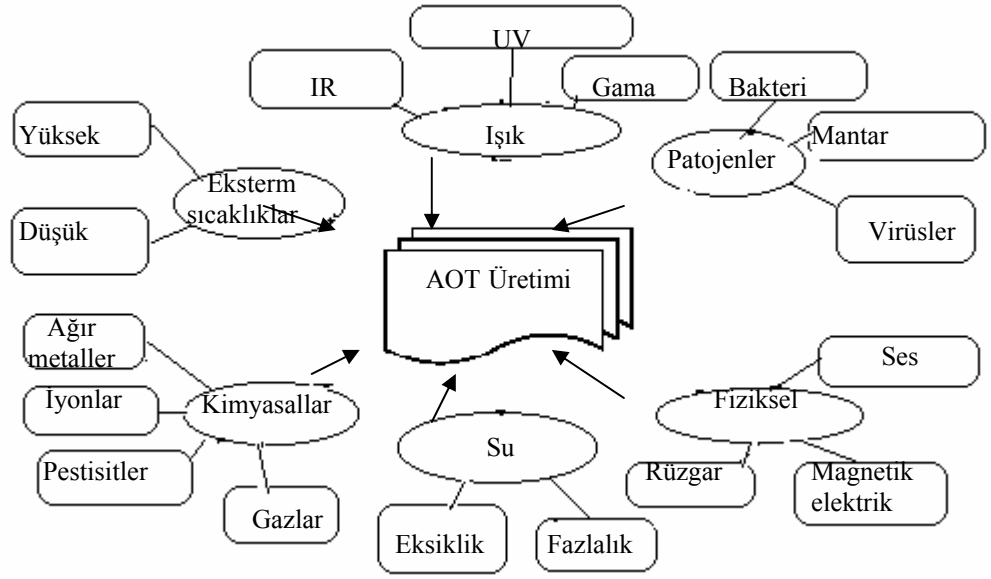
taşıyabilir. Fakat toprak profilinden dışarıya taşıyamaz. Yer altı suyunun yükselmesiyle toprak profilindeki tuzlar çözünerek, toprak yüzeyine taşınır. Toprak yüzeyinde su, evaporasyonla uzaklaşırken çözünen tuzlar kalır (Cullen, 2003).

Yeraltı suyunun yüzeye ulaşmasıyla toprak profilinde serbest kalan zonlar genellikle meyilli yüzeylerin altında bulunur ve burada bulunan tuzlar ise akarsulara karışır. Ayrıca yağmur ile tuzlar topraktan yıkanarak yer altı suyuna oradan da akarsulara karışır (Cullen, 2003).

Toprakta vejetasyon var ise işler biraz daha karmaşıklaşır. Tahıl ve çayır gibi bitkiler toprakta su tablasından aşağıya kadar uzanan kök sistemlerine sahip değildir. Ve bu tür bitkiler derin kök sistemine sahip vejetasyonunun yerini alırlarken topraktaki yağmur suyunu fazlaca kullanamazlar. Su tablası yükselir ve tuzlar üst tabakalara taşınırlar (Cullen, 2003).

#### *1.2.2.2.2. Toprak Tuzluluğunun Bitkiler Üzerine Etkileri*

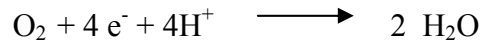
*1.2.2.2.2.1. Serbest Radikal Oluşumu.* Solunum ve fotosentez sırasında aerobik organizmalarda süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ), singlet oksijen ( $^1O_2$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi reaktif oksijen türleri (ROT) doğal süreçlerin bir sonucu olarak üretilir.



Şekil 1.4. ROT'nin oluşumuna neden olan olaylar (Alexieva ve diğ., 2003).

1.2.2.2.2. *ROT Oluşumu ve Aralarındaki Dönüşüm Reaksiyonları.* Tüm aerobik canlılar,  $O_2$ 'yi son bir elektron alıcısı gibi kullanarak yok ederler.

**I. adım;** yüksek bir aktivasyon enerjisiyle tam olarak  $O_2$ 'nin  $H_2O$ 'ya redüksiyonudur (Edreva, 2005).



Bu olay uygun sıcaklıkta oldukça yavaş ilerler ve bu, aerobik organizmalarda yanma başlamadan hemen önce önlenir. Moleküler oksijenin kullanımı alternatif bir yoldan da ilerleyebilir; ardışık monoelektron transferlerinin oluşması sırasında letal etkiler veya zararlara neden olabilecek yüksek reaktiviteli oksijen ara ürünleri indirgenir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Bu nedenle oksijen paradoksu, ilk olarak oksijen redüksiyonu üzerine aerobik canlıların zorunlu bağımlılığını ve daha sonra redüksiyonu ile kaçınılmaz zararları arasındaki ilişkiyi tanımlayabilir. Bu birbirine bağlı yönler arasındaki denge aerobik organizmaların normal fonksiyonları ve canlılık için çok önemlidir (Edreva, 2005).

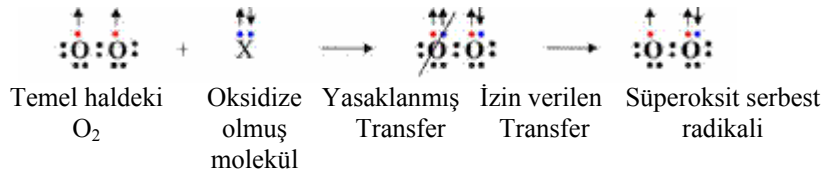
Oksijen paradoksu, kimyasal oksijenin spesifitesi temelinde dayandırılır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Temel haldeki moleküler oksijen, iki dış tamamlanmamış  $\pi^*$  2p orbitalinde elektronların paralel dönmelerine bağlı olarak reaktif değildir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Temel haldeki moleküler oksijen.

Elektron çiftlerinin karşılıklı dönmeleriyle ilgili olan bu durum oksidize olmuş moleküllerden aynı anda iki elektronun alınmasını sınırlandırır. Bu sadece paralel spinleriyle elektronların, bir elektron çifti şeklinde olabileceğini öneren Pauli kuralıyla uyum içindedir (Edreva, 2005).

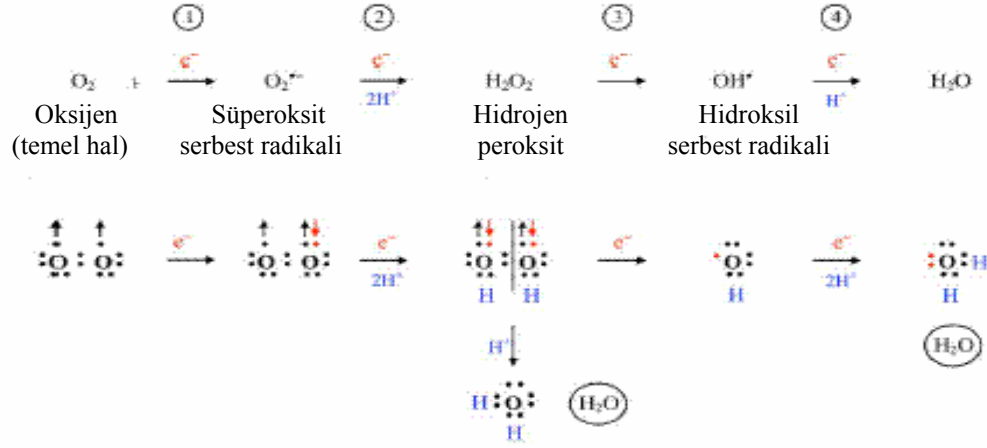
Uygun koşullarda  $O_2$  redüksiyonunun etkilenmesiyle kimyasal elektroniğin kısıtlanmasının üstesinden ancak ardışık tek elektron transferleriyle gelinebilir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Temel haldeki  $O_2$ ' in oksidize olmuş molekül ile reaksiyonu (Edreva, 2005).

$O_2$  redüksiyonunun yüksek reaktif ürünlerini tanımlamada ortak terim olarak ”**reaktif oksijen türleri (ROT)**” kullanılır (Mittler, 2002). ROT; serbest radikaller kadar radikal olmayan –  $H_2O_2$ , singlet oksijen ( $^1O_2$ ),  $O_3$  gibi yüksek reaktiviteli molekülleri de kapsamaktadır. ROT’ un yüksek reaktivitesi, elektronik konfigürasyonunun özelliğine bağlıdır. Bununla beraber serbest radikaller, antiparalel spine sahip diğer elektronlarla kolayca eşleşebilen dış orbitallerinde (Şekil

1.7) eşleşmemiş elektronlar içerir. Serbest radikaller, radikal olmayan bileşiklerle etkileşim halindedir. Onları radikale dönüştürür. Böylece serbest radikal reaksiyonlarının bir zinciri oluşur. Radikal olmayan bir ROT molekülü olan  $^1\text{O}_2$ ' in  $\pi^*$  elektronları antiparalel spinlere sahiptir; temel haldeki oksijen ( $\text{O}_2$ )' de spine enerjisinin geri dönüşümüyle yapılır.



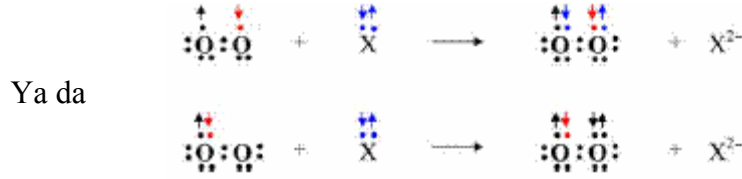
Şekil 1.7. Dioksijenin ardarda 4 adımda oluşan monoelektron redüksiyonu 2  $\text{H}_2\text{O}$  ve reaktif oksijen ara ürünleri meydana gelir.

**1. Adım;** bir elektronun kabulüyle süperoksit oluşmasıdır. Bu olay endotermiktir ve böylece sınırlıdır. Daha sonraki adımlar ekzotermiktir ve kendiliğinden gerçekleşir. Süperoksitin protonlanmasıyla **hidroperoksil radikali** ( $\text{HO}_2^{\bullet}$ ) oluşur. **2. Adımda;** süperoksit 2  $\text{H}^+$  ile protonlanıp bir elektron almasıyla redüklenir ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  formu oluşur. **3. Adım;**  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' in heterolitik füzyona maruz kalmasıyla bir oksijen atomu, kırılan kovalent bağlardan iki elektron alır. Bu parçanın protonlanmış ürünü  $\text{H}_2\text{O}$  molekülüdür. Diğer parça bir elektron alır ve hidroksil serbest radikaline ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) aktarılır. **4. Adım;**  $\text{OH}^{\bullet}$  bir elektron alır ve protonlanmadan sonra bir molekül  $\text{H}_2\text{O}$  ürün olarak oluşur (Şekil 1.7).

Bununla beraber  $^1\text{O}_2$  molekülünde spin kesimleri durdurulur ve oksitleme kabiliyeti artırılır (Knox ve Dodge, 1985; Edreva, 2005).



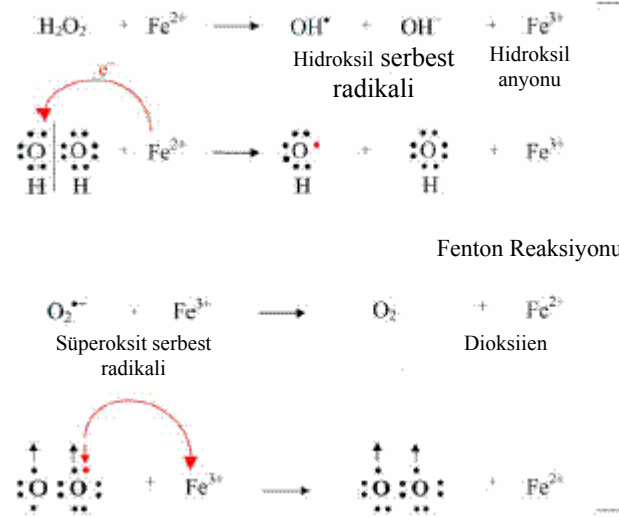
Geçiş metalleri (Fe, Cu, Mn vb.) olarak adlandırılan metaller orbitallerinde eşleşmemiş elektronlara sahiptir yani tek elektronu alıp – verebilirler. Böylece O<sub>2</sub>' ye tek elektron transferi ve genellikle ROT' un birbirine dönüşümü ve oksiredüksiyonu gerçekleşir(Hippeli ve diğ., 1999) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Bir geçiş metali ile gerçekleştirilecek reaksiyonlar (Edreva, 2005).

*Haber – Weiss döngüsünün* bir bileşeni olan *Fenton reaksiyonu* (Şekil 1.9), Fe<sup>+2</sup> in yükseltgenmesiyle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH•'a dönüşür ; bu biyolojik sistemlerde şimdiye kadar bilinen birçok zararlı serbest radikal üreten, hasar verici olaylardan bir tanesidir (Grant ve Loake, 2000).

Süperoksit (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) serbest radikali Fe<sup>+3</sup> ü Fe<sup>+2</sup> ye redükler ve O<sub>2</sub> üretir (Şekil 1.9) ya da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' ye dönüşür, her iki olayda ya doğal olarak ya da enzimatik olarak katalizlenir (Alscher ve diğ., 2002; Edreva, 2005 ). Bu yol bir süperoksitin elektron vericisi ya da alıcısı olarak iş gördüğü dismutasyonla ilgilidir (Edreva, 2005).



## Haber – Weiss Döngüsü

Şekil 1.9. Haber – Weiss Döngüsü (Edreva, 2005)

ROT' un normal hücrelerde sabit ve düşük seviyede hücre fonksiyonu sonucu oluştuğunun belirtilmesi gerekir. Onlar, bitkisel korunmayla ilgili olarak metabolik yollara ihtiyaç duyarlar (Grant ve Loake, 2000). Spesifik olarak sınırlı konsantrasyonlardaki ROT ( $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) uyarı fonksiyonları yapar (Van Breusegom ve diğ., 2001). ROT' un zarar, koruma ya da sinyal faktörleri gibi etkilerinin olması; uzaysal ve zamansal düzenleri gibi uygun zaman ve alanda ROT' un üretimi ve yıkımı arasındaki ince dengeye bağlıdır. Oksijen toksisitesi; ROT' un yetersiz yıkımı ya da kontrolsüz üretimin her ikisinden de kaynaklanabilir (Edreva, 2005).

Bitkilerde farklı hücreyel lokasyonda oluşan ROT üretiminin 3 temel tipi vardır:

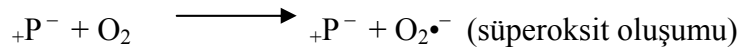
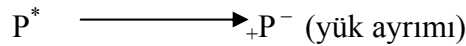
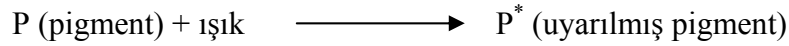
1. Mitokondri ve kloroplastlardaki elektron taşıma zinciri (ETS)
2. Bazı peroksidaz ve oksidazlar (NADPH oksidaz, NADH oksidaz, ksantin oksidaz, lipoksigenaz, glikolat oksidaz, amin oksidaz vb.)
3. Klorofil molekülü gibi ışığa duyarlı moleküller (Blokhina ve diğ., 2003).

1.2.2.2.3. *Kloroplastlarda ROT Oluşumu.* Kloroplastlarda ışık reaksiyonları sırasında ürün olarak ROT oluşur. Rubisko'yu katalizleyen karboksilaz-oksijenaz reaksiyonları ETS' de, oksijence zengin çevresel koşullarda çalışır. Bu yüzden aşırı yüklü ETS' den elektronların akışının kaçınılmaz ürünü ROT' tur. Bundan başka klorofil molekülleri, ışık enerjisi girişinden sonra ROT üretimine ışığa duyarlı özelliği ile eşlik eder. Kontrol altındaki kloroplastlarda ROT seviyesini korumak için çeşitli ROT temizleme fonksiyonları geliştirilmiştir (Foyer ve diğ., 1994 b; Mittler, 2002; Ivanov ve Khorobrykh, 2003).

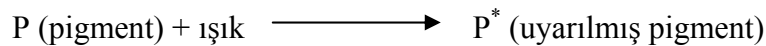
*Klorofil Molekülü Gibi Işığa Duyarlı Moleküllerde ROT Oluşumu:*

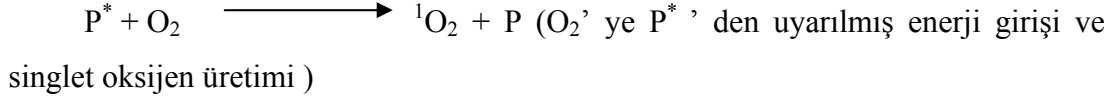
Klorofil uyarılmasıyla oluşan ışığa bağlı (fotodinamik ) reaksiyonlar; tip I ve tip II olarak sınıflandırılır.

**Tip I;** Uyarılmış pigmentte yük ayrımına maruz kalan fotodinamik reaksiyon

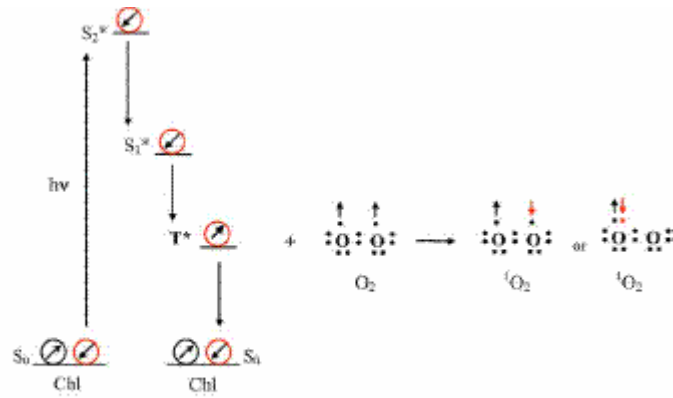


**Tip II;** Klorofilin enerji transferiyle aktive edildiği reaksiyon





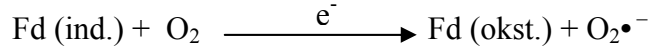
Güneş ışınının absorblanması ile temel haldeki klorofil molekülünden bir elektron çiftinin birisi, enerjice daha yüksek ( $S_2^*$ ) bir hale gelir. Enerji kaybı ile bu elektron  $S_1^*$ 'den enerjice daha düşük olan  $T^*$ 'e gelir.  $S_1^*$ 'den  $T^*$  (triplet) hale transfer elektron spininin dönüşümü eşliğinde olur. Buradaki kilit olay triplet haldeki klorofilin oluşmasıdır. Triplet haldeki klorofilden temel haldeki oksijene bu enerjinin aktarılması,  $O_2$  de bir elektronun spin değiştirmesini sağlar (Niyogi, 1999) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Triplet haldeki klorofil ( $T^*$ ) ile dioksijenin ( $O_2$ ) etkileşimi ile singlet oksijenin ( ${}^1O_2$ ) üretimi (Edreva, 2005).

### *Kloroplastlarda ETS*

PSI' deki ETS son zamanlara kadar kloroplastlarda ROT' un kaynağı olarak göz önünde tutulmuştur. Genellikle PS merkezinden harekete geçen elektron NADP' ye aktarılır, NADPH redüklenir, bundan sonra Kalvin'e geçilir ve son elektron alıcısı  $CO_2$  redüklenir. Elektron akışının bir parçası ETS' in aşırı yüklenmesi durumunda ferredoksininden  $O_2$  'ye çevrilir,  ${}^1O_2$ 'nin redüklenmesi ile  $O_2^{\bullet-}$  oluşur. Bu, yani ferredoksininden  $O_2$  'ye dış elektronların aktarılması (Mehler, 1951); Mehler Reaksiyonu olarak adlandırılır (Edreva, 2005).



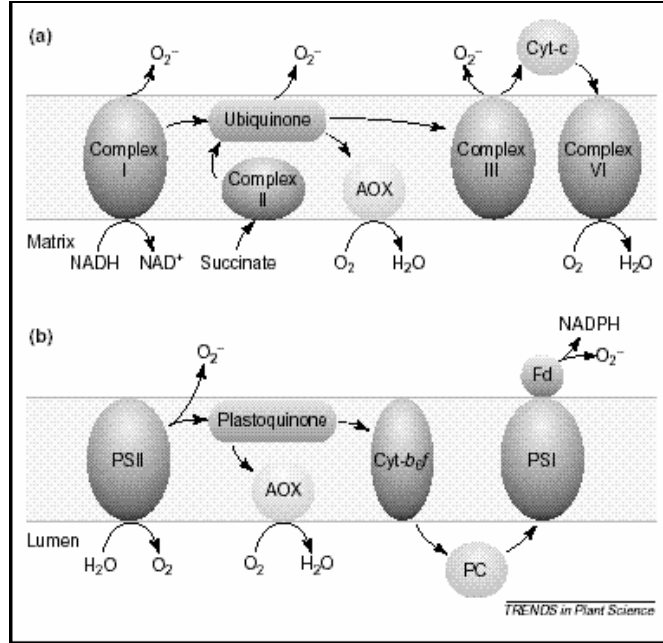
$\text{O}_2$ ' ye elektronların geçmesi PSI ETS' inde  $4\text{Fe} - 4\text{S}$  ve  $2\text{Fe} - 2\text{S}$  bağlarından oluşabilir. Son çalışmalarda  $\text{O}_2^{\bullet -}$  üretimi  $\text{O}_2$ ' ye elektron geçiş yerleriyle sağlansa da ( $\text{Q}_A$ ,  $\text{Q}_B$ ) PSII' de ETS' in alıcı alanlarıyla açıklanmıştır (Edreva, 2005). Son veriler ise  $\text{O}_2^{\bullet -}$  'in PSI yerine PSII' de üretildiğini öne sürmektedir;  $\text{Q}_B$ ,  $\text{O}_2^{\bullet -}$  üretim alanı olarak gösterilmiştir (Zhang ve diğ., 2003).

$\text{O}_2$ ' ye geçen elektronların genel özellikleri, elektron değişiminin kolay gerçekleşmesi olabilir. Farklı yollarla  $\text{O}_2^{\bullet -}$  üretilebilir. İçte "lumen" membran yüzeyinde (aydınlatmayla asitleştirme)  $\text{O}_2^{\bullet -}$ ,  $\text{HO}_2^{\bullet}$  ye protonlanabilir. Buda lipit peroksidasyonunu başlatır. Dışta "stromal" membran yüzeyinde  $\text{O}_2^{\bullet -}$ , enzimatik olarak (SOD tarafından) ya da doğal olarak  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2$ ' ye dismüte edilir. Dismutasyonda  $\text{O}_2^{\bullet -}$  gibi bir ROT tipinin yok edilmesi, başka bir  $\text{H}_2\text{O}_2$  gibi bir ROT tipinin oluşmasına neden olur (Foyer ve diğ., 1994b).  $\text{O}_2^{\bullet -}$  dismutasyonunun sonucu olan  $\text{H}_2\text{O}_2$  farklı sonlara sahip olabilir. Fe - S merkezinde  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' ye uygun olan  $\text{Fe}^{+2}$ , Fenton reaksiyonuyla  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' den daha fazla tehlikeli olan  $\text{OH}^{\bullet}$  a dönüştürülür.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , askorbat - glutasyon döngüsüne girerek  $\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{O}_2$ ' ye dönüştürülür (Asada, 1999).

*1.2.2.2.4. Mitokondride ROT Oluşumu.* Oksijenin büyük bölümü mitokondriyal elektron taşıma sistemindeki sitokrom oksidaz tarafından tüketilir ve oksijene ardışık olarak 4 elektron transfer edilir. Sonuçta su meydana gelir. Bitki mitokondrisinde alternatif oksidazda, ilave bir oksijen indirgeme bölgesi vardır. Siyanüre direnci sayesinde sitokrom oksidazdan ayrılır. Bununla beraber, bu bölgelerden hiçbiri süperoksitin önemli miktarını üretmez (Rich ve Bonner, 1978). Aynı zamanda NADH varlığında mitokondride üretilen  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2^{\bullet -}$  izole edilmiştir (Loschen ve diğ., 1973; 1974). Çeşitli Fe - S Proteinleri ve NADH dehidrogenazın da  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2^{\bullet -}$  üretilen bölgelere dahil olduğu düşünülmektedir (Turrens ve diğ., 1982).

Mitokondrial elektron taşınımında kompleks I ve III süperoksit gibi ROT' nin temel ve kaçınılmaz üreticileridir. Komoleks III, ubisemiquinon anyon radikali (UQ<sup>-</sup>)' nin fotooksidasyonu ile O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> üretimine yardım eder. Bu proses süresince UQ<sup>-</sup> tarafından oksijenin bir elektron indirgenmesi O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> oluşumuna neden olur.

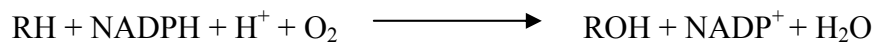
Kompleks III içinde sitokrom c' ye (ve H<sup>+</sup> pompası eşliğinde) ubiquinolden (UQH<sub>2</sub>) elektronların transferi ile Q döngüsü olarak adlandırılan döngüde katalizlenir. UQH<sub>2</sub>, Rieske demir – proteinlerine yakın ve iç membranın sitosolik yüzeyini kapalayan membran havuzundan tutucu bir alan olan Q<sub>o</sub> (Q<sub>p</sub>)' ya difüze olur. İlk elektron Q<sub>o</sub> alanında reaksiyona giren ve hareketli olan (cyt c<sub>1</sub> ve daha sonra cyt c' ye geçen) Rieske proteinine UQH<sub>2</sub>' den transfer edilir. Düşük potansiyelli döngüye ikinci elektronun transferi geciktirilir ya da engellenirse; Q<sub>o</sub>' da UQ<sup>-</sup> oluşumu ve sitosolik alana iki tane H<sup>+</sup> geçişi olur. Normal koşullar altında UQ<sup>-</sup> cyt b<sub>L</sub> (sitosolik alana yakın) tarafından UQ' ya oksidize edilir. Özellikle yüksek membran potansiyeli ile elektron transferi yavaşlarken, O<sub>2</sub>, suya göre yağda daha fazla çözünse de membranda çözünemeyen O<sub>2</sub>, UQ<sup>-</sup> ile reaksiyona girebilir. Bu reaksiyonda O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> üretilir (Şekil 1.11.a). Q<sub>o</sub>' ın intermembran boşluğa yakın lokalizasyonu süresince O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> bir anyon gibi, muhtemelen daha yüksek sitosolik bir alan ile membrandan uzaklaştırılabilir. Muller ve diğ., (2004) Kompleks III' te üretilen O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> ' nin yaklaşık yarısının matriks içine geçtiğini göstermişlerdir (Ježek ve Hlavatá, 2005).



Şekil 1.11. Mitokondrial ETS (a) ve Kloroplast ETS (b)' inde ROT üretimi (Mittler, 2002).

*1.2.2.2.5. Endoplazmik Retikulumda ROT Oluşumu.* Granülsüz endoplazmik retikulumda; oksidasyon, hidroksilasyon, dealkilasyon, deaminasyon, dehalojenizasyon ve denatürasyonu içeren çeşitli oksidatif prosesler meydana gelmektedir. İşlevi karmaşıklaşmış oksijenazlar; bir elektron vericisi olarak NAD(P)H kullanarak bir organik substrata bir oksijen atomu ekleyen, bir heme kısmı içerir.

Bitkilerde en iyi katalize edilmiş sitokrom P<sub>450</sub>, flavonoid ve lignin biyosentezlerinde işlevsel olan sinnamat – 4 – hidroksilaz' dır. Süperoksit sitokrom P<sub>450</sub> içeren mikrozomal NAD(P)H' a bağlı elektron taşınımı ile üretilir (Winston ve Cederbaum, 1983).



Sitokrom P<sub>450</sub> tarafından katalizlenen genel bir reaksiyon

Substratın (RH) univalent indirgenmesi ve  $P_{450} - RHOO$  kompleksi oluşturmak için triplet oksijenin ilavesinden sonra kompleks  $P_{450} - RH'$  a ayrışabilir ve süperoksit oluşur.

Sitokrom  $P_{450}$  ilk olarak organik substrat RH ile reaksiyona girer. Kompleks, eşleşmemiş bir elektrona sahip her bir triplet oksijenle kendiliğinden reaksiyona girebilen bir ara radikal oluşturmak için bir flavoprotein tarafından indirgenir. Bu oksijenlenmiş kompleks sitokrom b tarafından indirgenebilir veya bazen bu kompleks süperoksit oluşturarak ayrışabilir.

*1.2.2.2.2.6 Mikrobadilerde ROT Oluşumu.* Peroksizomlar ve glioksizomlar tek zarlı organellerdir. Bunlar yağ asitlerinin  $\beta$ - oksidasyonu ve glikolik asit döngüsünde görevli olan glikolat oksidaz, katalaz ve çeşitli peroksidazlar gibi enzimleri içerirler. Glikolat oksidaz glikolattan oksijene iki elektron taşınmasında  $H_2O_2$  üretir (Lindqvist ve diğ., 1991). Ksantin oksidaz, urat oksidaz ve NADH oksidaz, kendi substratlarının oksidasyonunun bir sonucu olarak süperoksit oluşturur. *In vitro* da ksantin oksidaz reaksiyonu, ksantinin ürik asite dönmesi sırasında bir mol süperoksit ürettiği için süperoksit kaynağı olarak sık sık kullanılmıştır (Fridovich, 1970).

*1.2.2.2.2.7. Plazma Membranları ve Hücre Duvarlarında ROT Oluşumu.* Tamamen açık olmasına rağmen hücre duvarları metabolizmanın ve aynı zamanda oksijen aktivasyonunun aktif bölgeleridir. Bu reaksiyonların bazıları patojenlere karşı savunma reaksiyonlarına bazıları ise ksenobiyotik kimyasalların bölmelendirilmesi ve parçalanmasına dahil olabilir. Bununla beraber yaygın reaksiyonların çoğu biyosentetiktir. Örneğin; ligninin fenilpropanoid öncülleri,  $H_2O_2$  ile ilgili reaksiyonlar sayesinde çapraz bağlanırken alt üniteler lignine rastgele bağlanır (Gross, 1980). NADH, bir hücre duvarı enzimi olan malat dehidrogenaz tarafından meydana getirilir. Daha sonra  $H_2O_2$  oluşturmak için, muhtemelen plazmalemma üzerindeki NADH oksidaz tarafından kullanılır (Gross ve diğ., 1977; Vianello ve Macri, 1991). Diamin oksidazlar, kendiliğinden oksidize olacak bir kinonu indirgemek için diaminleri veya poliaminleri (putressin, spermidin, kadaverin vb.)



kullanarak da hücre duvarında aktif oksijen üretimine dahil olurlar (Vianello ve Macri, 1991; Elstner, 1991).

### *1.2.3. Çimlenme ve Gelişim*

Tuzluluğun bitki gelişimi üzerine doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde etkisi vardır. Doğrudan etkisi; toprak çözeltisinin konsantrasyonunu arttırarak bitkinin gelişmesine zararlı etki yapan iyonların bitkinin kök alanına yığılmasına neden olması, dolaylı etkisi ise toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin bozulmasına yol açmak suretiyle bitkinin normal bir şekilde gelişmesini engellemektir. Tuzlu koşullarda tuz çeşidi ne olursa olsun genellikle çimlenme inhibe edilir, büyüme yavaşlar, verim azalır ve bazı hallerde bitki hayat devresini tamamlayamadan ölür. Kültür bitkilerinde tuz stresinin neden olduğu ürün kayıpları yoğun şekilde araştırılmaktadır. 50 mM NaCl uygulaması domates bitkisinde hasadı önemli ölçüde düşürmektedir. Bununla birlikte pamukta ürün kaybına neden olan konsantrasyon ise 90 mM NaCl'dir. 188 mM NaCl pamuktaki verimi % 50 azaltmaktadır (Giba, 1998).

Yüksek tuzluluk içeren topraklarda yetişen bitkiler, genellikle bodur, yaprakları mavimsi ve donuk renkli olur. Bununla beraber hücre bölünmesi ve uzaması yavaşlar. Bu nedenle bitkide gelişme hızı düşer, yaprak alanı artış hızı yavaşlar ve normal büyüklüklerine ulaşamazlar (Taflıoğlu ve Aliyev, 2002).

Tuz stresi sonucunda bitkilerde bodurlaşma açıkça görülür. Tuz stresine doğrudan tepki olarak tuz konsantrasyonu arttıkça büyümenin sınırlanmasıyla yaprak yüzeyi de küçülür (Wang ve Nil, 2000). Tuz stresi sonuç olarak kök, gövde ve yaprağın kuru ve taze ağırlıkları azalır.

Patlıcan (*Solanum melongena* L.) tohumlarının çimlenmesi üzerine yapılan çalışmada tohumların gelişme safhasında çimlenmeye göre tuz stresine karşı daha duyarlı oldukları belirtilmiştir (Demir ve diğ., 2003).

Tuzluluk genellikle bitkilerin çimlenme ve gelişimini olumsuz etkiler. Fakat bazı bitkilerde tuz, çimlenmeyi teşvik edebilir. Endemik halofit *Kalidiopsis wagenitzii* Aellen (*Chenopodiaceae*) bitkisinin tohum çimlenmesinin üzerine sıcaklık, ışık ve tuzluluğun etkileri araştırılmış ve tohumların 5 - 30 °C sıcaklıkta, karanlıkta ve yüksek tuz konsantrasyonunda daha iyi çimlendiği bulunmuştur (Sekmen ve diğ., 2004).

#### 1.2.3.1. Su Alınımı ve Taşınım

Genellikle düşük tuz seviyelerinde, dış tuz konsantrasyonu besleyici iyonlardan daha fazladır. Bu yüzden önemli iyon konsantrasyonları ksileme ulaşabilir. Bitkilerin erken ölümlerine neden olacak transpirasyon yapmaya başlayan yapraklarında tuz birikir (Singh ve Chatrath, 2001).

Fotosentez yavaşlar çünkü büyüme bölgelerindeki büyüme faktörlerinin etki alanları, yaprak alanı, yaprak genişleme oranı etkilenmektedir. Bu azalışa, stomaların kapanması ya da fotosentetik yapılar üzerine tuzun direkt etkisi neden olabilir. floemde fotosentez ürünlerinin taşınması da engellenebilir (Singh ve Chatrath, 2001). Yapılan bir çalışmada domates meyvelerinde tuz stresıyla benzer etki gösteren su stresinin kuru madde birikimi üzerine etkisinin ve meyvelerde kuru madde artışının sadece su içeriğindeki bir azalmanın sonucu olup olmadığı tanımlanmaya çalışılmıştır. Tuzlu suyla sulanmış domates meyvelerinde su taşınım oranında tamamen bir azalma olmasına rağmen kuru madde birikiminde önemli bir artış olduğu bildirilmiştir. Floemde su taşınması kontrolde, su stresi ve % 90'ın üzerindeki tuzluluk durumunda toplam su taşınmasının % 80 – 85'ini oluşturmaktadır. (Plauta ve diğ., 2004)

### 1.2.3.2. Bitki Anatomisi

Stomaların kapanarak transpirasyonun azaltılması; düşük su potansiyelindeki yaprak hücrelerinde turgor basıncı düştüğü için stomalar kapanır. Hücrede ABA birikimi artar. Yaprak alanını küçültmek; su eksikliğine erken bir cevaptır. Bitkideki su miktarı azaldığı için hücreler daralır ve hücre duvarları gevşer. Böylece karbon ve enerji tüketimi azaltılır. Yaşlı yaprakların erken dökülerek transpirasyon yüzeyini azaltmaları da su kaybını önlemek için bir yoldur (Taflıoğlu ve Aliyev, 2002).

Ek nodül kökleri ve kortikal aerankima kökünün gelişimi suya boğulmaya dirençli bitkilerin karakteristik bir özelliğidir. Yapılan bir araştırmada tuzlu suyla boğulma koşulunda buğdayın (*Triticum aestivum*) tuz direnci ve  $\text{Na}^+$  iyonundan noksanlığında gelişen aerankima ile nodül kökün ilişkisi çalışılmıştır. Bu araştırmada iki buğday genotipi (*SARC-6* ve *MH-97*) aşırı su, tuzlu su ve aşırı tuzlu su koşullarında test edilmiştir. Tuz ve fazla suyun birleşimi ile gövde gelişiminin, stoma hareketinin ve fotosentetik oranın daha fazla azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca aşırı tuzlu sulu koşulunda aerankimatik nodül kök oluşumu, buğdayın tuz direnci ve  $\text{Na}^+$  iyonu noksanlığını sağlamaktadır (Saqib ve diğ., 2005).

### 1.2.3.3. Fotosentez

Işıklandırılmış kloroplastlarda PSI kompleksinde ilk elektron alıcısı tarafından dioksijenin fotoredüksiyonu  $\text{O}_2 \cdot^-$  'in temel kaynağıdır. Mehler Reaksiyon' unda  $\text{O}_2 \cdot^-$  ' in foto-üretim oranı; toplam elektron transferinin % 4'ten % 20'ye çıkmasına, elektron alıcılarının varlığına ve kaynaklara (tillakoidler, kloroplastlar ya da yaprak ) bağlıdır.  $\text{O}_2 \cdot^-$  'in üretimindeki artış fotosentezi engellemek için stromaya difüze olabilen  $\text{H}_2\text{O}_2$  ' in üretiminde bir artışa neden olur. Işıklandırılmış kloroplastta singlet oksijenin oluşumu ve foto-inaktivasyon üzerindeki etkisi ilk olarak Takahama ve Nishimura (1975) tarafından gözlenmiştir. Singlet oksijenin D1 proteininin zarar görmesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Veljović-Jovanović, 1998).

Fotorespirasyon süresince, peroksizomlarda ribuloz 1,5-bifosfattan glikolat üretimi glikolat oksidaz tarafından oksidize edilir. Üretilen  $H_2O_2$  peroksizomlarda  $H_2O_2$ 'in  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye parçalanmasını katalizleyen katalaz tarafından yok edilir.  $H_2O_2$  tarafından  $CO_2$  fiksasyonunun engellendiği belirtilmiştir (Veljović-Jovanović, 1998).

#### *1.2.3.4. Proteinler ve DNA*

Proteinler üzerine oksidatif saldırı, bölgeye özel amino asit modifikasyonları, peptid zincirlerinin parçalanması, çapraz bağlanmış reaksiyon ürünlerinin bir araya toplanması, elektriksel yüklerin değişmesi ve proteolizise duyarlılığın artması ile sonuçlanmaktadır.

Sülfür içeren amino asitler ve özellikle tiyol grupları çok hassas bölgelerdir. Aktif oksijen sistein artıklarından gelebilecek bir H atomu ile bir tiyol radikali oluşturabilir. Bu radikal disülfid bağları oluşturmada ikincil bir tiyol radikaline çapraz bağlanabilir (Farr ve Kogama, 1991).

Serbest radikallerin diğer formlarının proteinlere saldırısı, geri dönüşümsüzdür. Örneğin; demir-sülfür merkezlerinin oksidasyonundaki enzimatik işlevler süperoksit tarafından yıkıma uğratılır (Gardner ve Fridovich, 1991). Bu protein oksidize olduğu zaman bir çok amino asit, geri dönüşümsüz modifikasyonlara uğrar.

Proteinlerin oksidatif bozunumu, redoks döngüsünün yeteneğindeki bir durum olarak demir gibi metal kofaktörlerin varlığında aratabilir. Böyle durumlarda metal, proteinin bağlanma bölgesi üzerinde divalent bir katyona bağlanır. Metal daha sonra bir hidroksil radikali oluşturan Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile reaksiyona girer. Buradaki hidroksil radikali proteinin katyon bağlanma bölgesinde veya yakınında bir amino asit kalıntısını hızla oksitleyebilmektedir (Stadtman, 1986). Bir amino asidin bölgeye özel değişimi genellikle katyon bağlanma bölgesinin yıkılması ile enzimi inaktive eder.

İyonize radyasyon gibi serbest oksijen radikalleri oluşturan ajanlar ve aktif oksijen DNA'da delesyonlara, mutasyonlara ve diğer letal genetik etkilere neden olmaktadır. DNA'da hasarın karakterizasyonu; baz degradasyonu, tek zincir kırılması ve proteinlere çapraz bağlanmaya neden olan oksidasyona duyarlı şeker ve baz kısımlarının her ikisinde de gösterilmiştir (Imlay ve Linn, 1986).

Tek zincir kırılmasının temel nedeni, şeker kısmının hidroksil radikali tarafından oksidasyonudur (Imlay ve Linn, 1986).

DNA'nın proteinlere çapraz bağlanması, hidroksil radikalının DNA veya ilişkili proteinler üzerine saldırmasının diğer bir sonucudur (Oleinick ve diğ., 1986).

DNA, hücrede diğer makromoleküllere göre serbest radikallere ve serbest radikallerin oluşturduğu hasarı tolere etmede daha zayıftır (Beyer ve diğ., 1991).

#### 1.2.3.5. Lipitler

Tuzlu koşullar genellikle bitkilerde lipit metabolizmasıyla ilişkilidir. Lipit peroksidasyonu (LP ) çevresel stresler ile tetiklenen zararlar ile birleştirilmiştir. Kültüre alınan *Catharanthus roseus* (L.) G. Don bitkisine değişik konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış ve sonuçta; *C. roseus* hücrelerinde antioksidant enzimlerin indüksiyonuna rağmen lipit peroksidasyonundaki artış ile tuz uygulamasının bir oksidatif stres meydana getirdiği ve böylece hücrel zarara bir cevap olarak antioksidant aktivitenin arttığı fakat bu artışın tuzun zararlı etkilerini tamamen durduramadığı, sadece zararı azaltarak hücrelerin gelişebilmesini sağladığı belirtilmiştir (Elkahoui ve diğ., 2005). Çoklu doymamış yağ asitler (PUFA) yıkıma ve peroksidasyona hazır temel membran bileşikleridirler.  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$  ve  $H_2O_2$  gibi ROT' lar, PUFA, konjuge dien ada trien türleri, lipit peroksi radikaller ve lipit hidroperoksitler ile reaksiyona girebilirler (Elkahouia ve diğ., 2005).

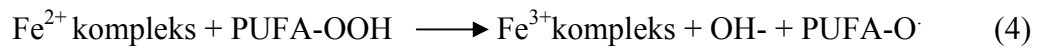
LP normal koşullarda doğal metabolik bir yoldur. Bu yol üç basamakta gerçekleşebilir: başlama, artış, ve sonlanma. LP, membran yapısı ve fonksiyonu üzerine ROT aktivitesinin araştırılmış sonuçlarından bir tanesidir. PUFA peroksidasyona karşı hassastır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve singlet oksijen, hidroperoksitler, lipit peroksi radikalleri ve konjuge olmuş dienler şeklindeki PUFA'nın metilen gruplarıyla tepkimeye girebilir (Blokina 2000):



Oluşan peroksil radikali yüksek derecede reaktiftir ve reaksiyon zinciri artabilir:

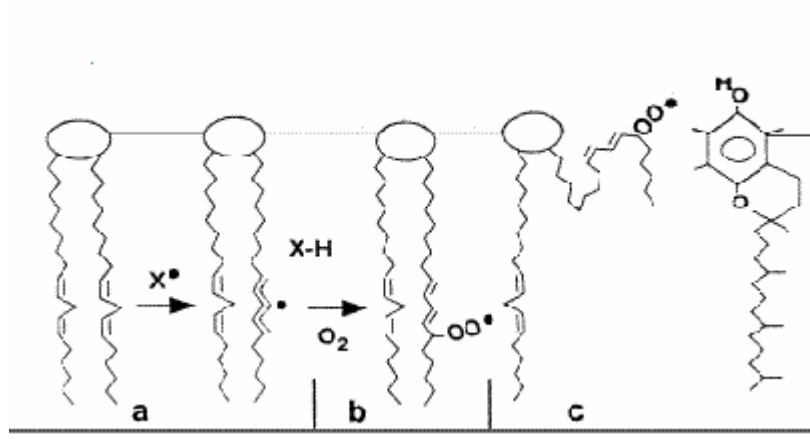


Serbest radikaller metilen gruplarının hidrojenlerine çift bağları ayırmak için saldırırken konjuge olmuş dien formları oluşur ve bağların yeniden düzenlenmesine neden olur (Blokina 2000). Üretilen lipit hidroksiperoksitler (PUFA-OOH) Fe<sup>2+</sup> gibi indirgenmiş metaller tarafından redüktif ayrımaya maruz kalabilirler:



Üretilen lipit alkoksil radikali (PUFA-O<sup>·</sup>), ekstra zincir reaksiyonlar başlatabilir (Blokina 2000 ).





Şekil 1.12. Membran Lipit Peroksidasyonu. (a) oksidize bir radikal ( $X\bullet$ ) tarafından peroksidasyon yolunun başlaması, bir hidrojen atomunu ayrılması ve böylece pentadienil radikal oluşumu. (b) peroksil radikaline ve bir konjuge olmuş diene oksijen katılması. (c) tokoferol tarafından dengede olan su – membran ara yüzeyine peroksil radikal parçalanması (Blokhina, 2000).

#### 1.2.3.6. İyon Seviyesi

Sodyumlu topraklarda sodyum değişebilirliğindeki artışa, Ca ve Mg değişebilirliğindeki azalma ise Ca ve / veya Mg eksikliğine neden olmaktadır. Toprak solüsyonundaki Ca ve Mg konsantrasyonu kritik seviyenin altına düştüğünde besin dengesini etkileyen K alınımı da azalır. Toprak alkaliliği çinko çözünürlüğünü, bitkide hazır bulunuşununun azalmasını ve demir varlığını da etkiler (Singh ve Chatrath, 2001).

Türkiye’de yaygın olarak üretimi yapılan altı buğday (*Gerek*, *Bolal*, *Kıraç*, *Çakmak*, *Bezostaya* ve *Kızıltan*) ve altı çeltik çeşidinin (*Ribe*, *Tri-445*, *Serhat 92*, *KROT 424*, *Baldo* ve *Rocca*) tuz stresinde Ca, P, Fe, Cu, Zn ve Mn içeriklerinde değişimler araştırılmıştır. Tuzluluk bitkilerin gelişmelerini sınırlandırılmıştır. Tuzluluk, *Kızıltan* çeşidinin P içeriğinde düşmeye, çeltik çeşitlerinden *Tri-445* ve *KROT 424*’ün P içeriğinde ise artışa sebep olmuştur. Buğday çeşitlerinden *Gerek*, *Bolal* ve *Kıraç*’ın, çeltik çeşitlerinden de *Tri 445* ve *Rocca*’nın Fe içeriği tuzlulukla azalmış, buna karşılık *Çakmak* ve *Bezostaya* ile *Ribe*, *Serhat 92*, *KROT 424* ve *Baldo* çeşitlerinin Fe içerikleri artmıştır (Alpaslan ve diğ., 1995).

#### 1.2.4. Bitkilerde Tuzluluğa Karşı Oluşan Yanıtlar

##### 1.2.4.1. Moleküler Yanıtlar

Bitkilerin tuza toleransları karmaşık bir özelliktir. Fakat tuz stresine cevap oluşturmada meydana gelen çeşitli biyokimyasal olayları tanımlamada moleküler ve genetik yaklaşımlar kullanılmaya başlanmıştır. Genlere bağlı birçok fonksiyonu tanımlamak ve arttırmak tuz toleransı da optimal ilerleme için gerekli olabilmektedir (Winicov, 1998).

Bitkilerde tuz toleransı konusunda yapılan çoğu transgenik uygulamalar bu detoksifikasyon stratejisi ile başarılmaktadır. Tuz toleransında oksidatif korumanın önemiyle ilgili bir başka önemli destek *Arabidopsis* mutanı pstI'in karakterizasyonundan gelmektedir. Pst I mutant bitkileri, yüksek tuz yoğunluklarına daha dirençlidir ve bu oksidatif strese tolerans için artan kapasiteyle ilişkilidir (Zhu, 2001).

##### 1.2.4.2. Biyokimyasal Yanıtlar

1.2.4.2.1. *İyon Dengesinin Düzenlenmesi.* Stres koşulları altında iyon alınımı, bölmelendirilmesi yapılsa da normal gelişim için yeterli olmaz. Çünkü stres, iç iyon dengesini bozmaktadır. Halofit ya da glikofit olsun bitkiler sitoplazmalarındaki tuzların büyük bir kısmını tolere edemezler ve bundan dolayı stres koşullarında metabolik fonksiyonlarını kolaylaştırmak için iyonları farklı dokularda bölmelendirir ve tuzları vakuolde depolarlar. Glikofitler ise sodyum iyonu alımlarını sınırlandırır ya da yaşlı dokularda depo ederler.

Sitoplazmada sodyum taşınması ya da vakuolde bölmelendirilmesi bir tuz teşvik edici enzim olan  $\text{Na}^+ / \text{H}$  antitransport ile yapılır. İlk elektronik  $\text{H}^+$  pompası olan vakuolar pirofosfataz (V-Ppaz) ve vakuolar tip  $\text{H}^+$ -ATPaz (V - ATPaz), bitkilerin salgı yollarının membranlarında birlikte bulunur. V-ATPaz proteinlerle beraber birçok bitki hücrelerinin endomembranında dominant  $\text{H}^+$  pompasıdır ve



genellikle aktiftir. V-ATPaz normal koşullarda ikincil enerji taşınmasında homeostazinin sağlanması gibi bitki gelişimi için vazgeçilmez olaylarda rol alır. Tuzluluk, kuraklık, soğuk, asidite, anoksia ve toprakta fazlaca ağır metal birikimi gibi stres koşulları altında hücrelerin canlılıkları V-ATPaz'ın aktivitesinin korunması ve düzenlenmesine bağlıdır. V-ATPaz'ın adaptasyonunun kısa veya uzun süreli oluşu gen ifadesinin düzeni ve aktivitesine bağlıdır.

Bitkiler tuz stresi altındayken sitoplazmalarında yüksek konsantrasyonda  $K^+$  ve düşük konsantrasyonda  $Na^+$  seviyesini korurlar. Bu, taşıma için çevirici g oluşturan  $H^+$  pompalarının,  $Na^+$  ve  $K^+$  taşıyıcılarının aktivitesi ve ifadesinin düzenlenmesiyle sağlanır (Zhu ve diğ.,1993).

Deneyssel açıklamalar tuz adaptasyonunda  $Ca^{2+}$ 'nın da rolü olduğunu göstermektedir. Dışarıdan sağlanan  $Ca^{2+}$  yüksek  $K^+ / Na^+$  seçiciliğini kolaylaştırarak NaCl' nin toksik etkilerini en aza indirir (Parida, 2005). Yüksek tuzluluğun sonucu olarak hücreler arası alanlardan ve apoplasttan taşınan  $Ca^{2+}$  sitoplazmada artar (Knight ve diğ., 1997).

Tuz düzenleyici diğer mekanizmalar; (a) tuz salgılama (b) tuz birikimi ya da (c) dışarıda bırakmadır. Tuz salgısı, tuz cebi olarak adlandırılan tek hücreli yapıların gelişmesiyle oluşur. Bu tuz cepleri yapraklardan (zellikle NaCl) tuz salgılar ve i iyon konsantrasyon seviyesini alt seviyeye indirir (Parida, 2005). Birçok halofit, yapraklarının tuz içeriğinden dolayı tuzu dışarıda bırakabilir (Levitt, 1980; Parida, 2005). Bitkiler kütle hareketleriyle meydana gelen ozmotik düzeni iyonların ya da çözücülerin birikiminin seçimini kolaylaştırmak için yapar ve sonuçta suyun tutulması ve/veya sodyumun dışarıda bırakılması artar.

*1.2.4.2.2. Uygun zclerin Biyosentezi.* Vakuolde, sitoplazmada biriken, iyonik dengeyi sağlayan, düşük moleküler kütleli bileşikler “uygun çözücüler” olarak

adlandırılırlar. Çünkü normal biyokimyasal reaksiyonlarda suyun yerine geçerler. Uygun çözücüler temel olarak; prolin, glisin betain (GB), şekerler ve poliollerdir.

Polioller; genellikle asimile edilen CO<sub>2</sub> ile yapılırlar. Düşük molekül ağırlığı ile uygun çözücü olarak kullanılırlar ve indirgenmiş oksijen radikali stresinin yok edilmesi gibi önemli göreve de sahiptirler. Polioller, çevresel stres koşulları altında karbon fazlalığı olabilen indirgenmemiş şekerlerdir (Parida, 2005).

Polioller devirli (örn; pinitol) ve devirsiz (örn; mannitol) olarak sınıflandırılırlar. Bir şeker alkolü olan mannitol, kereviz sapında mannoz-6-fosfat redüktaz (M6PR)'ın etkisiyle tuz stresine başa çıkmak için uygun bir çözücü olarak sentezlenir (Zhifang ve Loescher, 2003).

Demiral ve Türkan (2004), tuza toleranslı (*Pokkali*) ve tuza duyarlı (*IR – 28*) iki pirinç (*Oryza sativa* L.) varyetesine dışarıdan GB uygulamışlar ve her iki varyetede antioksidant enzimleri ve lipit peroksidasyonu takip etmişlerdir. Araştırmacılar; GB uygulamasıyla, *Pokkali* yapraklarında SOD, AP, CAT ve Glutasyon redüktaz (GR) aktivitelerinin arttığını ancak POD aktivitelerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Buna karşılık, aynı araştırmada tuz stresine maruz kalan tuza duyarlı varyete *IR – 28*'de ise GB uygulaması sonucu SOD, AP ve POD aktivitelerinin arttığı ancak CAT ve GR aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Demiral ve Türkan, yalnızca tuz uygulanmış grupları karşılaştırdıklarındaysa, GB uygulamasının tuzluluk altındaki *IR – 28*'de CAT ve AP aktiviteleri artarken, *Pokkali*'de SOD, CAT, AP ve GR aktivitelerini azalttığını rapor etmişlerdir.

Türkan ve arkadaşları (2005), kuraklığa toleranslı (*Phaseolus acutifolius* Gray) ve kuraklığa duyarlı (*P. vulgaris* L.) fasulye çeşitlerinde polietilen glikol (PEG) uygulamasıyla yaratılan kuraklık stresinin lipit peroksidasyon ve antioksidantlar üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar *P. acutifolius* bitkisinin duyarlı varyeteye kıyasla daha yüksek SOD, CAT, AP ve POD aktivitelerine ve daha yüksek

prolin seviyelerine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun olasılıkla kuraklığa toleranslı *P. acutifolius* bitkisinin, duyarlı varyeteye kıyasla oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı daha iyi bir korunma mekanizması sağladığını vurgulamışlardır.

Polioller, mekanizma olarak birbirinden ayrımları güç olan (a) ozmotik regülasyon ve (b) ozmotik koruma olmak iki yolla etkili olurlar. Ozmotik düzenlemede; polioller ozmolitler gibi etki göstererek sitoplazmada suyun tutulmasını kolaylaştırır ve sodyumun vakuol ya da apoplasta ayrımını sağlarlar. Bu ozmolitler membran ile protein komplekslerinin ya da enzimlerin etkileşimini sağlayarak hücresel yapıları korurlar. Ayrıca bu bileşikler, makromolekülleri iyonik dayanıklılığın artmasının olumsuz etkilerinden koruyan hidrojen bağlarına sahiptirler. Stres süresince su geçirmeyen protein ve membran bileşikleri su kaybını dengelerler (Parida, 2005).

Şekerler (glikoz, fruktoz, sukroz, fruktanlar) ve nişasta gibi karbonhidratlar tuz stresi altında bitkilerce biriktirilirler (Parida ve diğ., 2002). Bunların temel fonksiyonları; (a) ozmotik koruma, (b) ozmotik regülasyon, (c) karbon depolama ve (d) radikal temizlemedir.

Tuz stresine maruz kalmış bitkide birçok azotlu bileşik birikir. Sıklıkla biriktirilen azotlu bileşikler; aminoasitler, amidler, imino asitler, proteinler, quaterner amonyum bileşikleri ve poliaminlerdir. Tuzlu koşullarda biriktirilen spesifik azotlu bileşikler bitki türüne göre değişebilir. Bu bileşikler, stres koşulları altında ozmotik regülasyonun sağlanmasında, hücresel makromoleküllerin korunmasında, azotun depolanmasında, hücresel pH'ın korunmasında, hücre detoksifikasyonunda ve serbest radikallerin temizlenmesinde önemli rol oynarlar.

Dışarıdan uygulanan çeşitli poliaminlerin değişik tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen arpa (*Hordeum distichum* L. cv. Tokak 157/35 ) tohumlarının total

çimlenme oranı ve çimlenme hızı üzerine etkileri incelenmiştir. Tuz + poliaminin tek başına bütün konsantrasyonlarda, çimlenmeyi olumsuz etkilediği fakat poliaminlerin, 100 mM NaCl ile birlikte kullanıldığında tuzun olumsuz etkisinin ortadan kalktığı bildirilmiştir (Tıprıdamaz ve diğ., 1994).

Tuz stresinde dıştan uygulanan poliaminlerin arpa (*Hordeum distichum* L. cv. Tokak 157/33) tohumlarında çimlenme ve  $\alpha$ -amilaz aktivitesine etkisi gibberellik asit ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Tuzun çimlenme üzerindeki olumsuz etkisinin poliaminlerin kullanımıyla kısmen kaldırılabilirdiği fakat tuzlu ortamda poliaminlerin çimlenmeyi gibberellik asit kadar etkilemediği belirtilmiştir (Tıprıdamaz ve diğ., 1995).

Ozmotik regülatörlerin, genel bir özelliği de hücre içi biyokimyasını bozmadan yüksek seviyede birikebilmeleridir. Bu regülatörler, tuz solüsyonlarında enzimlerin aktivitesini koruyucu kapasiteye sahiptirler. Ozmotik regülatörlerin sentezi biyokimyasal reaksiyonlar sırasında temel ara ürün metabolitlerinin saptırılmasıyla meydana getirilir. Genellikle bu metabolik sapma stresi başlatır. Örneğin; yüksek bitkiler glisin betaini kolin'den betain aldehit dehidrogenaz ve kolin monooksijenaz'ın katalizlediği iki reaksiyondan sentezlerler (Parida, 2005).

1.2.4.2.3. *Hormonların İndüksiyonu.* Yüksek tuz konsantrasyonu ABA ve sitokininler gibi bitki hormonlarının seviyelerinde artışa neden olur. ABA, tuz stresine neden olan genlerin değişikliğinden sorumludur. *Citrus sinensis* bitkisinde etilen üretiminde, aminosiklopropan-1-karboksilik asit ve ABA seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir. ABA'nın büyüme, asimile translokasyon ve fotosentez üzerine NaCl'nin olumsuz etkilerini azalttığı bulunmuştur (Parida, 2005). Ayrıca ABA tuz stresinde *Mesembryanthemum crystallinum* bitkisinde C<sub>3</sub>'ten CAM'a geçiş anahtarıdır (Thomas ve diğ., 1992).

Jasmonatlar tuz toleransında önemli rollere sahiptirler. Deneysel kanıtlar, tuza toleranslı domates kültürlerinde tuza duyarlı kültürlerden daha fazla seviyede jasmonat olduğunu göstermektedir. Jasmonatların genellikle savunma yanıtlarının oluşumuna, çiçeklenmeye ve senesensin gerçekleşmesindeki sinyallere aracılık ettiği düşünülmektedir (Hilda ve diğ., 2003).

Taflıoğlu ve Aliyev (2002), arpa (*Hordeum vulgare L.*) bitkisinin kuraklığa ve tuzluluğa karşı dayanıklı ve duyarlı çeşitlerinde meydana gelen değişimleri ve GA<sub>3</sub> + KİN hormonları kombinasyonunun etkisini araştırmışlardır. Stres faktörlerinden sonra GA<sub>3</sub> + KİN hormonları kombinasyonunun verilmesi ile hem dayanıklı hem de hassas çeşitlerde onarım proseslerinin hızlandığı tespit edilmiştir.

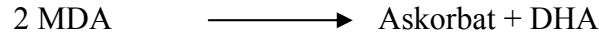
Ehmedov ve Sadıqov (2001), *Gerek79* ve *Bezostaja-1* buğday çeşitlerinde kuraklık ve tuz stresinin meydana getirdiği prolin birikimi ve bu adaptif yanıtın oluşumunda Ca<sup>+2</sup>, EGTA ve IAA'nın rolünü incelemiştir. Araştırmacılar, EGTA ve IAA'nın prolin birikimini indüklemek için farklı sinyal iletim yollarını kullandıklarını ve Ca<sup>+2</sup>'nin oksin hormonunun yanıt oluşum mekanizmasında bulunduğunu bildirmişlerdir.

*1.2.4.2.4. Fotosentetik Yollarda Değişiklikler.* Tuz stresi su potansiyelinin azalmasıyla fotosentezi engeller. Bu yüzden tuza toleransta temel amaç; tuzluluk süresince verimli su kullanımını arttırmaktır. Bunun sonucunda *Mesembryanthemum crystallinum* gibi fakültatif halofitik bitkiler C<sub>3</sub> fotosentezini CAM olarak değiştirirler (Parida, 2005). Bu değişikliğe izin veren bitkiler stomalarını gece açarak su kaybını azaltırlar. Ayrıca *Atriplex lentiformis* gibi tuza toleranslı bitkilerde tuzluluğa cevap olarak C<sub>3</sub> yolunu C<sub>4</sub> olarak değiştirdikleri bildirilmiştir (Zhu ve Meinzer, 1999).

*1.2.4.2.5. Antioksidatif Enzimlerin İndüksiyonu.* Askorbat Peroksidaz; Bir çok ökaryotta bulunan askorbat, hidrofilik bir antioksidanttır. Svırbely ve Szent-Györgyi

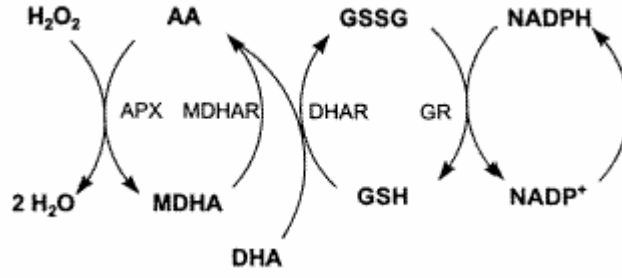
tarafından (1993) askorbat ilk kez diğer organizmalara göre dokularında daha fazla askorbat içerdiği bilinen Macar biberinden yapısal analiz için izole edilmiştir. Bundan sonra sebzelerde askorbatın gıda çalışmaları yapılmıştır, fakat bitki dokularında askorbatın fizyolojik rolü uzun bir süre için anlaşılmasız olarak kalmıştır.

Bitki peroksidazları birçok noktada toplanmış reaksiyon merkezlerindeki klasik enzimlerdir. Bitki peroksidazlarının guaiakol peroksidaz (GuPX) gibi tipleri AP' den ayırt edilir. GuPX; lignin biyosentezi, indol-3-asetatın yıkımı, etilen biyosentezi, yara iyileştirme, glikoproteince zengin hidroksiprolinin çapraz bağlanması ve patajonlere karşı savunma gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları vardır. GuPX fizyolojik fonksiyonlara sahip oksidasyon ürünleri olan metabolik peroksidazlar gibi sınıflandırılırlar. GuPX'e zıt olarak AP bir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> temizleyici bir enzimdir ve temel görevi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretim alanında yerini değiştirmektir. AP'in katalizlediği reaksiyonunun ilk oksidasyon ürünleri, monodehidroaskorbat (MDA) ve MDA'nın aşırı ürünleri, dehidroaskorbat (DHA) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yok edici sistemin etkili çalışması için gerekli olan oksidize olmuş askorbatlardan askorbatın tekrar üretilmesidir.



Glutasyon; Tüm organizmalarda bulunan ve (*γ-L-glutamil-L-sisteinilglisin*) temelde serbest tiyol içeren bir bileşiktir (Mullineaux ve Creissen, 1997).

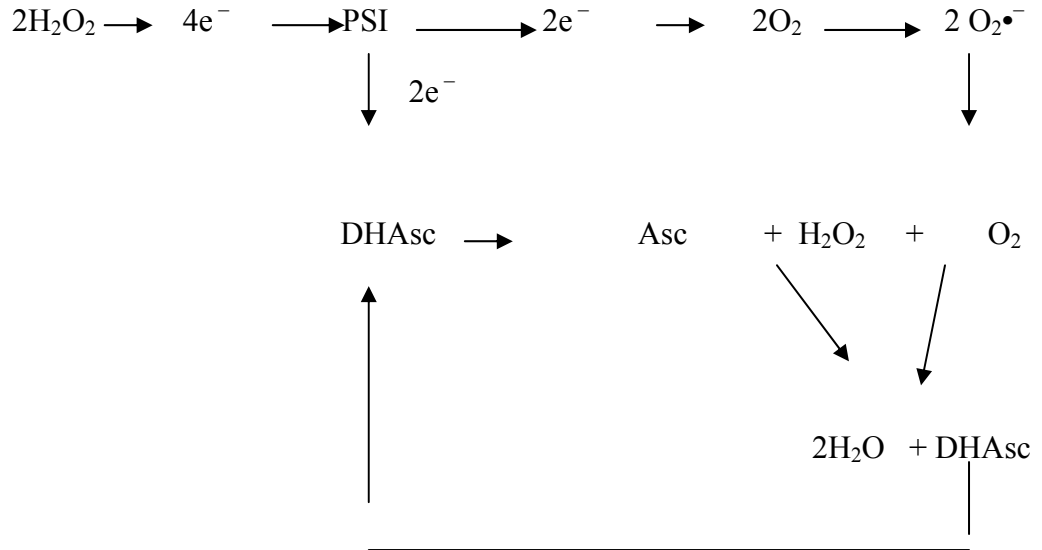
Askorbat – Glutasyon; Stres koşullarında bitkilerin canlılıklarını sürdürebilmeleri için antioksidantların aralarında işbirliği yapmaları oldukça önemlidir. Böylece savunma ve indirgenmiş formların aktivitelerinin geri kazanılması sağlanır. Askorbat ve glutasyon Halliwell-Asada yolu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' yi uzaklaştırır (Şekil 1.13 ).



Şekil 1.13. Halliwell-Asada yolu ya da askorbat-glutasyon döngüsü.

AP, askorbat peroksidaz; MDHAR, monodehidroaskorbat reduktaz; DHAR, dehidroaskorbat reduktaz; GR, glutasyon reduktaz (Blokhina 2000).

Askorbat ve glutasyon ayrıca su – su döngüsünde de beraber çalışırlar. Zarar görmemiş kloroplastlarda su-su döngüsü; ROT' ları yok edebilir ve elektron akışını bozmabilir. Böylece kloroplastlar zararlardan korunmuş olur.



Şekil 1.14. Su – Su Döngüsü.

Askorbat sadece glutasyon ile işbirliği yapmaz. Membranların korunmasını sağlayan tokoferollerin oluşumunu da sürdürür (Blokhina 2000).  $\text{H}_2\text{O}_2$  peroksidaz sisteminde askorbat ile bitki fenoliklerinin eşleşme redoksu,  $\text{H}_2\text{O}_2$  difüzyonunun

olduğu vakuolde gerçekleşir ve ilk elektron vericisi gibi fenolikleri kullanan peroksidazlar tarafından azaltılabilir. Bu oksidasyon ile üretilen fenoksil radikalleri, AA ve MDHA radikalinin her ikisiyle de indirgenebilir. Eğer sitosolde AA tekrar oluşturulur ve vakuole geri döndürülürse, vakuollerde peroksidaz/ fenolikler/ AA sistemi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi yok etme görevi yapabilir (Blokina 2000). Bu mekanizma bitki dokuları için spesifiktir ve oksidatif stres altında tolerans sağlayabilir.

Katalaz; bu enzim ilk kez 1818 de Thenard tarafından gözlenmiş ve Loew tarafından (1901) bu enzime katalaz adı verilmiştir. Katalaz, hayvan ve bitki dokularında hidrojen peroksitin yıkımına neden olmaktadır. Warburg (1923), katalazın siyanür ile inhibe edilebildiği için demir içeren bir bileşik olduğunu belirtmiştir (Scandalios ve diğ., 1997).

Katalazlar, hidrojen fazlalığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' i su ve oksijene parçalarlar. Enzimlerin hücrelerde oksidatif zararı önlemek için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin konsantrasyonunu düşürmeleri gerekir (Asada, 1997).

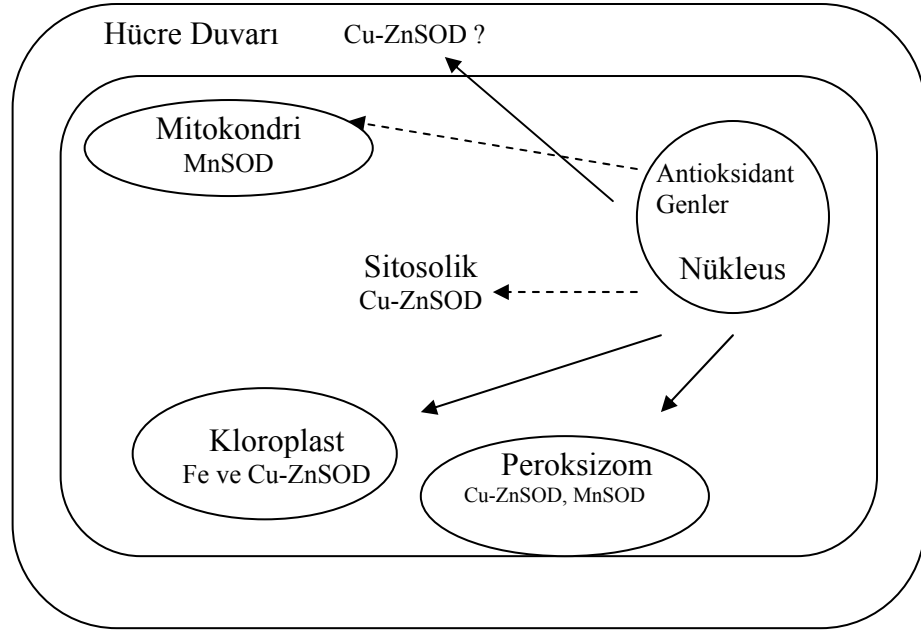
Süperoksit Dismtazlar; Hücre içinde SOD' lar, ROT'a karşı savunmanın ilk hattını oluşturmaktadırlar. O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> , bir elektron taşıma zincirinin bulunduğu herhangi bir yerde üretilmektedir. Bu nedenle, O<sub>2</sub> aktivasyonunun gerçekleştiği yerler olan mitokondriler, kloroplastlar, mikrozoamlar, glioksizomlar, peroksizomlar, apoplast ve sitosol aynı zamanda hücrede O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> oluşumunu gerçekleştiği yerlerdir.

Fosfolipit membranlar yüklü O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> moleküllerine geçirimsiz oldukları için O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> radikallerinin oluştukları bölümlerde O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> 'nin ortadan kaldırılması için SOD'ların bulunması bir dönüm noktasıdır (Alscher ve diğ., 2002). Enzimlerin metal ko-faktörler temelinde kullanımları, SOD'ların üç grupta sınıflandırılmasına neden olmaktadır; demir SOD (FeSOD), mangan SOD (MnSOD) ve bakır-inko SOD (Cu-ZnSOD). FeSOD'lar kloroplastlarda, MnSOD'lar mitokondrilerde ve



peroksisomlarda, Cu-ZnSOD'lar kloroplast, sitosol ve olasılıkla ekstraselüler yüzeylerde yer almaktadır.

SOD'ların bu üç farklı tipinden elde edilen amino asit dizilerinin karşılaştırılması ile Mn ve FeSOD'ların eski tipler oldukları ve Cu-ZnSOD'lar Mn ve FeSOD'lara benzer dizilere sahip olmadığına dayanarak bunların olasılıkla ökaryotlardan ayrı türedikleri ve bu enzimlerin (Mn ve FeSOD) geçmiş zamanlara ait benzer enzimlerden köken aldıkları belirtilmiştir. Farklı metal ihtiyaçları ile SOD'ların ayrılmasındaki evrimsel neden, olasılıkla farklı jeolojik devirlerde atmosferin O<sub>2</sub> içeriğine bağlı olarak biyosferde farklı çözünebilir geçişli metal bileşiklerinin hazır bulunması ile ilişkilidir (Alscher ve diğ., 2002).



Şekil 1.15. Bitki hücresinde SOD lokalizasyonu . (Alscher,2002)

FeSOD; FeSOD'lar grubun olasılıkla en eski SOD grubunu oluşturmaktadır. Demir zamanla çözünebilir olduğu için fazla bulunduğu zamanlarda SOD'un aktif bölgesinde bir metal kofaktör olarak kullanılan ilk metal olmuştur (Alscher ve diğ., 2002). FeSOD prokaryot ve ökaryotların her ikisinde de bulunmuştur. FeSOD H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

ile inaktive olurken KCN ile inhibisyona dirençlidir. Bugüne kadar çalışılan tüm bitki türlerinde, FeSOD'un kloroplastta bulunduğu gösterilmiştir. Hayvanlarda FeSOD'un bulunmayışına neden olarak, FeSOD geninin plastitten tüvelendiği ve evrim süresince nükleik genomun göç etmesi (FeSOD geninin göçü) önerilmiştir. Bu teori fotosentetik olmayan bakterilerin bulunmadığı ancak, bitkisel ve siyanobakteriyel FeSOD dizilerinin mevcut olduğu çok sayıda korunmuş bölgelerin bulunışundan ileri gelen bir desteğe sahiptir (Bowler ve diğ., 1994).

İlk başta FeSOD tüm bitkilerde belirlenememişti. Ginkgoaceae, Nymphaeaceae ve Cruciferae'de FeSOD aktivitesinin varlığına bitki dünyasında enzimin tesadüfi bulunuşu ile karar verilmiştir (Bowler ve diğ., 1994 ).

FeSOD'un iki farklı grubu mevcuttur. Birinci grup aktif merkezinde 1-2 g. atomuyla, iki identik 20 kDa'luk protein alt biriminden oluşmuş bir homodimerdir. İkinci FeSOD grubu birçok yüksek bitkide bulunan 80-90 kDa'luk moleküler ağırlığa sahip dört eşit alt birimli bir tetramerdir. Bu grup üyeleri aktif merkezlerinde 2-4 g. demir atomu içermektedir.

MnSOD; Ortamda O<sub>2</sub> seviyesi arttığında kullanılabilir Fe<sup>+2</sup> miktarı azalmıştır. Böylece Fe<sup>+2</sup>, in yerini daha kullanışlı bir metal olan Mn<sup>3+</sup> almıştır. MnSOD'lar sadece ikinci tip FeSOD'lara benzemektedir ve FeSOD'lardan evrimleşmişlerdir. MnSOD'lar mitokondri ve peroksizomlarda bulunmaktadır. Her alt birimlerinde bir metal iyonu taşırlar. Bu enzimler aktif bölgelerinde bulunan Mn atomu olmadan işlevsizdirler.

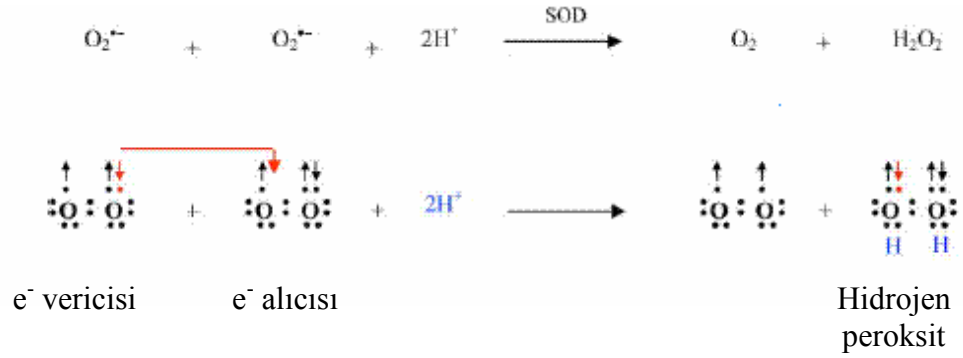
MnSOD ile katalizlenme, enzimin aktif bölgesinde bulunan pozitif yüklü aminoasitlerden oluşan bir bölgeye negatif yüklü O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> moleküllerinin baştanbaşa hareketidir. Aktif bölgede bulunan metal daha sonra O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> 'ye doğrudan bir elektron verir ve bir protonla tepkime vererek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formuna döner. Böylece O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> indirgenmiş olur (Bowler ve diğ., 1994).

MnSOD, her alt biriminde bir  $Mn^{+3}$  atomuna sahip olup ya homodimerik veya heterotetrameriktir. KCN ile inhibe olmazken  $H_2O_2$  ile de inaktive olmaz. Prokaryot ve ökaryotların her ikisinde de bulunmaktadır. Bitki MnSOD'ları kendi aralarında % 65 benzerliğe sahipken bakteriyel MnSOD'lara da fazlaca benzemektedirler (Bowler ve diğ., 1994). MnSOD'un çok yönlü transkriptleri insan dokularında da tespit edilmiştir (Alscher ve diğ., 2002). Yeşil alglerde ve siyanobakterilerde MnSOD tillakoid membranda bulunmaktadır (Alscher ve diğ., 2002).

Cu-ZnSOD; Atmosfer tamamen oksijen ile dolduğunda  $Fe^{+2}$  tamamen kullanışsız hale gelmiştir. Bu noktada çözünemez formdaki  $Cu^+$ , çözünebilir  $Cu^{+2}$ 'ye dönüşmüştür. Bu safhada evrimsel olarak  $Cu^{+2}$  SOD'ların aktif bölgelerinde metal kofaktör olarak kullanılmaya başlamıştır. FeSOD'lar ve Mn benzer elektriksel özelliklere sahip olduğundan dolayı demirin kullanımından manganın kullanımına geçişte SOD protein yapısında küçük bir değişim meydana gelmiştir. Bu nedenle Fe ve MnSOD'lar birbirine çok benzerken Cu-ZnSOD'lar elektriksel özellik bakımından farklıdır. Bu yüzden metal kofaktör olarak Cu'nun kullanılmasından sonra protein yapısında büyük bir değişim görülmektedir (Alscher ve diğ., 2002).

Cu-ZnSOD'ların iki farklı grubu bulunmaktadır. İlk grup; homodimerik olan sitoplazmik ve periplazmik formları içerir. İkinci grup; homotetramerik olan kloroplastik ve ekstraselüler formları içerir (Bordo ve diğ., 1994).

Enzimatik Savunma Sistemleri Ağı; Enzimatik antioksidatif savunma sisteminde SOD, AP, CAT ve GR önemli bir yere sahiptir. Bunlardan SOD' lar bir hücrede ROT 'a karşı savunmanın ilk hattını oluşturmaktadırlar.  $O_2^{\bullet-}$ , bir elektron taşıma zincirinin bulunduğu herhangi bir yerde üretilmektedir. Fakat fosfolipit membranlar yüklü  $O_2^{\bullet-}$  moleküllerine geçirimsizdirler (Şekil 1.16) (Alscher ve diğ., 2002).

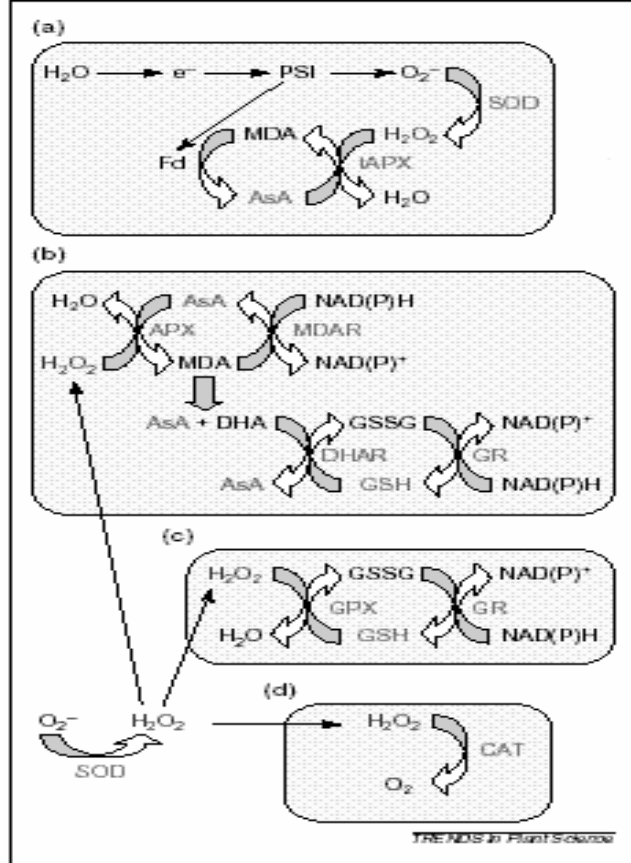


Şekil 1.16. Süperoksit serbest radikalinin dismutasyonu . (Edreva, 2005).

Hidroksil radikali de çok kararsız bir molekül olduğu için oksidasyon ile enzimlere ve lipitlere hasar vermektedir. Bitki hücresi OH radikaline karşı koruyucu enzimlere sahip değildir. Bu nedenle metal iyonlarının indirgenmesi,  $\text{O}_2^{\bullet -}$  'in SOD tarafından hızlıca elimine edilmesi sayesinde önlenir (Türkan, 2002).

Peroksidazlar, hidrojen akseptörü olarak oksijeni kullanıp, substrattan hidrojen ayrılması reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Ürün genellikle ya  $\text{H}_2\text{O}$  ya da  $\text{H}_2\text{O}_2$  'dir (Türkan, 2002).

SOD ilk savunma hattını oluşturarak  $\text{O}_2^{\bullet -}$  'yi  $\text{H}_2\text{O}_2$  'ye dönüştürürken; AP, GPX ve CAT ise  $\text{H}_2\text{O}_2$  'yi detoksifiye ederler. CAT'a zıt olarak AP ve GPX, yeniden askorbat ve/veya GSH oluşturmak için döngüye girmek zorundadırlar (a-c). Bu döngü için elektronlar direkt olarak fotosentetik yapılardan (a) ya da NAD(P)H (b,c)'tan kullanılır.



Şekil 1.17. (a) Su - Su Döngüsü. (b) Askorbat - Glutasyon Döngüsü (c) Glutasyon peroksidaz (GPX) Döngüsü. (d) Katalaz (CAT).

Kısaltmalar: DHA, dehidroaskorbat; DHAR, DHA redüktaz; Fd, ferredoksin; GR, glutasyon redüktaz; GSSG, oksidize glutasyon; MDA, monodehidroaskorbat; MDAR, MDA redüktaz; PSI, fotosistem I; tAP, tillakoide bağlı AP.

Literatürde, dünyanın bir çok yerinde kültüre alındığı belirtilen çavdar ile ilgili olarak tuz stresinin etkileri ürün verimi yönünden ele alınmıştır. Oysa, ülkemizin de 6. önemli tahıl bitkisi olan çavdarda; tuz stresiyile antioksidant savunma enzim sistemi arasındaki ilişkiye dair sadece POD ve CAT aktiviteleriyle ilgili bilgi bulunmaktadır, SOD ise araştırılmamıştır. Ayrıca tuza toleransı bilinmeyen ve Kazdağında yayılış gösteren endemik olan *Secale anatolicum* L.'un tuz stresine antioksidatif yanıtı da bu kapsamda araştırılarak, bir gen kaynağı olarak ele alınmaya çalışılmıştır. Bu araştırma ile sunulan bilgilerin ileride bu yönde çalışacak araştırmacılara kaynaklık edeceği inancındayız.

## BÖLÜM II - MATERYAL VE METOT

Araştırma materyali olarak çavdar genotipleri için (*Secale spp.*) doğal olarak yetişen alanlardan toplanan, *S. anatolicum* ve *S. cereale* var. *ancestrale* ile ülkemizde ekimi yapılan *Triticale* çeşidi çavdar kullanılmıştır. Örneklerden *S. anatolicum*; Kazdağı Kapıdağ 1200 m.' den, *S. cereale* var. *ancestrale*; Kazdağı Sarıkız 1700 m.' den toplanmıştır. *Triticale* ise Trakya Bölgesi'ndeki tarım arazilerinden sağlanmıştır.

### 2.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Tohumlar % 5'lik sodyum hipoklorit ile 20 dak. yüzey sterilizasyonunun ardından, bunlara 5 gün boyunca +4 °C' de vernalizasyon uygulanmıştır. Daha sonra tohumlar, perlit içeren 180 x 160 mm.' lik plastik saksılara ekilmişlerdir (16 / 8 saat ışık / karanlık, 24 ± 4 °C sıcaklık, % 70 ± 10 nem ).

Bitkiler, Hoagland besin çözeltisi (% 100) (Steward, 1963) kullanılarak üç günde bir defa sulanmışlardır. Ekim işleminden 20 gün sonra ilk örnekleme yapılmış ve kontrol grubu ayrılarak tuz uygulaması (50mM NaCl, 100 mM NaCl, 150m M NaCl) başlatılmıştır. Örnekleme her 3 günde bir 12 gün boyunca yapılmıştır.

### 2.2. BSİ (Bağıl Su İçeriği) Testi

Test için yaprakların üçte birlik bölümü kesilerek yaş ağırlıkları (YA) tartılır. Daha sonra alınan bitki örnekleri filtre kağıtları arasına yerleştirilerek 4 saat boyunca şişmeye bırakılır. Süre sonunda turgor ağırlıkları (TA) ölçülür. Örnekler bundan sonra 70 °C' deki etüvde 24 saat kurumaya bırakılır ve böylece kuru ağırlıkları (KA) belirlenir. Ölçüm sonuçları aşağıdaki formüle uygulanarak yaprak bağıl su içeriği hesaplanır (Smart ve Bingham, 1974).

$$\% \text{BNİ} = [(YA - KA) / (TA - KA) \times 100]$$

### *2.3. Enzim Ekstraktının Hazırlanması*

Taze bitki materyali (1g) 1mM EDTA içeren 0,05 mM NaP tamponunun (pH:7,8) 5ml'siyle homojenize edilir. Homojenatlar, 4 °C' de, 13.000 rpm'de 15dk. santrifüjlenir. Buradan elde edilen süpernatant hem SOD enzim aktivitesi hem de protein içeriklerinin belirlenmesinde kullanılır.

### *2.4. Protein Analizi*

Araştırmada protein analizleri Bradford (1976)'a göre gerçekleştirilecektir. Protein analizi için Reagent hazırlanması; 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250, 50 ml saf etil alkolde (%99,5) çözündürülür ve %85'lik Orto fosforik asit'ten 100ml ilave edilir. Karışım bidistile su ile 600ml'ye tamamlanır ve ardından süzülür. Süzme işleminden sonra 100ml gliserol (%87) ilave edilir ve karışım bu sefer bidistile su ile 1000ml'ye tamamlanır. Enzim analizi için hazırlanan süpernatantlar aynı zamanda protein analizinde de kullanılmıştır.

100 µl süpernatant ve 5ml Reagent karıştırılır. Karışım vortekslendikten 5 dk. sonra ortaya çıkan renk Reagent körüne karşı 595 nm'de spektrofotometre'de okunur. BSA standartları 0-1000 µg/ml aralığında hazırlanır. Okuma işlemi 60 dk. içinde bitirilir.

### *2.5. Süperoksit Dismütaz (SOD; EC.1.15.1.1) Aktivitesinin Belirlenmesi*

SOD aktivitelerinin Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Giannipolities, N. ve Ries S. K., (1977)'e göre belirlenmiştir.

Enzim için kullanılan reaksiyon karışımı: 50 mM sodyum fosfat tamponu, 33 µm Nitroblue tetrazolium, 10 mM L – Metiyonin, 0,66 mM EDTANa<sub>2</sub> ve 0,0033 mM Riboflavin, farklı hacimlerdeki süpernatantlarla 10 x 100 mm.' lik cam tüplerde hazırlanır.

Hazırlanan örnekler oda sıcaklığında  $300 \mu\text{mol sec}^{-1}$  ışık yoğunluğunda 10 dk. ışıklandırılmıştır. Ölçümler 560 nm'de Shimadzu UV 1600 marka spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir.

Hesaplama: SOD'un 1 unit'i; 1mg proteinde ortaya çıkan foto redüksiyonun %50 indirgenmesi olarak saptanmıştır.

#### *2.6. Peroksidaz (POD; EC.1.11.1.7) Aktivitesinin Belirlenmesi*

Ekstraktın Hazırlanması; taze bitki materyali (1 g), 10 ml soğuk 0.05 M (pH 6.5) sodyum asetat tamponuyla homojenize edilir. Ekstrakt 13.000 rpm'de 15 dk. santrifüjlenir. Buradan elde edilen süpernatant kısım spektrofotometrede Kanner ve Kinsella (1983) metoduna göre belirlenmektedir.

Öncelikle kör hazırlanır ve spektrofotometre sıfırlanır. Ölçüm yapılacak küvete sodyum asetat tamponu, pyrogallol ve bitki örneği konarak küvet spektrofotometreye yerleştirilir. Hidrojen peroksit ise küvet kuyucuğa yerleştirildikten sonra reaksiyon karışımına ilave edilir ve reaksiyon başlatılmış olur.

Spektrofotometre' de 300 nm' de 120 sn süreyle ölçüm yapılır. 120 sn içerisinde her 5 sn' de bir alınan absorbans değerleri ve bu değerlere bağlı olarak bilgisayar tarafından oluşturulan grafik kaydedilir. Elde edilen absorbans değerleri arasında en büyük farkı gösteren aralık belirlenir. Belirlenen bu en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek mg/ml/dak enzim birimi olarak verilir.

Tüm analiz sonuçlarının ortalamaları arasındaki varyasyonun tespiti için Anova Testi SPSS 13.0 programı ile yapılmıştır. Varyans analizi sonucunda elde edilen F değerlerinin önemli olduğu noktalardaki ortalamalar arasındaki fark Tukey HSD testi uygulanarak çoklu karşılaştırma yapılmıştır.



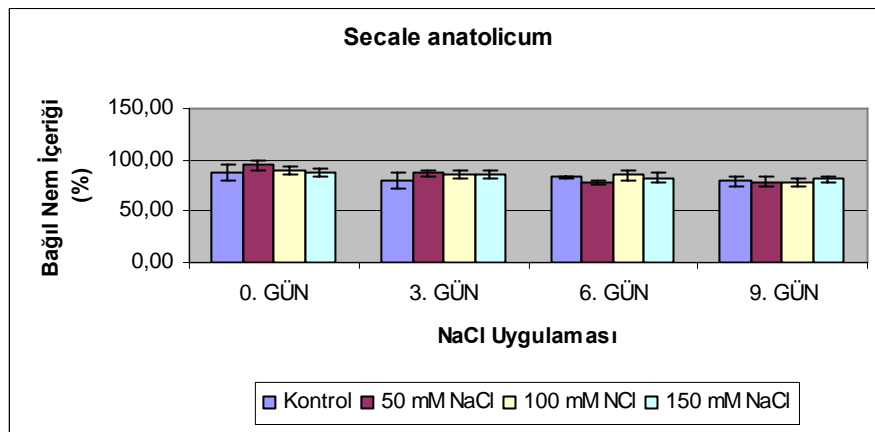
## BÖLÜM III - SONUÇ VE TARTIŞMA

### 3.1. Bağıl Nem İçeriği (BNİ)

Tuza toleransı bilinmeyen *S. anatolicum* 'da bağıl nem içerikleri kontrol grubunda üçüncü günde %80,03, altıncı günde %83,32, dokuzuncu günde ise %79,56 olarak gerçekleşmiştir. 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde ise, üçüncü günde %86,93, altıncı günde %78,79, dokuzuncu günde ise %78,65, 100 mM' da üçüncü günde %85,52, altıncı günde %84,85, dokuzuncu günde ise %78,18, 150 mM' da ise üçüncü günde %85,91, altıncı günde %82,60, dokuzuncu günde ise %81,12 olarak bulunmuştur (Tablo3.1 ve Şekil 3.1).

Tablo 3.1. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. anatolicum*' da bağıl nem içeriği değişiklikleri.

	0. GÜN	3. GÜN	6. GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	87,41±8,3	80,03±7,08	83,32±1,19	79,56±4,99
<b>50 mM NaCl</b>	94,61±5,05	86,93±2,2	78,79±1,95	78,65±5,29
<b>100 mM NaCl</b>	89,65±3,09	85,52±4,64	84,85±4,61	78,18±4,53
<b>150 mM NaCl</b>	87,47±3,87	85,91±4,27	82,60±5,56	81,12±3,45

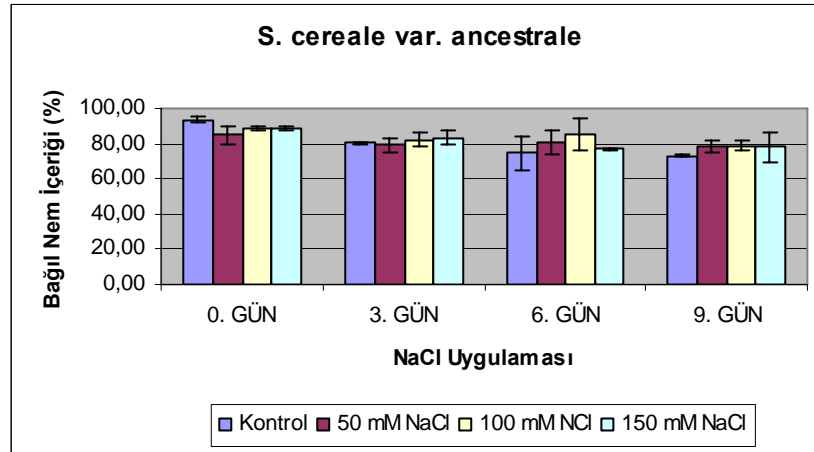


Şekil 3.1. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. anatolicum*' da bağıl nem içeriğinde ortaya çıkan değişimler.

Tuza toleranslı olduğu bilinen *S. cereale* var. *ancestrale*' de bağıl nem içerikleri kontrol grubunda üçüncü günde %80,36, altıncı günde %74,73, dokuzuncu günde ise %73,08 olarak gerçekleşmiştir. 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde ise, üçüncü günde %79,05, altıncı günde %80,76, dokuzuncu günde ise %78,18, 100 mM' da üçüncü günde % 82,34, altıncı günde %85,21, dokuzuncu günde ise %78,85, 150 mM' da ise üçüncü günde %83,35, altıncı günde %76,87, dokuzuncu günde ise %77,9 olarak bulunmuştur (Tablo 3.2 ve Şekil 3.2).

Tablo 3.2. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. cereale* var. *ancestrale*' de bağıl nem içeriği değişimleri.

	0.GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	93,25±1,68	80,36±0,7	74,73±9,48	73,08±0,52
<b>50 mM NaCl</b>	84,66±4,91	79,05±4,09	80,76±7,23	78,18±3,59
<b>100 mM NaCl</b>	88,99±1,32	82,34±3,6	85,21±8,59	78,85±2,99
<b>150 mM NaCl</b>	88,19±1,14	83,35±4,2	76,87±0,36	77,90±8,11



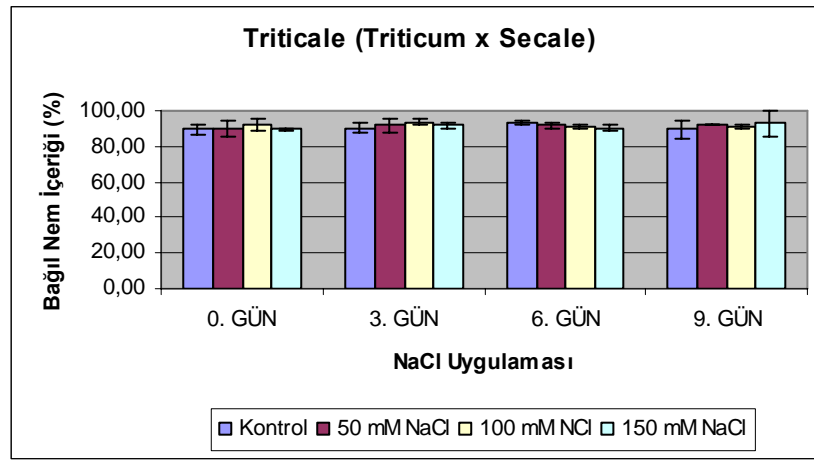
Şekil 3.2. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. cereale* var. *ancestrale*' de bağıl nem içeriğinde ortaya çıkan değişimler.

Yine tuza toleranslı olduğu rapor edilen *Triticale*' de bağıl nem içerikleri kontrol grubunda üçüncü günde %90,25, altıncı günde %93,65, dokuzuncu günde ise

%89,60 olarak gerçekleşmiştir. 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde ise, üçüncü günde %91,61, altıncı günde %91,69, dokuzuncu günde ise %91,74, 100 mM' da üçüncü günde %93,81, altıncı günde %90,86, dokuzuncu günde ise %90,95, 150 mM' da ise üçüncü günde %91,62, altıncı günde %90,24, dokuzuncu günde ise %92,83 olarak bulunmuştur (Tablo 3.3 ve Şekil 3.3).

Tablo 3.3. Tuz stresine maruz bırakılmış *Triticale* ' de bağıl nem içeriği değişimleri.

	0.GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	89,41±2,42	90,25±2,62	93,65±1,27	89,60±5,16
<b>50 mM NaCl</b>	89,70±4,53	91,61±4,00	91,69±1,74	91,74±0,16
<b>100 mM NaCl</b>	92,04±3,21	93,81±1,98	90,86±1,39	90,95±1,33
<b>150 mM NaCl</b>	89,36±0,97	91,62±1,72	90,24±1,68	92,83±7,69



Şekil.3.3. Tuz stresine maruz bırakılmış *Triticale* ' de bağıl nem içeriğinde ortaya çıkan değişimler.

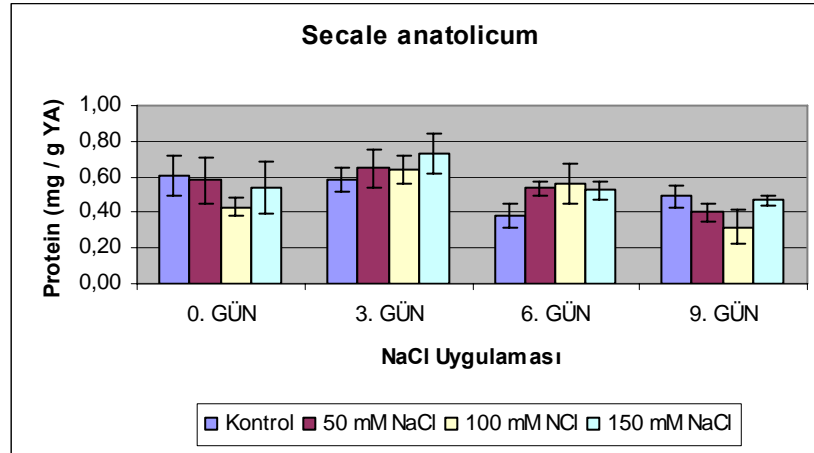
### 3.2. Protein İçerikleri

*S. anatolicum*'da kontrole kıyasla toplam protein içerikleri 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde, üçüncü günde %12 , altıncı günde %40 artmış, dokuzuncu günde ise %18 azalmıştır. 100 mM' da da üçüncü günde %10, altıncı günde %46

artmış, dokuzuncu günde ise %35 azalmış ve 150 mM' da ise üçüncü günde %25, altıncı günde %37 artarken, dokuzuncu günde ise %4' lük bir azalma şeklinde bulunmuştur. Sonuçlar ise mg protein olarak Tablo 3.4 ve Şekil 3.4' de belirtilmiştir.

Tablo 3.4. *S. anatolicum* çeşidinde protein içeriklerinde zamana bağlı olarak saptanan değişimler (mg protein/g YA).

	0.GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	0,61±0. 11	0,58±0,07	0,38±0,07	0,49±0,06
<b>50 mM NaCl</b>	0,58 ± 0,13	0,65 ± 0,11	0,54 ± 0,04	0,40 ± 0,05
<b>100 mM NaCl</b>	0,43 ± 0,05	0,64 ± 0,08	0,56 ± 0,11	0,32 ± 0,1
<b>150 mM NaCl</b>	0,54 ± 0,15	0,73 ± 0,11	0,53± 0,05	0,47 ± 0,03

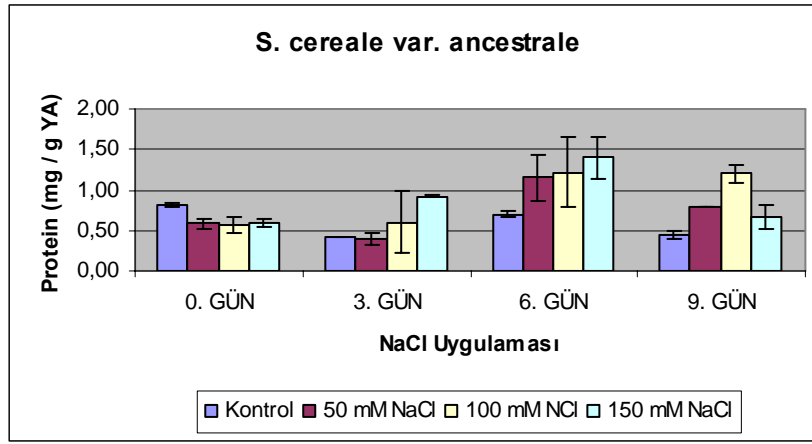


Şekil 3.4. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. anatolicum*' da toplam protein içeriğinde ortaya çıkan değişimler.

*S. cereale* var. *ancestrale*' da kontrole kıyasla toplam protein içerikleri 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde, sırasıyla %4'lük azalma , %64 ve %81 , 100 mM' da %44, %74, %175 ve 150 mM' da ise %121, %99, %51' lik bir artış olarak bulunmuştur. Sonuçlar ise mg protein olarak Tablo 3.5 ve Şekil 3.5'de belirtilmiştir.

Tablo 3.5. *S. cereale* var. *ancestrale* çeşidinde protein içeriklerinde zamana bağlı olarak saptanan değişimler (mg protein/g YA).

	0.GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	0,81±0,03	0,42±0,07	0,70±0,04	0,44±0,05
<b>50 mM NaCl</b>	0,58 ± 0,001	0,40 ± 0,08	1,15 ± 0,29	0,79 ± 0,01
<b>100 mM NaCl</b>	0,57 ± 0,11	0,60 ± 0,39	1,22 ± 0,43	1,20 ± 0,110
<b>150 mM NaCl</b>	0,59 ± 0,04	0,92 ± 0,01	1,40 ± 0,254	1,66 ± 0,15

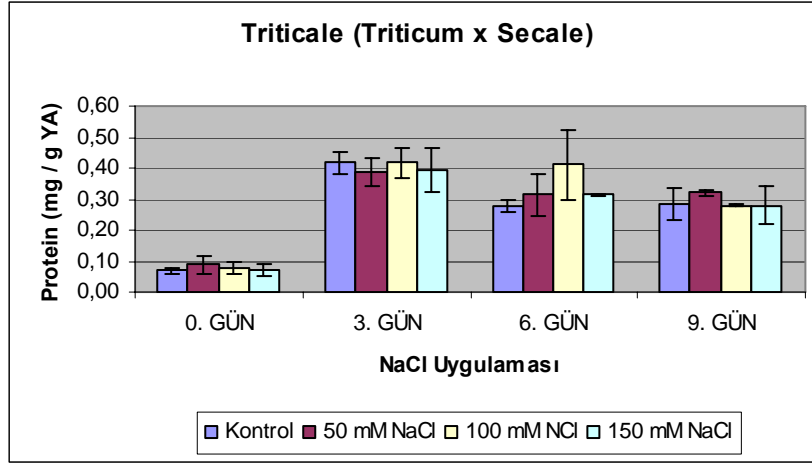


Şekil 3.5. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. cereale* var. *ancestrale*' de toplam protein içeriğinde ortaya çıkan değişimler.

*Triticale*' de ise kontrole kıyasla toplam protein içerikleri 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde, üçüncü günde %7'lik bir azalma , altıncı günde %12 ve dokuzuncu günde ise yine %12'lik bir artış göze çarpmaktadır. 100 mM' da ise üçüncü günde %0,2'lik ve altıncı günde %46'lık bir artış, dokuzuncu günde ise %2'lik bir azalma ve 150 mM' da üçüncü günde %6' lık bir azalma, altıncı günde %12'lik bir artış, dokuzuncu günde ise %2'lik azalma olarak bulunmuştur. Sonuçlar ise mg protein olarak Tablo 3.6 ve Şekil 3.6' de belirtilmiştir.

Tablo 3.6. Triticale çeşidinde protein içeriklerinde zamana bağlı olarak saptanan değişimler (mg protein/g YA).

	0.GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	0,07±0,01	0,42±0,034	0,28±0,02	0,29±0,052
<b>50 mM NaCl</b>	0,09 ± 0,027	0,39 ± 0,045	0,31 ± 0,068	0,32 ± 0,008
<b>100 mM NaCl</b>	0,08 ± 0,019	0,42 ± 0,047	0,41 ± 0,114	0,28 ± 0,005
<b>150 mM NaCl</b>	0,07 ± 0,017	0,39 ± 0,07	0,31 ± 0,002	0,28 ± 0,061



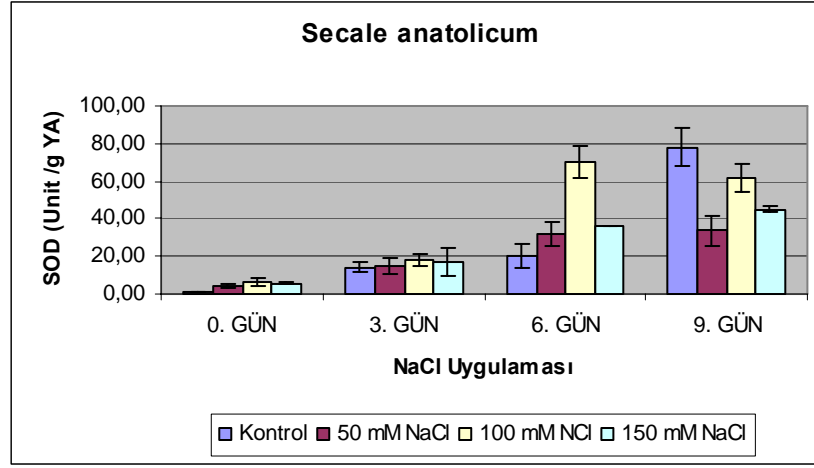
Şekil 3.6. Tuz stresine maruz bırakılmış Triticale’ de toplam protein içeriğinde ortaya çıkan değişimler.

### 3.3. SOD İçerikleri

*S. anatolicum*’ da kontrole kıyasla total SOD aktiviteleri; 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde, üçüncü günde %8 , altıncı günde %59 artarken, dokuzuncu günde ise %57 azalmış , 100 mM’ da da üçüncü günde %27, altıncı günde %248 artarken, dokuzuncu günde ise %21 azalmıştır. 150 mM’ da ise üçüncü günde kontrole kıyasla %21, altıncı günde %78 artış gösterirken, dokuzuncu günde ise %42’ lik bir azalma göstermiştir. Sonuçlar ise total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA) olarak Tablo 3.7 ve Şekil 3.7 ‘ de belirtilmiştir.

Tablo 3.7. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu . *S. anaticum*'daki total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA).

	0. GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	1,06± 0,22	14,08±2,50	20,11± 6,70	77,91± 10,31
<b>50 mM NaCl</b>	4,24± 0,83	15,20± 4,13	31,92 ± 5,97	33,53 ± 7,94
<b>100 mM NaCl</b>	6,35 ± 1,85	17,94 ± 3,17	69,9 ± 8,34	61,87 ± 7,43
<b>150 mM NaCl</b>	5,61 ± 0,59	17,08 ± 7,87	35,73 ± 0,08	45,20 ± 1,22

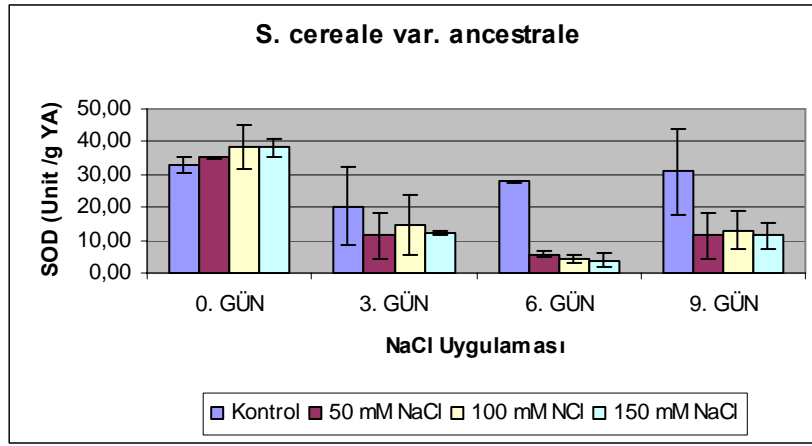


Şekil 3.7. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. anaticum*' da toplam SOD miktarında ortaya çıkan değişimler.

*S. cereale* var. *ancestrale*'de kontrole kıyasla total SOD aktiviteleri; 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde, üçüncü günde %44 , altıncı günde %79, dokuzuncu günde ise %63 , 100 mM' da da üçüncü günde %28, altıncı günde %84, dokuzuncu günde ise %58 , 150 mM' da ise üçüncü günde %40 , altıncı günde %86, dokuzuncu günde ise %63' lik bir azalma tespit edilmiştir. Sonuçlar ise total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA) olarak Tablo 3.8 ve Şekil 3.8 ' de belirtilmiştir.

Tablo 3.8. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu *S. cereale* var. *ancestrale*'deki total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA).

	0. GÜN	3.GÜN	6.GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	32,95±2,36	20,35±12,04	27,8±0,48	30,98±13,05
<b>50 mM NaCl</b>	35,07± 0,33	11,49± 7,06	5,75± 1,09	11,40 ± 6,97
<b>100 mM NaCl</b>	38,30 ± 6,83	14,64 ± 9,12	4,37 ± 1,36	13,10 ± 5,54
<b>150 mM NaCl</b>	38,14 ± 2,51	12,31 ± 0,60	3,93 ± 2,11	11,36 ± 3,93



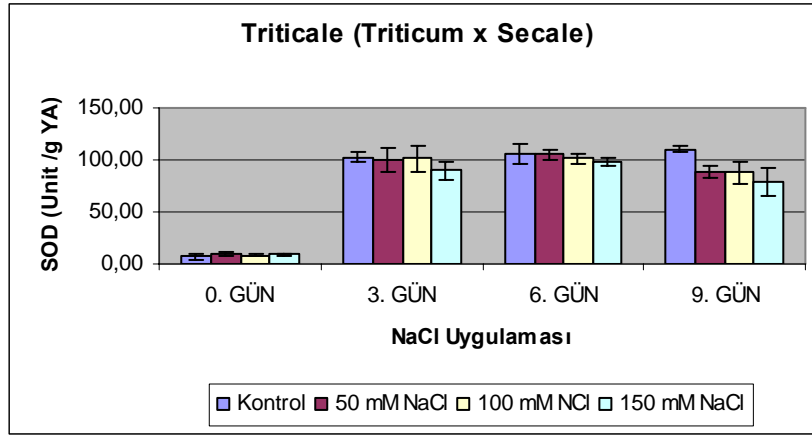
Şekil 3.8. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu *S. cereale* var. *ancestrale*' de toplam SOD miktarında ortaya çıkan değişimler.

*Triticale*'de kontrole kıyasla total SOD aktiviteleri; 50 mM tuz uygulanmış bitkilerde, üçüncü günde %34 artmış, altıncı günde %2 ve dokuzuncu günde ise %23 azalmış, 100 mM' da da üçüncü günde %33 artmış, altıncı günde %3 ve dokuzuncu günde ise %22 azalmıştır. 150 mM' da ise üçüncü günde kontrole kıyasla %31'lik bir artış, altıncı günde %4 ve dokuzuncu günde ise %54' lük bir azalma tespit edilmiştir. Sonuçlar ise total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA) olarak Tablo 3.9 ve Şekil 3.9' de belirtilmiştir.



Tablo 3.9. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu Triticale’deki total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA).

	0. GÜN	3.GÜN	6. GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	6,81±2,19	102,623±4,73	105,87±9,97	109,74±2,92
<b>50 mM NaCl</b>	9,74 ± 1,90	99,33 ± 11,65	105,41±4,84	88,46 ± 6,21
<b>100 mM NaCl</b>	8,43 ± 1,28	101,32 ± 12,31	101,58±4,47	87,75±10,36
<b>150 mM NaCl</b>	8,92 ± 0,96	90,18 ± 8,68	97,61 ± 4,13	79,23 ±13,07



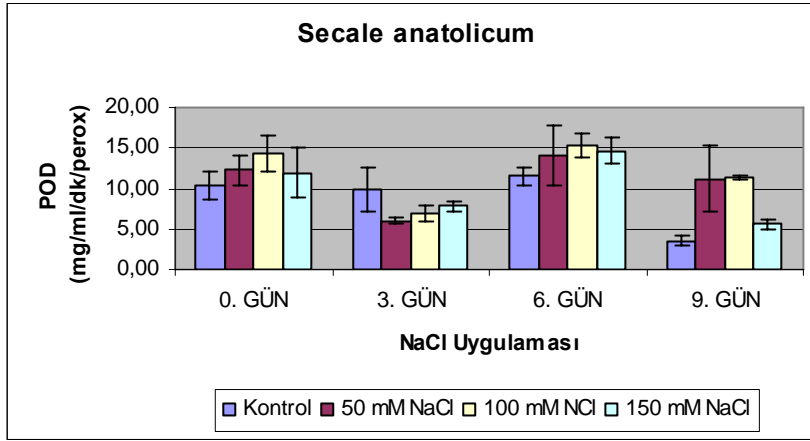
Şekil 3.9. Tuz stresine maruz bırakılmış Triticale’de toplam SOD miktarında ortaya çıkan değişimler.

### 3.4. POD İçerikleri

*S. anatolicum* da kontrole kıyasla POD içerikleri 50 mM tuz konsantrasyonunda üçüncü günde %39 azalırken, altıncı günde %23, dokuzuncu günde ise %22’lik bir artış göstermiştir. 100 mM’da ise yine sırasıyla %29’luk bir azalış, %33’lük ve dokuzuncu günde %228’lik bir artış belirlenmiştir. 150 mM’da ise %21’lik bir azalışı %28 ve %61’lik bir artışın izlediği bulunmuştur. Total POD değerleri Tablo 3.10 ve Şekil 3.10 ‘de belirtilmiştir.

Tablo 3.10. *S. anatolicum* çeşidinde zamana bağlı POD aktivitelerindeki değişimler.

	0. GÜN	3.GÜN	6. GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	10,42±1,72	9,85±2,73	11,50±1,2	3,48±0,64
<b>50 mM NaCl</b>	12,26 ± 1,83	6,03 ± 0,33	14,13±3,68	11,19 ± 4,10
<b>100 mM NaCl</b>	14,36 ± 2,16	6,95 ± 1,02	15,30±1,57	11,41±0,24
<b>150 mM NaCl</b>	11,97 ±3,16	7,82±0,61	14,67±1,62	5,59±0,70

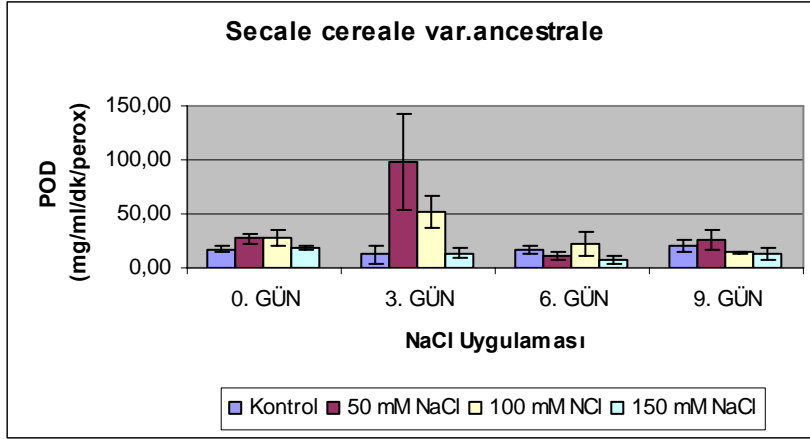


Şekil 3.10. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. anatolicum*' da toplam POD aktivitesinde meydana gelen değişimler.

*S. cereale* var. *ancestrale*' de ise 50 mM' sırasıyla %680'lik bir artış, %35' lik bir azalma ve %23'lük bir artış, 100 mM' da %316'lık, %0,28' lik bir artış ve %32'lik bir azalma gözlenirken 150 mM' %5'lik artış, %56'lık bir azalışı yine %37'lik bir azalmanın izlediği bulunmuştur. Total POD değerleri Tablo 3.11 ve Şekil 3.11' de belirtilmiştir.

Tablo 3.11. *S. cereale* var. *ancestrale* çeşidinde zamana bağlı POD aktivitelerindeki değişimler (mg/ml/dk/perox).

	0. GÜN	3.GÜN	6. GÜN	9.GÜN
<b>Kontrol</b>	17,54±3,37	12,56±8,05	17,02±3,13	21,02±5,63
<b>50 mM NaCl</b>	26,87 ± 4,16	97,95±43,82	11,08 ± 4,49	25,91±8,72
<b>100 mM NaCl</b>	27,86 ± 8,12	52,29±14,38	21,78 ± 10,97	14,26 ± 1,11
<b>150 mM NaCl</b>	19,12±1,73	13,19±4,69	7,42±3,95	13,22±5,18

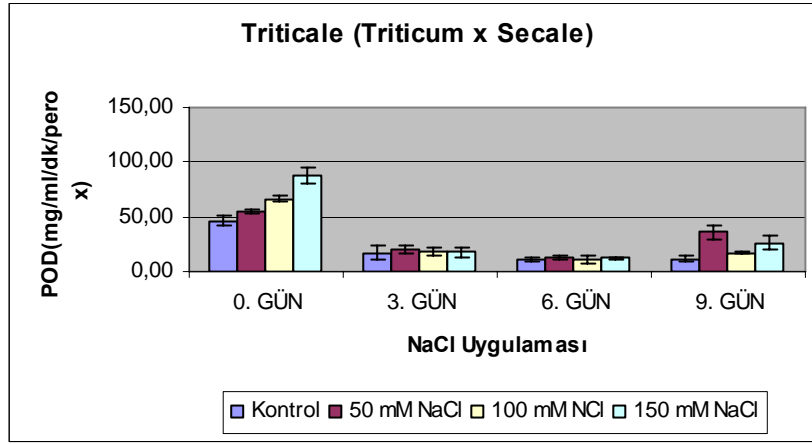


Şekil 3.11. Tuz stresine maruz bırakılmış *S. cereale* var. *ancestrale*' de toplam POD aktivitesinde meydana gelen değişimler.

*Triticale*' de ise yine kontrole kıyasla 50 mM'da %19, %13 ve %202' lik bir artış , 100 mM'da sırasıyla %9'luk bir artış, %3'lük azalma ve %42' lik artış ve 150 mM' %3, %5 ve %120' lik bir artış tespit edilmiştir. Total POD değerleri Tablo 3.12 ve Şekil 3.12 ' de belirtilmiştir.

Tablo 3.12. *Triticale* çeşidinde zamana bağlı POD aktivitelerindeki değişimler.

	0. GÜN	3.GÜN	6. GÜN	9. GÜN
<b>Kontrol</b>	46,34±4,02	16,91±6,24	11,37±2,23	11,84±3,58
<b>50 mM NaCl</b>	54,86 ± 1,99	20,15 ± 3,55	12,88 ± 1,80	35,73 ± 5,82
<b>100 mM NaCl</b>	66,73 ± 3,42	18,38±3,12	11,05 ± 3,01	16,85 ± 1,19
<b>150 mM NaCl</b>	88,33 ± 7,32	17,46±4,85	11,91±1,08	26,09±6,44



Şekil 3.12. Tuz stresine maruz bırakılmış *Triticale*' de toplam POD aktivitesinde meydana gelen değişimler.

## TARTIŞMA

### Bağıl Nem İçeriğindeki Değişimler:

Tuz uygulaması ile bağıl nem içeriklerinde ortaya çıkan değişimler zamana bağılı olarak incelendiğinde *S. anatolicum*' da sadece 50 mM NaCl konsantrasyonda 0. güne kıyasla 6. ve 9. gündeki azalışlar anlamlıdır. *S. cereale* var. *ancestrale* 'de ise kontrolde 3. ve 6. günler arasındaki fark anlamlıdır. *Triticale*' de ise artış ve azalışlar istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p>0,05$ ).

Morant – Manceu ve diğ. (2004), çavdarda tuz stresinin etkilerini araştırmışlardır. Buna göre; kontrol bitkilerle karşılaştırıldığında, tuzluluğun net fotosentezi ve transpirasyon oranlarını azalttığı, bununla birlikte klorofil a floresansında önemli olmayan bir artış gerçekleştiği ve su kullanım etkinliğinin tuzlulukla arttığı ifade edilmiştir. Bir başka araştırmada ise, tuz stresinin su potansiyelinin azalması sonucu fotosentezi engellediği, bu yüzden de tuza toleransta temel amacın tuzluluk süresince verimli su kullanımını arttırmak olduğu rapor edilmiştir (Parida, 2005).

Bulgularımız, araştırmamızda tuz uygulamasıyla oluşturulan ozmotik stres sonucunda bitki yapraklarının su tutma kapasitelerinin azaldığına işaret etmektedir. Bu azalışlar *S. anatolicum*' da sadece 50 mM NaCl konsantrasyonda 0. güne kıyasla 6. ve 9. günde, *S. cereale* var. *ancestrale* 'de ise kontrolde 0. güne kıyasla 3. ve 6. günler arasında anlamlıdır. Buna göre BSI'nde *S. anatolicum*' da sadece 50 mM NaCl konsantrasyondaki anlamlı azalma dışında, tüm çeşitlerdeki tüm tuz konsantrasyonlarında kontrole göre anlamsız BSI'nin saptanmış olması, yetiştirilen bitkilerin su stresine girmeden tuz stresinin etkisinde kaldıklarına işaret etmektedir. Böylece, tuz stresi etkisiyle su kullanım etkinliklerinin devamını sağlamak olanaklı hale gelmiştir. Bunun sonucunda, Morant – Manceu ve diğ. (2004)'nin bulgularına benzer şekilde her üç çavdar genotipinde su kullanım etkinliğinin tuzlulukla arttığı, ayrıca Parida (2005)'e göre de tuzluluk süresince verimli su kullanımının arttığı düşünülebilir.

### Tuz Uygulamasıyla Total Protein Miktarında Ortaya Çıkan Değişimler:

*S. anatolicum*' da kontrol grubunda 0. ve 3. güne kıyasla 6. gündeki azalış anlamlıdır. 50 mM'da ise 3. güne kıyasla 9. gündeki azalma, 100 mM'da 0. güne kıyasla 3. gündeki artış ile 3. güne kıyasla 9.gündeki azalış anlamlıdır.150 mM'da ise 3. güne kıyasla 6. ve 9. gündeki azalışlar anlam taşımaktadır. 9. günde 100 ile 150 mM arasındaki total protein farkı ve 6. günde kontrole kıyasla tüm tuz konsantrasyonlarındaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Bununla beraber *S. cereale* var. *ancestrale* 'de kontrole kıyasla; 0. gün, 150mM'lık 3. gündeki ve 6. gündeki tüm tuz konsantrasyonlardaki artışlar anlamlıdır. 9. günde 50 ve 100 mM konsantrasyonlardaki artışlar anlam taşımaktadır. Kontrolde 0. güne kıyasla 3. ve 9. gündeki azalmalar anlamlıdır.kontrolün 6. gününe kıyasla 9. gündeki azalma anlamlıdır. 50 mM NaCl konsantrasyonda 0. güne kıyasla 6. ve 9. gündeki artışlar ile 6. güne kıyasla 9. gündeki azalış anlamlı bulunmuştur.100 mM'lık konsantrasyonda ise kontrole kıyasla 6. günde anlamlı bir artış bulunmuştur. Ayrıca 9. gündeki artışta 3. güne kıyasla anlamlıdır. 150 mM NaCl'lik konsantrasyonda ise 0. güne kıyasla 3 ve 6. gündeki artışlar ile 6. güne kıyasla 9. gündeki azalış anlamlı bulunmuştur.

Triticale'de ise 9. gündeki 50 ve 100 mM arasındaki fark anlamlıdır. 0. güne kıyasla bütün değerler 3., 6. ve 9. günlerdeki artışlar anlamlıdır. Kontrol grubunda, 3. güne kıyasla 6. ve 9. azalış anlamlıdır. 50 mM' da 3. güne kıyasla 9. gündeki azalış anlamlıdır. 100 mM'da ise 3. güne kıyasla 9. gündeki azalış anlamlı, 150 mM' da ise 3. güne kıyasla 6. gündeki azalış anlamlı bulunmuştur.

Oksijen radikallerine proteinlerin genel duyarlılığı bilinmektedir. Oksidatif değişimler hücre içi proteoliz için denatüre substratları oluşturmada veya doğrudan fragmentasyona neden olabilir (Davies, 1987; Acar, 1999). Ayrıca enzimlerin proteolitik kısımlarının (apoenzim) biyosentezinin protein sentezinden farklı olmadıkları da çok iyi bilinmektedir (Dinçkaya, 1997; Acar,1999). Streb ve

Feierabend (1996), ışıktta NaCl ile artan oksidatif zararın öncelikle protein sentezinin engellenmesiyle ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. Bu yüzden katalazın yeniden sentezlenmesinin durduğunu, bu yapraklardaki katalaz aktivitesinin tükendiğini, bunlara ek olarak alternatif antioksidant sistemin güçlenmesinin önlendiğine işaret etmişlerdir.

Genel olarak, araştırmamızda kullandığımız ve tuza dayanıklı olarak bilinen *Triticale* genotipinde total SOD miktarları ile protein içeriklerinin artan zamana ve konsantrasyona bağlı olarak paralel artışlar sergilendiği görülmektedir. POD aktivitelerindeyse bu durum zıt şekilde gerçekleşmiştir. Tuza genel olarak duyarlı olduğu bilinen *Secale ancestrale* var. *ancestrale* ise artan zamana ve tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak proteinde gösterdiği anlamlı artışlara toplam SOD miktarında sahip değildir. POD aktivitesinde ise 3. gün dışında anlamlı artışlar olmadığı gibi kontrolde ve tüm tuz konsantrasyonlarında ilerleyen zamana bağlı olarak 0. güne kıyasla anlamlı olmayan azalışlar sergilemiştir. *Secale anatolicum* ise NaCl stresi boyunca kontrol bitkilerle karşılaştırıldığında 6. günde sergilediği anlamlı artışları, benzer şekilde yine 6. günde hem total SOD miktarında hem de POD aktivitelerinde sergilemiştir. Bu artışlar 9. günde de devam etmiştir.

Morant – Manceu ve diğ. (2004), *Triticum T300* ve *Triticum dicoccum farrum* (*Triticum df*) ve *Secale cereale* var. *petkus* üzerine 85,7 – 110 mM NaCl'nin etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmada, *Secale cereale* var. *petkus*'a kıyasla iki *Triticum* çeşidinin tuza çok toleranslı oldukları saptanmıştır. Araştırmamızda kullanılan *Secale ancestrale* var. *ancestrale* türünün özellikle 100 mM ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında, 6 ve 9. günde kontrole kıyasla protein seviyesinde anlamlı artışlar sergilemesi Morant – Manceu ve diğ.'nin bu türün *Petkus* varyetesi için belirttikleri tuza duyarlılıkla çelişmektedir. Öte yandan; araştırmamızda kullandığımız *Triticale* genotipinde 0. günden itibaren protein seviyesinde anlamlı artışlar belirlenmiştir. Aynı araştırmada kullanılan *Secale cereale* var. *petkus* türüne kıyasla *Triticum* genotiplerinin tuza toleranslı bulunuşu ile bu iki genotip için araştırmamızda saptanan protein seviyeleri benzerlikler taşımaktadır. Protein

seviyesinde *Triticum* genotipinde belirlenen anlamlı artışların tümü *Secale ancestrale* var. *ancestrale*'ye kıyasla bu genotip için daha iyi bir tuz toleransına işaret etmektedir.

Kurağa dayanıklı genotiplerde total protein miktarında görülen artış total SOD aktivitesindeki olası artışların yanı sıra çeşitli streslere yanıtta iş gören bir çok birincil ya da ikincil metabolitin sentezlenmesini de beraberinde getirebilir. Kuraklık ve tuz stresinin kardeş stresler olarak anılması onların ikisinin de ozmotik strese yol açmalarında ileri gelmektedir. Bu bağlamda, araştırmamızda *Secale ancestrale* var. *ancestrale*'ye kıyasla *Triticale* için, *Secale anatolicum* türü için saptanan protein seviyeleri daha iyi bir tuz toleransına işaret etmektedir. Bu nedenle bulgularımız Davies (1987)'in bulgularıyla paralellik göstermektedir. Kuraklık ve tuz stresiyile ortaya çıkan oksidatif strese bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin artış göstermesi de bu nedenle mümkündür (Acar, 1999; Zhu, 2001).

Tuz Uygulamasıyla Total SOD ve POD Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler:

*S. cereale* var. *ancestrale* 'de SOD aktiviteleri kontrolde 0. güne kıyasla 6.gündeki azalış anlamlıdır. 50 mM'da ise 0. güne kıyasla 3, 6 ve 9. günlerdeki azalışlar anlamlıdır.100 mM' da ise 0. güne kıyasla 3, 6 ve 9. gündeki azalışlar anlamlıdır.150 mM'da 0. güne kıyasla 3, 6 ve 9. gündeki azalışlar, 3. güne kıyasla 6. gündeki azalış ve 6. güne kıyasla 9. gündeki artışlar anlamlı bulunmuştur.

*S. cereale* var. *ancestrale* 'de POD aktivitesine bakılığında 50 mM'da 0. güne kıyasla 3. gündeki artış anlamlı, 100 mM'da 0. güne kıyasla 3. gündeki artış, 0. güne kıyasla 9. gündeki azalış ve 3. güne kıyasla 9. gündeki azalış anlamlı bulunmuştur. 150mM'da 0. güne kıyasla 3. ve 6. günlerdeki azalışlar anlamlı bulunmuştur.

Tuza duyarlı olduğu saptanan *Secale ancestrale* var. *ancestrale* türünde toplam SOD aktiviteleri incelendiğinde, kontrolde ve tüm tuz konsantrasyonlarında ilerleyen



zamana bağlı olarak anlamlı düşüşler saptanmıştır. Özellikle 6. günde 150 mM NaCl konsantrasyonunda en düşük SOD miktarı saptanmıştır. Kontrolde sadece 0. güne kıyasla 6. günde saptanan düşüş haricinde, yüksek tuzluluğun ilerleyen zamana bağlı olarak sergilediği bu azalma dikkate alındığında; *Secale ancestrale* var. *ancestrale* için SOD'un tuza toleransta iş görmediği anlaşılmaktadır.

Bu çavdar türü için POD aktiviteleri incelendiğindeyse, kontrol ile karşılaştırıldığında 3. günde 50 mM NaCl ve 100 mM NaCl konsantrasyondaki anlamlı artışlar, aynı zamanda 0. gün ile karşılaştırıldığında da anlamlı bulunmuştur. Ancak bunun dışında POD aktivitesinde hiçbir artış saptanmazken; 150 mM NaCl konsantrasyonda 0. güne kıyasla 3 – 6. günde, 100 mM NaCl'de ise 0. ve 3. güne kıyasla 9. günde anlamlı düşüşler saptanmıştır. Bu bağlamda, kısa süreli POD artışlarının ilerleyen zaman ve artan tuz konsantrasyonuna karşı kısa sürede gösterdiği tepkinin devamlı olmadığı anlaşılmaktadır. Bu durum POD ile tuza tolerans sağlanmasının bu tür için zayıf bir olasılık olduğuna işaret etmektedir.

Acar (1999), su kıtlığı ve polietilen glikol (PEG 3000) uygulanarak yaratılan kuraklık stresinin kurağa dayanıklı ve duyarlı oldukları bilinen ve kurağa toleransı bilinmeyen bir arpa çeşidinde; total SOD aktivitesi, total protein, bağlı nem içeriği ve radikula – koleoptil büyümesi üzerine yaptığı araştırmada, SOD aktivitesinin kuraklığa tepkide dayanıklı ve duyarlı kültürler arasında bir kriter olarak kullanılabilir olduğunu bildirmiştir.

Streb ve Feierabend (1996), NaCl varlığında yüksek fotooksidasyonun *Secale cereale* üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, çavdarın yüksek foton yoğunluğunda ( $400-500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PAR) ve 0,2–0,6 M NaCl konsantrasyonda, tercihli katalaz aktivitesi kaybının indüklendiğini belirlemişlerdir. Bu azalış NaCl konsantrasyonuyla artmaktadır. Buna ilave olarak, askorbat, glutasyon, glutasyon redüktaz veya peroksidaz gibi alternatif antioksidatif bileşenlerin birikimi de engellenmiştir. Buna paralel olarak, araştırmamızda saptanan toplam SOD miktarı ve POD aktiviteleri birlikte ele alındığında, *Secale ancestrale* var. *ancestrale* için tuza

toleransa bu iki enzimin birlikte yanıt oluşturmadiğı anlaşılmaktadır. Bu durum, antioksidatif enzim aktiviteleri bakımından *Secale cereale* var. *ancestrale* tuza duyarlı davrandığına işaret etmektedir. Morant – Manceu ve diğ. (2004)'nin, *Triticum T300* ve *Triticum dicoccum farrum* (*Triticum df*) ve *Secale cereale* var. *petkus* üzerine 85,7 – 110 mM NaCl'nin etkisini araştırdıkları çalışmadaki bulgularda bu görüşümüzü destekler niteliktedir. Manceu ve diğ. *Secale cereale* var. *petkus* türünün iki *Triticum* genotipine kıyasla tuza duyarlı olduğunu ifade etmişlerdir. Öte yandan, POD aktivitesindeki kısa süreli artışlar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoksifikasyonunun CAT ile başarılı olabileceğini de akla getirebilir. Ancak olası bir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoksifikasyonunu gerektirecek SOD aktivitesinin bulunmayışı yüzünden bu olasılık ümit verici değildir.

Bu bilgiler ışığında, bu bitki için tuza dayanıklılık aranacaksa bunun için ilk yol Morant – Manceu ve diğ.'lerinin de belirttiği Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> iyonlarının biriktirilmesiyle başarılı bir tuz toleransının araştırılması olacaktır. Streb ve Feierabend (1996), ışıkta NaCl ile artan oksidatif zararın öncelikle protein sentezinin engellenmesiyle ortaya çıktığını göstermiştir. Bu yüzden katalazın yeniden sentezlenmesi durmuş ve bu yapraklardaki katalaz aktivitesi tükenmiş, bunlara ek olarak alternatif antioksidant sistemin güçlenmesi önlenmiştir. Bu bağlamda, olası tuz toleransının belirlenmesinde ikinci yol ise diğer tuz stresi indikatörü proteinlere bağlı bir toleransın araştırılmasıdır. *Secale cereale* var. *ancestrale* türünde protein seviyelerinde ilerleyen zamana bağlı olarak artan tuz konsantrasyonlarında anlamlı artışlar belirlenmiş olası bu düşüncemizi kuvvetlendirmektedir.

*Triticale*' de SOD aktivitesi kontrol ve tüm tuz konsantrasyonlarında 0. güne kıyasla 3, 6 ve 9. günlerdeki tüm artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır. 50 mM' da 6. güne kıyasla 9. gündeki azalış anlamlıdır. 150 mM' da 6. güne kıyasla 9. gündeki azalışlar anlamlıdır. 9. günde kontrole kıyasla tüm tuz konsantrasyonlarında meydana gelen artışlar anlamlı olarak bulunmuştur.

*Triticale*'de POD aktiviteleri ise kontrol, 0. güne kıyasla 3., 6. ve 9. günlerdeki tüm tuz konsantrasyonlardaki azalışın anlamlı olduğu bulunmuştur. 50 mM' da 3. güne kıyasla 6. gündeki azalış anlamlıdır. 50 mM' da 9. gündeki artış ise 3 ve 6. gündekine kıyasla anlamlıdır. 100 mM'da 6. gündeki azalış 3. güne kıyasla ve 9. gündeki artış 6. güne kıyasla anlamlı bulunmuştur. 150 mM'da 6. güne kıyasla 9. gündeki artışlar anlamlı bulunmuştur.

*Triticale*'de toplam SOD miktarları, başlangıca kıyasla 3., 6. ve 9. güne kıyasla anlamlı olarak artmıştır. Bu artış 9. güne gelindiğinde, 6. güne kıyasla 50 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında anlamlı olarak azalmıştır. Toplam SOD miktarındaki azalmalar kontrole kıyasla 9. günde tüm tuz konsantrasyonlarında anlamlı bulunmuştur.

Tuza toleranslı olduğu bilinen *Triticale*'de POD aktivitelerine bakıldığında, başlangıçtaki aktivite değerlerinin 3. günde anlamlı şekilde düştüğü belirlenmiştir. POD aktivitesindeki bu düşüş 6. günde daha fazla olmuştur. Bu düşüşler özellikle 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarında anlamlı bulunmuştur. 100 ve 150 mM NaCl konsantrasyonlarında 6. güne kıyasla 9. günde ortaya çıkan anlamlı artışlar ise, 0. güne kıyasla POD aktivitesindeki bir azalmayı ifade etmekten öteye geçmemektedir.

*Triticale* için toplam SOD miktarındaki zamana bağlı artışlar, POD aktiviteleri tarafından desteklenmemektedir. Bu nedenle, tuz stresine bağlı enzimik antioksidatif savunmada SOD'un iş gördüğü ancak ilerleyen zamana bağlı olarak da azaldığı anlaşılmaktadır. *Triticale*'de *Secale cereale* var. *petkus*'a kıyasla Morant – Manceu ve diğ. (2004) tarafından saptanan tuza dayanıklılık için antioksidatif yol çalışıyor olabilir. Bu yüzden, SOD aktivitesinin bir sonucu olarak üretilen olası H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in ise POD yerine CAT tarafından detoksifikasyonu ise kuvvetle olasıdır. *Triticum*'daki tuz toleransının bir diğer mekanizması ise yine aynı araştırmacılarca yapıldığı gibi Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyonlarının biriktirilmesiyle başarılı bir tuz toleransı olabilir. *Triticale* ilerleyen zamana bağlı olarak yüksek protein seviyelerine sahip bulunmuştur. Protein seviyelerindeki artışlar *Triticale*'de diğer tuz stresi indikatörü proteinlere bağlı bir

toleransın olasılığına işaret etmektedir. Enzimik antioksidatif savunma sistemi dikkate alındığında *Secale cereale* var. *ancestrale* türüne kıyasla tuz stresine yanıtta *Triticale* daha iyi yanıt oluşturmuştur. protein seviyelerinde ilerleyen zamana bağlı olarak artan tuz konsantrasyonlarında anlamlı artışlar belirlenmiş olması bu düşüncemizi kuvvetlendirmektedir. SOD, POD ve tuz stresi arasındaki bağıntı birçok makalede ifade edilmiştir. Acar ve Binici (2004), SOD'un arpa'da tuz stresine yanıtta gösterdiği artışın tek başına yeterli olamayacağını, bununla birlikte doğal olarak tuza toleranslı yabancı varyete *Hordeum marinum* subsp. *marinum* L.'un artan SOD aktivitelerini rapor etmişlerdir. Bu araştırma bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

*S. anatolicum*' da ki toplam SOD miktarındaki değişimlere bakıldığında kontrol ve uygulamada 0. güne kıyasla 3, 6 ve 9. günlerdeki artışlar anlamlı olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda 3. ve 6. güne kıyasla 9. gündeki artış anlamlıdır. 50 mM'da 3. güne kıyasla 6. ve 9. gündeki artış anlamlıdır. 100 mM ve 150 mM'da 3. güne kıyasla 6. ve 9. gündeki artışlar anlamlıdır. 150 mM'da 9. gündeki artış 6. güne kıyasla anlamlıdır. 0. günde kontrol grubuna kıyasla tüm tuz konsantrasyonlarındaki artışlar anlamlıdır. 6. günde 100 mM'daki artış kontrole ve diğer tuz konsantrasyonlarına kıyasla anlamlıdır. 6. günde 150 mM' daki artış kontrole kıyasla anlamlıdır. Kontrol ve 100 mM' a kıyasla 9. gündeki 50 ve 150 mM' daki azalışlar anlamlıdır.

*S. anatolicum*' da POD değerleri kontrol grubunda 0., 3. ve 6. güne kıyasla 9. günde anlamlı bir azalma vardır. 50 mM' da sadece 3. günde 0. güne kıyasla anlamlı bir azalma ve 6. ve 9. gündeki artış 3. güne kıyasla anlamlıdır. 100 mM'da 0. güne kıyasla 3. günde anlamlı bir azalma, 3. güne kıyasla 6. ve 9. gündeki artışlar anlamlıdır. 0. ve 6. güne kıyasla 9. gündeki azalma anlamlıdır. 150 mM' da 0. güne kıyasla 3. gündeki azalma ve 3. güne kıyasla 6. gündeki artış anlamlıdır. 9. gündeki azalış ise 0., 3. ve 6. güne kıyasla anlamlıdır. 3. günde kontrole kıyasla 50 mM'daki POD aktivitesindeki azalış anlamlı bulunmuştur. 6. günde, kontrole kıyasla 100 ve 150 mM'daki POD aktivitesindeki artışlar anlamlıdır. 9. günde ise kontroldeki artışlar tüm NaCl konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlıdır.

*Secale anatolicum* türünde, 0. güne kıyasla kontrolde ve tüm tuz konsantrasyonlarında toplam SOD miktarları 6. güne kadar düzenli ve anlamlı şekilde artmıştır. 9. günde bu artış sadece 150 mM NaCl anlamlı şekilde için devam etmiştir. Kontrole karşılaştırıldığında, özellikle 6. günde tüm tuz konsantrasyonları anlamlı şekilde artmıştır. 6. günde en yüksek artışın gerçekleştiği 100 mM NaCl konsantrasyonu dışındaki konsantrasyonlar, 9. günde kontrole kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır. 100 mM NaCl konsantrasyonunda 6. günde kontrole karşı saptanan artış 9. günde de korunmuştur.

*S. anatolicum*'un POD aktiviteleri artan tuz konsantrasyonlarına 3. günde sadece 50 mM NaCl konsantrasyonunda anlamlı azalmayla yanıt vermiş, diğer konsantrasyonlarda ise kontrole kıyasla anlamlı değişim göstermemiştir. Ancak 0. güne kıyasla tüm tuz konsantrasyonları anlamlı şekilde POD aktivitelerinin azalmasına neden olmuştur. 6. güne gelindiğindeyse, kontrol bitkiler dışında tüm tuz konsantrasyonlarında anlamlı POD aktivitesi artışları saptanmıştır. Ancak 6. gündeki bu artışlar kontrole kıyasla sadece 100 ve 150 mM NaCl için anlamlıdır. 0., 3. ve 6. günde kontrol bitkilerde saptanan POD aktivitesi 9. günde anlamlı biçimde azalmıştır. 9. günde tüm tuz konsantrasyonlarında kontrole kıyasla saptanan POD aktiviteleri ise anlamlı artışlardır.

İlginç şekilde, 0. gün ile kıyaslandığında 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarındaki POD aktivitelerinin başlangıçtaki seviyelerinde korunduğu belirlenmiştir. 0. güne kıyasla 3. günde tuz stresiyle ortaya çıkan negatif etkinin POD aktivitelerini azaltması karşısında, *S. anatolicum*'un 6. günde sergilediği tepki fazında POD aktivitelerinde anlamlı artışların bulunması da son derece ilgi çekicidir. 150 mM NaCl konsantrasyonu dışındaki konsantrasyonlarda, başlangıçtaki POD aktivitelerinin korunması ise yüksek tuz stresinin letal etkisine işaret etmektedir. 50 mM NaCl ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarındaysa *S. anatolicum*'un başlangıçtaki POD seviyelerini koruyarak uzun süreli tuz stresinden etkilenmemesi tuza toleransta POD'ın etkinliğine işaret etmektedir.

*Secale anatolicum* için SOD ve POD seviyeleri dikkate alındığında, tuz stresine toleransta düzenli SOD artışlarına bağlı olarak üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in POD tarafından detoksifiye edildiği anlaşılmaktadır. Gerek SOD gerekse POD aktivitesinde gerçekleşen anlamlı artışlar tuza toleransı bilinmeyen *S. anatolicum* türünde tuz stresine toleransta çok iyi çalışan enzimik antioksidatif savunmanın varlığını göstermektedir. Protein seviyelerinde 6. günde elde edilen artışlar da bu antioksidatif yanıtı destekler niteliktedir.

Özmen ve arkadaşları (2003), paclobutrazol uygulamasına maruz bırakılan kuraklığa dirençli (*Tokak – 137/57*) ve duyarlı (*Erginel 90*) iki arpa varyetesinde NaCl stresinin SOD ve POD değişimleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, dirençli varyetede paclobutrazol etkisiyle NaCl stresi karşısında SOD aktivitelerini arttırdığını, ancak POD aktivitelerinde benzer bir değişim gerçekleşmediğini rapor etmişlerdir.

Demiral ve Türkan (2004), tuza toleranslı (*Pokkali*) ve tuza duyarlı (*IR – 28*) iki pirinç (*Oryza sativa* L.) varyetesine dışarıdan glisin betain (GB) uygulamışlar ve her iki varyetede antioksidant enzimleri ve lipid peroksidasyonu takip etmişlerdir. Araştırmacılar; GB uygulamasıyla, *Pokkali* yapraklarında SOD, AP, CAT ve Glutasyon redüktaz (GR) aktivitelerinin arttığını ancak POD aktivitelerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Buna karşılık, aynı araştırmada tuz stresine maruz kalan tuza duyarlı varyete *IR – 28*'de ise GB uygulaması sonucu SOD, AP ve POD aktivitelerinin arttığı ancak CAT ve GR aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Demiral ve Türkan, yalnızca tuz uygulanmış grupları karşılaştırdıklarındaysa, GB uygulamasının tuzluluk altındaki *IR – 28*'de CAT ve AP aktiviteleri artarken, *Pokkali*' de SOD, CAT, AP ve GR aktivitelerini azalttığını rapor etmişlerdir.

Meloni ve diğ. (2003), yaptıkları çalışmada tuz stresinin, besin solüsyonunda yetişen iki pamuk kültürü; *Guazuncho* ve *Pora* (*Gossypium hirsutum* x *G. Arboretum* x *G. raimondii*)'daki süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1), peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7), glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) gibi

antioksidant enzimlerin aktivitesine, lipid peroksidasyonuna, gaz değişimine, klorofil içeriğine ve klorofil floresansına etkilerini araştırmışlardır. Pamuk varyetelerinde tuz stresi altında reaktif oksijen türlerine karşı savunmada antioksidant enzimlerin aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir.

Neto ve diğ. (2005), tuzlu ve besinli ortamda yetiştirdikleri iki mısır genotipi olan tuza toleranslı *BR5033* ve tuza duyarlı *BR5011* genotiplerinin köklerinde lipid peroksidasyonunu ve antioksidatif enzimleri araştırmışlardır. Tuza toleranslı olan *BR5033* genotipinin yaprak ve köklerinde tuzlu koşullarda antioksidant enzimlerin arttığını ve oksidatif zararın *BR5011* genotipine göre daha az olduğunu belirtmişlerdir.

Sreenivasulu ve diğ.(2000), farklı tuz konsantrasyonlarına tuza toleranslı (cv. *Prasad*) ve tuza duyarlı (cv. *Lepakshi*) *Seteria italica* (Akdarı) bitkisinin antioksidant kapasitesini incelemişlerdir. Buna göre; toplam SOD ve askorbat peroksidaz (AsPOD) aktivitesi tuz stresine maruz kalan tuza duyarlı költürde belirgin şekilde azalıyorken, tuz stresi koşullarındaki tuza toleranslı költürde ise arttığı bulunmuştur.

Bandeoğlu (2001), yaptığı araştırmada farklı konsantrasyonlarda tuz uygulanmış 14 günlük mercimek fidelerinin kök ve yaprak dokularındaki SOD, CAT, AP ve GR gibi antioksidant enzimlerin aktivitelerini, lipid peroksidasyonunu, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve prolin miktarları ile fizyolojik değişimleri (yaş-kuru ağırlık ve kök-yaprak uzunlukları) normal şartlarda büyütölen mercimek fideleriyle karşılaştırmış ve yaprağın tuz stresine daha duyarlı olduğunu ve kökte Cu/ZnSOD, AP ve prolinin tuz stersine karşı direnç göstermede önemli bir rol oynadığını belirtmiştir.

NaCl'ye duyarlı dört pirinç (*Oryza sativa* L.) türü (*Pokkali*, *Bankat*, *Hitomebore*, *IR28* ) yapraklarında NaCl' nin sebep olduğu zarar mekanizmaları ile aktif oksijen türleri arasındaki ilişki ve antioksidant sistemi araştırılmıştır.

Membranların sarbest radikaller aracılığı ile zarar görmesi sırasında artan radikal üretimine karşı koruyucu spesifik antioksidant mekanizmaların olduğunu göstermişlerdir. Dört pirinç varyetesinde de yüksek tuzlulukta gelişimde azalma olduğu bildirilmiştir. Ayrıca tuza duyarlı olan *Bankat*, *Hitomebore* ve *IR28* varyetelerinde; süperoksit dismutas aktivitesinde azalma, lipit peroksidasyonu, peroksidaz aktivitesinde ve yapraklardan Na alınımında artış gözlenirken, tuza toleranslı *Pokkali* varyetesinde süperoksit dismutas ve peroksidaz aktiviteleri az oranda artarken lipit peroksidasyonu ve Na alınımında bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir (Dionisio-Sese ve Tobita, 1998).

Kültüre alınan *Catharanthus roseus* (L.) G. Don bitkisine değişik konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış ve sonuçta; *C. roseus* hücrelerinde antioksidant enzimlerin indüksiyonuna rağmen lipit peroksidasyonundaki artış ile tuz uygulamasının bir oksidatif stres meydana getirdiği ve böylece hücrel zarara bir cevap olarak antioksidant aktivitenin arttığı fakat bu artışın tuzun zararlı etkilerini tamamen durduramadığı, sadece zararı azaltarak hücrelerin gelişebilmesini sağladığı belirtilmiştir (Elkahoui ve diğ., 2005).

*Bolal*, *Gerek*, *Çakmak*, *Yayla*, *Atay* ve *Bezostaja* buğday varyetelerinde yapılan bir araştırmada ise 24 saat % 4'lük NaCl stresiyle SOD izoenzimlerinde, özellikle mitokondride azalan aktiviteler rapor edilmiştir (İnci ve diğ., 1993) .

Bu sonuçlar, *Secale cereale* var. *ancestrale* için antioksidant savunmanın tuz stresinde çalışmadığına işaret olarak sayılabilir. Antioksidatif enzim aktiviteleri bakımından *Secale cereale* var. *ancestrale* tuza duyarlı davranmıştır. Buna zıt olarak *Secale anatolicum* ise ılımlı tuz stresine maruz kaldığında antioksidatif enzimlerin çalıştığı bir savunmaya sahip bulunmuştur.



Bu konuda yapılan çok sayıdaki araştırmaya paralel şekilde, araştırmamızda tuz stresine bağı olarak ROT'ni detoksifiye ettiği bilinen antioksidatif savunma mekanizmasında yer alan SOD ve POD aktivitelerinin *Secale cereale* var. *ancestrale*'de çalışmadığı bulunmuştur. Bu durum tuza duyarlılıkla ilgili olabilir, antioksidatif yolda çalışan GR ve AP gibi enzimlerde Streb ve Feierabend'in karşılaştığı sonuçlar bu düşüncemizi destekler niteliktedir. Bununla birlikte, SOD aktivitesinde bu tür için saptadığımız bulgular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminin artmamasına bağı olarak bir POD veya CAT aktivitesi bulunmayışını açıklamaktadır.

Tuz stresine bağı olarak gelişen oksidatif strese karşı SOD ve POD seviyelerinin kullanışlı olduğuna ilişkin çok sayıda bilgi vardır. Araştırma sonuçlarımız, endemik bir bitki olan *Secale anatolicum*'un tuza toleransta iyi bir gen kaynağı olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, tuza stresinin neden olduğu oksidatif strese yanıtta çalıştığı bilinen SOD ve POD enzimleri ile protein seviyeleri dikkate alındığında *Secale cereale* var. *ancestrale* ve *Triticum*'a kıyasla *Secale anatolicum*'un daha iyi bir tuz toleransına sahip olduğu söylenebilir

## KAYNAKLAR

Acar, O. ve Binici, A., 2004. *Hordeum marinum* subsp. *marinum* L. 'da Tuz Stresine Bağlı Olarak Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi. V. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Bildiri Özet Kitabı, Bolu, 34.

Acar, O., 1999. Kurağa Dayanıklı Bazı Arpa (*Hordeum spp.*) Çeşitlerinde Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitelerinin Araştırılması. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

Acar, O., Türkan, İ. ve Özdemir, F., 2001. Superoxide Dismutase and Peroxidase Activities in Drought Sensitive and Resistant Barley (*Hordeum vulgare* L.) Varieties, *Acta Physiol. Plant.*, 23 (3): 351–356.

Alexieva, V., Ivanov, S., Sergiev, I., ve Karanov, E., 2003. Interaction Between Stresses Bulg. *J. Plant Physiol.*, Special Issue, 1–17.

Alpaslan, M., Güneş, A., Taban, S., Erdal, İ. ve Tarakcıoğlu, C., 1998. Tuz Stresinde Çeltik ve Buğday Çeşitlerinin Kalsiyum, Fosfor, Demir, Bakır, Çinko ve Mangan İçeriklerinde Değişmeler. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 22: 227–233.

Alscher, R. G., Erturk, N. ve Heath, L. S., 2002. Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants. *Journal of Experimental Botany*, 353: 1331–1341.

Asada, K., 1997. The Role of Ascorbate Peroxidase and Monodehydroascorbate Reductase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Scavenging in Plants. *Oxidative Stress and The Molecular Biology of Antioxidant Defens.* 715-735.

Asada, K., 1999. The Water–Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygen and Dissipation of Excess Photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50: 601–639.

Bandeoğlu E., 2001. Effect of Salt Stress on The Antioxidant Defense System in Lentil (*Lens culinaris* M.) Seedlings. ODTÜ, Ankara, (Yüksek Lisans Tezi).

Beauchamp, C. ve Fridovich, İ., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assay and Applicable to Acrylamid Gels. *Anal. Biochem.*, 44: 276–287.

Beyer, W., Imlay, J. ve Fridovich, I., 1991. Superoxide Dismutases. *Prog. Nucl. Acid Res.*, 40: 221–253.

Bhattacharjee, S., 2005. Reactive Oxygen Species and Oxidative Burst: Roles in Stress, Senescence and Signal Transduction in Plants. *Current Science*, 89:7–10.

Blokhina, O., 2000. Anoxia and Oxidative Stress: Lipid Peroxidation, Antioxidant Status and Mitochondrial Functions in Plants (Academic Dissertation). p: 79.

Blokhina, O., Virolainen, E. ve Fagerstedt, K. V. 2003. Antioksidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress. *Ann. Bot.*, 91: 179.

Bordo, D., Djinic, K. ve Bolognesi M., 1994. Conserved Patterns in The Cu, Zn Superoxide Dismutase Family. *Journal of Molecular Biology*. 238: 366–386.

Bradford, M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.

Bowler, C., Van Camp, W., Van Montagu, M. ve Inzè, D., 1994. Superoxide Dismutase in Plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 13: 199–218.

Cullen, P., 2003. Salinity. İn: Attiwill, P., Wilson, B. Eds. *Ecology An Australian Perspective*, 4 (29): 474.

Davies, K.J.A., 1987. Protein Damage and Degradation by Oxygen Radicals, I. General Aspects. *The Journ. of Biological Chemistry*. 262 (20): 9895–9901.

Demir, İ., Mavi, K., Özçoban, M. ve Okçu, G., 2003. Effect of Salt Stress on Germination and Seedling Growth in Serially Harvested Aubergine (*Solanum melongena* L.) Seeds During Development. *Israel Journal of Plant Sciences*, 51(2): 125–131.

Demiral T. ve Turkan, I., 2004. Does Exogenous Glycinebetaine Affect Antioxidative System of Rice Seedlings Under Nacl Treatment?. *J. of Plant Physiol.*, 161 (10): 1089–1100.

Devlet İstatistik Enstitüsü, Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer), 2002 verileri, 2005.<http://www.die.gov.tr/turkish/sonist/tarim/t2.xls>,

www.mpiz-koeln.mpg.de/.../ SecalecerealeL.jpg (04. 03.2006)

www.skk.affrc.go.jp/labo/sakkai/breeding/w4.jpg (07.08.2006)

Dinçkaya, E., 1997. Enzimoloji Lisansüstü Yaz Okulu, 21-27 Eylül, Ed. Azmi Telefoncu, Kuşadası, Aydın. 446 s.

Dionisio-Sese, M.L., Tobita, S., 1998. Antioxidant Responses of Rice Seedlings to Salinity Stress. *Plant Science*, 135: 1–9.

Duke, J. A., 1978. The Quest For Tolerant Germplasm. In: ASA Special :Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. Am. Soc. Argom. Madison. WI. 1–61.

Edreva, A., 1998. Molecular Bases of Stress in Plants, Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri. EBİLTEM, 22-26 Haziran, Bornova, İzmir, s: 1–33.

Edreva, A., 2005. Generation and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts: A Submolecular Approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106: 119–133.

Ehmedov, V. ve Sadıqov, S. T., 2001. Bitkilerde Tuz Stersine Cevap Mekanizmasında  $Ca^{2+}$  İyonlarının Rolünün Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

Elkahoui, S., Hernández, J. A., Abdelly, C., Ghrir, R. ve Limam, F., 2005. Effects of Salt on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities of *Catharanthus roseus* Suspension Cells. *Plant Science*, 168: 607–613

Elstner, E. F., 1991. Mechanisms of Oxygen Activation in Different Compartments of Plant Cells İn: Pell, E. J. ve Steffen, K. L., Eds. *Active Oxygen / Oxidative Stress and Plant Metabolism*. American Soc. Plant Physiol. Rockville, M. D., 13–25.

Farr, S. B. ve Kogoma, T., 1991. Oxidative Stress Responses in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Microbiol. Rev.*, 55: 529–532.

Foyer, C. H., Lelandais, M. ve Kunert, K. J., 1994b. Photooxidative Stress in Plants. *Physiol. Plant.*, 92: 696–717.

- Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J., 1994b. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant* 92, 696–717.
- Fridovich, I., 1970. Quantitative Aspects of The Production of Superoxide Anion Radical by Milk Xanthine Oxidase. *J. Biol. Chem.*, 245: 4053–4057.
- Gardner, P. R. ve Fridovich, I., 1991. Superoxide Sensitivity of *Escherichia coli* 6 - Phosphogluconate Dehydratose.. *J. Biol. Chem.*, 266: 1478–1483.
- Giannopolities, N. ve Ries, S. K., 1977. Superoxide Dismutase Occurance in Higher Plants. *Plant Physiol.*, 59: 309–314.
- Giba, Z., 1998. Occurance and Regulatory Roles of Superoxide Anion Radical and Nitric Oxide in Plants. *Jug. Physiol. Pharmacol. Acta.*, 34 (2): 447–461.
- Grant, J. J., ve Loake, G. J., 2000. Role of Reactive Oxygen Intermediates and Cognate Redox Signaling in Disease Resistance. *Plant Physiol*, 124: 21–29.
- Gross, G. G., 1980. The Biochemistry of Lignification. *Adv. Bot. Res.*, 8: 25–63.
- Gross, G. G., Janse, C. ve Elstner, E. F., 1977. Involvement of Malate, Monophenols and Superoxide Radical in Hydrogen Peroxide Formation by İsolated Cell Walls from Horseradish (*Armoracia lapathifolia* Gilib). *Planta*, 136: 271–276.
- Gürel, A. ve Avcıoğlu, R., 2001. Bitkilerde Strese Dayanıklılık Fizyolojisi. Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. *Bitki Biyoteknolojisi II – Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*. (Bölüm 21). 288–325.
- Halliwell, B., ve Gutteridge, J. M. C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, third ed Oxford University Press, Oxford.
- Hilda, P., Graciela, R., Sergio, A., Otto, M., Ingrid, R., Hugo, P. C., Edith, T., Estela, M.D., Guillermina, A., 2003. Salt tolerant tomato plants show increased levels of jasmonic acid. *Plant Growth Regul.*, 41: 149–158.
- Hippeli, S., Heiser, I. ve Elstner, E. F., 1999. Activated Oxygen and Free Oxygen Radicals in Pathology: New Insights and Analogies Between Animals and Plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 37: 167–178.

Imlay, J. A. ve Linn, S., 1986. DNA Damage and Oxygen Radical. *Toxicity. Science*, 240: 1302–1309.

Ivanov, B. ve Khorobrykh, S., 2003. Participation of Photosynthetic Electron Transport in Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species. *Antiox. Redox Signal.*, 5: 43–53.

İnci, F., Öktem, H. A. ve Yücel, M., 1993. Characterization of Superoxide Dismutase İsozymes in Wheat Varieties Under Stress Conditions. Medcampus, Ankara, p: 37–42.

Ježek, P. ve Hlavatá, L., 2005. Mitochondria in Homeostasis of Reactive Oxygen Species in Cell, Tissues, and Organizm. *The İnternational Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37: 2478–2503.

Kadioğlu, A., 1999, Bitki Fizyolojisi, 2. Baskı, 377 sayfa, Trabzon

Knight, H., Trewavas, A. J. ve Knight, M. R., 1997. Calcium Signaling in *Arabidopsis thaliana* Responding to Drought and Salinity. *Plant J.*, 12: 1067–1078.

Knox, J. P., ve Dodge, A. D., 1985. Singlet Oxygen and Plants. *Phytochemistry*, 24: 889–896.

Kwiatowsky J., 1998. Salinity Classification, Mapping and Management in Alberta. Her Majesty the Queen in the Right of Alberta.

Levitt, J., 1980. Responses of plants to Environmental Stresses. Water, Radiation, Salt and Other Stresses, Vol. II 2<sup>nd</sup> Edition, 607 pp. Academic Pres, Inc.

Lindqvist, Y., Branden, C. L., Mathews, F. S. ve Lederer, F., 1991. Spinach Glycolate Oxidase and Yeast Flavocytochrome b<sub>2</sub> Are Structurally Homologous and Evolutionarily Related Enzymes with Distinctly Different Function and Flavin Mononucleotide Binding. *J. Biol. Chem.*, 266: 3198–3207.

Loschen, G., Azzi, A. ve Floheßp, L., 1973. Mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Formation: Relationship with Energy Conversion. *FEBS Lett*, 33: 84–88.

Loschen, G., Azzi, A., Richter, C. ve Floheßp, L., 1974. Superoxide Radicals As Precursors of Mitochondrial Hydrogen Peroxide. *FEBS Lett*, 42: 68–72.

Meloni , D.A., Oliva , M.A., Martinez, C.A., Cambraia, J., 2003. Photosynthesis and Activity of Superoxide Dismutase, Peroxidase And Glutathione Reductase in Cotton Under Salt Stres. *Environmental and Experimental Botany*, 49: 69 – 76.

Misra, N. ve Gupta, A. K., 2005. Effect of Salt Stress on Proline Metabolism in Two High Yielding Genotypes of Green Gram. *Plant Science*, 169: 331–339.

Mittler, R., 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends Plant Sci.*, 7: 405–410.

Morant – Manceu, A, Pradier, E., Trembling, G., 2004, Osmotic adjustment, gas exchanges and chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress, *J. of Plant Physiol.* 161 (1): 25 - 33

Mullineaux, P. M. ve Creissen, P. G., 1997. Glutathion Reductase: Regulation and Role in Oxidative Stress. İn: Scandalios, J. G., Eds. *Oxidative Stress and Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Raleigh. 667–713.

Neto, A.D.A., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Abreu, C.E.B., Gomes-Filho, E., 2005. Effect Of Salt Stress on Antioxidative Enzymes And Lipid Peroxidation in Leaves And Roots of Salt- Tolerant And Salt- Sensitive Maize Genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, (Article in Press).

Niyogi, K.K., 1999. Photoprotection Revisited: Genetic and Molecular Approaches. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50: 333–359.

Oelke, E. A., Oplinger, E. S., Bahri, H., Durgan, B. R., Putnam, D. H. Doll, J. D. ve Kelling K. A., 1990. *Alternative Field Crops Manual*. [www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/index.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/index.html).

Oleinick, N. L., Chiu, S., Ramakrishman, N. ve Xue, L., 1986. The Formation, İdentification and Significance of DNA-Protein Cross - Links in Mammalian Cells. *Brit. J. Cancer* 55. Suppl. 8: 135–140.

Önmez, O., 1994. Konya – Karapınar Kıraç Şartlarında Farklı Sıra Aralıkları Azot ve Fosfor Dozlarının İki Çavdar Çeşidinin (*Secale cereale L.*) Dane Verimi, Kalite Özellikleri, Hasat İndeksi, Verim Unsurları ve Bazı Morfolojik Özellikleri

Üzerine Etkileri Konusunda Bir Araştırma. (Yüksek lisans Tezi). Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Özmen, A. D., Özdemir, F., Türkan, I., 2003. Effects of Paclobutrazol on Response of Two Barley Cultivars to Salt Stress. *Biologia Plantarum*, 46 (2): 263 – 268.

Parida, A. K. ve Das, A. B., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324–349.

Parida, A., Das, A.B. ve 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. *J. Plant Biol.* 45: 28–36.

Plauta, Z., Grava, A., Yehezkel, C. ve Matan, E., 2004. How Do Salinity And Water Stress Affect Transport of Water, Assimilates and Ions to Tomato Fruits?. *Physiologia Plantarum*, 122: 429–442.

Rich, P. R. ve Bonner, W. D. Jr., 1978. The Sites of Superoxide Anion Generation in Higher Plant Mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys*, 188: 206–213.

Saqib, M., Akhtar, J. ve Qureshi, R. H., 2005. Na<sup>+</sup> Exclusion and Salt Resistance of Wheat (*Triticum aestivum*) in Saline - Waterlogged Conditions Are Improved By The Development of Adventitious Nodal Roots and Cortical Root Aerenchyma. *Plant Science*, 169: 125 –130.

Scandalios, J. G., Guan, L. ve Polidoros, A. N., 1997. Catalases in Plants: Gene Structure, Properties, Regulation, and Expression. In: Scandalios, J. G., Eds. *Oxidative Stress and Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Raleigh. 343–445.

Sekmen, A. H., Ozdemir, F. ve Türkan, I., 2004. Effects of Salinity, Light, And Temperature on Seed Germination in A Turkish Endangered Halophyte, *Kalidiopsis wagenitzii* (Chenopodiaceae), *Israel Journal of Plant Sciences*, 52 (1): 21–30.

Singh, K. N. ve Chatrath<sup>1</sup>, R. 2001. Salinity Tolerance Reynolds . In: M.P., J.I. Ortiz-Monasterio, and A. McNab (eds.). *Application of Physiology in Wheat Breeding*. Mexico, D.F.: Cimmyt. Chapter 8 101–110.



Smart, R. E. ve Bingham, G. E., 1974. Rapid Estimates of Relative Water Content. *Plant Physiol.*, 53: 258–260.

Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U., Weschke, W., 2000. Differential Response of Antioxidant Compounds to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Seedlings of Foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiologia Plantarum*, 109: 435 – 442.

Stadtman, E. R., 1986. Oxidation of Proteins by Mixed-Function Oxidation Systems: Implication in Protein Turnover, Aging and Neutrophil Function. *Trends Biochem Sci.*, 11: 11–12.

Steward, F. C., 1963. *Plant Physiology*. Academic Press, 797 p., New York ve London.

Streb, P., Feierabend, J., 1996, Oxidative stress accompanying photoinactivation of catalase in NaCl-treated rye leaves, *Botanica Acta*, 109 (2): 125 – 132.

Taflıoğlu, A. ve Aliyev, R. T., 2002. Tuzluluk ve Kuraklık Stres Faktörlerinin Arpa Genomunda Meydana Getirdiği Değişmeler ve Bu Değişmelere Fitohormonların Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

Thomas, C.E., Mc Lean, L.R., Parker, R.A., Ohlweiler, D.F., 1992. Ascorbate and Phenolic Antioxidant Interactions in Prevention of Liposomal Oxidation. *Lipids* 27, 543–550.

Tıprıdamaz, R., Çakırlar, H. ve Bozcuk, S., 1994. Arpa Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Tuz ve Poliaminlerin Etkisi. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi. Sözel Bildiriler, Edirne, I: 60–68.

Tıprıdamaz, R., Durusoy, M. ve Bozcuk, S., 1995. Effect of Exogenous Polyamines on  $\alpha$  - Amylase Activity During Seed Germination Under Salt Stress. *Tr. J. of Botany*, 19: 411–416.

Tokur, S., 1994, Bitki Yetiştirme Tekniği, T.C. Osmangazi Üniversitesi Yayınları No:1, Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları No:1, Eskişehir, s: 45- 47.

Turrens, J. F., Freeman, B. A. ve Crapo, J. D., 1982. Hyperoxia Increases H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Release by Lung Mitochondria and Microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 217: 411–421.

Türkan, I., 2002. Oksidatif Stres ve Bitkilerde Antioksidant Savunma Sistemleri. *Biyolojik Bilimlerde Araştırma Yöntemleri Yaz Okulu*, 26 Ağustos-01 Eylül Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, s:193.

Türkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. ve Koca, H., 2005. Differential Responses of Lipid Peroxidation and Antioxidants in The Leaves of Drought - Tolerant *P. acutifolius* Gray and Drought - Sensitive *P. Vulgaris* L. Subjected to Polyethylene Glycol Mediated Water Stress. *H. Plant Science*, 168 (1): 223–231.

Van Breusegem, F., Vranova, E., Dat, J.F. ve Inzé, D., 2001. The Role of Active Oxygen Species in Plant Signal Transduction. *Plant Sci.*, 161: 405–414.

Veljović-Jovanović, S., 1998. Active Oxygen Species and Photosynthesis: Mehler and Ascorbate Peroxidase Reactions. *Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta.*, 34 (2): 503–522.

Vianello, A. ve Macri, F., 1991. Generation of Superoxide Anion and Hydrogen Peroxide at Surface of Plant Cells. *J. Bioenerg. Biomemb.*, 23: 409–423.

Wang, Y. ve Nil, N., 2000. Changes in Chlorophyll, Ribulose Biphosphate Carboxylase–Oxygenase, Glycine Betaine Content, Photosynthesis and Transpiration in *Amaranthus Tricolor* Leaves During Salt Stress. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 75: 623–627.

Winicov, I., 1998. New Molecular Approaches to Improving Salt Tolerance in Crop Plants. *Annals of Botany*, 82: 703–710.

Winston, G. W. ve Cederbaum, A. I., 1983. Oxyradical Production by Purified Components of The Liver Microsomal Mixed - Function Oksidase System I: Oxidation of Hydroxyl Radical Scavenging Agents. *J. Biol. Chem.*, 258: 1508–1513.

Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S., ve Xu, C., 2003. Study on The Photogeneration of Superoxide Radicals in Photosystem II With EPR Spin Trapping Techniques. *Photosynth. Res.*, 75: 41–48.

Zhifang, G. ve Loescher, W. H., 2003. Expression of a Celery Mannose 6-Phosphate Reductase in *Arabidopsis thaliana* Enhances Salt Tolerance and Induces Biosynthesis of Both Mannitol and A Glucosyl - Mannitol Dimmer. *Plant Cell Environ.*, 26: 275–283.

Zhu, J. K., 2001. Plant Salt Tolerance. *Trends Plant Sciences*, 6 (2): 66–71.

Zhu, J. K., Shi, J., Singh, U., Wyatt, S. E., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M. ve Capita, N. C., 1993. Enrichment of Vitronectin and Bronectin Like Proteins in NaCl - Adapted Plant Cells and Evidence for Their Involvement in Plasma Membrane - Cell Wall Adhesion. *Plant J.*, 3: 637–646.

Zhu, J. ve Meinzer, F. C., 1999. Efficiency of C-4 photosynthesis in *Atriplex lentiformis* Under Salinity Stress. *Aust. J. Plant Physiol.*, 26: 79–86.

## TABLULAR

Tablo 3.1. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. anatolicum</i> ' da bağıl nem içeriği değişiklikleri.....	48
Tablo 3.2. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. cereale var. ancestrale</i> ' de bağıl nem içeriği değişimleri. ....	49
Tablo 3.3. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>Triticale</i> ' de bağıl nem içeriği değişimleri. ....	50
Tablo 3.4. <i>S. anatolicum</i> çeşidinde protein içeriklerinde zamana bağlı olarak saptanan değişimler (mg protein/g YA).....	51
Tablo 3.5. <i>S. cereale var. ancestrale</i> çeşidinde protein içeriklerinde zamana bağlı olarak saptanan değişimler (mg protein/g YA).....	52
Tablo 3.6. <i>Triticale</i> çeşidinde protein içeriklerinde zamana bağlı olarak saptanan değişimler (mg protein/g YA).....	53
Tablo 3.7. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu . <i>S. anatolicum</i> 'daki total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA). ....	54
Tablo 3.8. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu <i>S. cereale var. ancestrale</i> 'deki total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA).....	55
Tablo 3.9. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu <i>Triticale</i> 'deki total SOD aktiviteleri (U SOD/g YA). ....	56
Tablo 3.10. <i>S. anatolicum</i> çeşidinde zamana bağlı POD aktivitelerindeki değişimler. ....	57
Tablo 3.11. <i>S. cereale var. ancestrale</i> çeşidinde zamana bağlı POD aktivitelerindeki değişimler (mg/ml/dk/perox). ....	58
Tablo 3.12. <i>Triticale</i> çeşidinde zamana bağlı POD aktivitelerindeki değişimler. ....	59

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Secale cereale bitkisinin genel yapısı. ....	4
Şekil 1.2. Çavdarın orjin bölgeleri. ....	5
Şekil 1.3. Stres faktörleri ve aralarındaki etkileşimleri .....	10
Şekil 1.4. ROT'nin oluşumuna neden olan olaylar. ....	13
Şekil 1.5. Temel haldeki moleküler oksijen. ....	14
Şekil 1.6. Temel haldeki O <sub>2</sub> ' in oksidize olmuş molekül ile reaksiyonu .....	14
Şekil 1.7. Dioksijenin ardarda 4 adımda oluşan monoelektron redüksiyonu 2 H <sub>2</sub> O ve reaktif oksijen ara ürünleri meydana gelir. ....	15
Şekil 1.8. Bir geçiş metali ile gerçekleşebilecek reaksiyonlar .....	16
Şekil 1.9. Haber – Weiss Döngüsü . ....	17
Şekil 1.10. Triplet haldeki klorofil (T*) ile dioksijenin (O <sub>2</sub> ) etkileşimi ile singlet oksijenin ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> ) üretimi. ....	19
Şekil 1.11. Mitokondrial ETS (a) ve Kloroplast ETS (b)' inde ROT üretimi .....	22
Şekil 1.12. Membran Lipit Peroksidasyonu. ....	30
Şekil 1.13. Halliwell-Asada yolu ya da askorbat-glutasyon döngüsü. ....	38
Şekil 1.14 Su – Su Döngüsü. ....	38
Şekil 1.15. Bitki hücresinde SOD lokalizasyonu .....	40
Şekil 1.16. Süperoksit serbest radikalının dismutasyonu .....	43
Şekil 1.17. Su – Su Döngüsü. ....	44
Şekil 3.1. Tuz stresine maruz kalmış <i>S. anatolicum</i> ' da bağıl nem içeriğinde ortaya çıkan değişimler .....	48
Şekil 3.2. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. cereale</i> var. <i>ancestrale</i> ' de bağıl nem içeriğinde ortaya çıkan değişimler. ....	49
Şekil 3.3. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>Triticale</i> ' de bağıl nem içeriğinde ortaya çıkan değişimler. ....	50
Şekil 3.4. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. anatolicum</i> ' da toplam protein içeriğinde ortaya çıkan değişimler. ....	51
Şekil 3.5. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. cereale</i> var. <i>ancestrale</i> ' de toplam protein içeriğinde ortaya çıkan değişimler. ....	52
Şekil 3.6. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>Triticale</i> ' de toplam protein içeriğinde ortaya çıkan değişimler. ....	53
Şekil 3.7. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. anatolicum</i> ' da toplam SOD miktarında ortaya çıkan değişimler. ....	54
Şekil 3.8. Tuz stresine maruz bırakılmış ve kontrol grubu <i>S. cereale</i> var. <i>ancestrale</i> ' de toplam SOD miktarında ortaya çıkan değişimler. ....	55
Şekil 3.9. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>Triticale</i> ' de toplam SOD miktarında ortaya çıkan değişimler. ....	56
Şekil 3.10. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. anatolicum</i> ' da toplam POD aktivitesinde meydana gelen değişimler. ....	57
Şekil 3.11. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>S. cereale</i> var. <i>ancestrale</i> ' de toplam POD aktivitesinde meydana gelen değişimler. ....	58
Şekil 3.12. Tuz stresine maruz bırakılmış <i>Triticale</i> ' de toplam POD aktivitesinde meydana gelen değişimler. ....	59

## Yaşam Öyküsü

Adı Soyadı: Filiz BAYKAL

Doğum Yeri ve Yılı: İzmir- 1981

Eğitim Durumu:

İlkokul: 1987-1992 Yavuz Selim İlkokulu

Ortaokul: 1992-1995 Suphi Koyuncuoğlu Orta Okulu

Lise: 1995-1999 Hayrettin Duran Lisesi

Üniversite: 1999- 2003 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat  
Fakültesi Biyoloji Bölümü

Katıldığı kurslar:

Biyoloji Bilimlerinde Araştırma Yöntemleri

ICP- AES Kullanımı