

سکریپ

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NaCl STRESİ ALTINDA BIRAKILAN BUĞDAY BİTKİLERİNİN
PROTEİN PROFİLLERİ

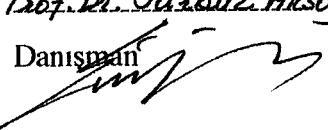
Seyit Ahmet OYMAK

Prof. Dr. M. Yaşar ÜNLÜ
Enstitü Müdürü

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

V.G. YÖKSEK ÖĞRETMENLİK
DOKTORANTASYON MERKEZİ

Bu tez .../.../ 1995 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Değerlendirilerek Oybirligi/Oy
Çokluğu ile kabul edilmiştir.

(İmza)
Prof. Dr. Gülbüz Aksoy
Danışman


(İmza)
Prof. Dr. Yaşar Ahlu
Başkan


(İmza)
Doç. Dr. Cumhur Gökmüş


ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NaCl STRESİ ALTINDA BIRAKILAN BUĞDAY BITKİLERİNİN PROTEİN PROFİLLERİ

Seyit Ahmet OYMAK

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

1995, Sayfa : 46

Bu araştırmada; BEZOSTAYA-I, GEREK-79 ve TOSUN-144 buğday çeşitlerinin NaCl stresi altında (50-1000 mM) çimlenme yetenekleri, gelişmeleri, protein profilleri yönünden incelenmiştir. NaCl uygulamaları kumda iki şekilde yapılmıştır: Birincisinde; NaCl uygulamasına tohum ekimi aşamasında, ikincisinde ise fide devresinde başlanmıştır. 250 mM ve daha yüksek NaCl konsantrasyonları her üç çeşidin de çimlenmesini önlemiştir. Aynı zamanda bitki büyümesi de NaCl konsantrasyonunun artmasıyla engellenmiştir. En fazla bulunan 49-50 kD ve 16-17 kD protein bandları NaCl konsantrasyonunun artmasıyla azalmıştır. Diğer taraftan, 50 mM NaCl uygulamasında 24 saat sonra BEZOSTAYA fidelerinde büyük molekül ağırlıklı yeni bir protein bandı tesbit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER : Buğday, Tuzluluk, Protein

ABSTRACT**Masters Thesis****PROTEIN PROFILES OF
WHEAT CULTIVARS UNDER NaCl - STRESS.****Seyit Ahmet OYMAK**

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

1995, Page:.46..

Wheat cultivars, BEZOSTAYA-I, GEREK-79 and TOSUN-144 were examined for their ability of germination growth and protein profiles under NaCl - stress (50-1000 mM). NaCl treatments were carried out in sand in two ways: First, NaCl treatment was started at the stage of sowing, and second, at the stage of seedlings. 250 mM and higher concentrations of NaCl inhibited germination of three cultivars. Plant growth was also retarded by increasing of NaCl concentration. The most dominant protein bands of 49-50 kD and 16-17 kD were decreased by increasing the NaCl concentration. On the other hand, in BEZOSTAYA seedlings, a new protein band which has high molecular weight was recorded after 24 hr in 50 mM NaCl application.

KEY WORDS : Wheat, Salinity, Protein.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın gerçekleştirilmesinde her türlü kolaylığı sağlayan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof.Dr.Gürbüz AKSOY'a, araştırmamın uygulanması ve değerlendirilmesine büyük emeği geçen Sayın Doç.Dr.Cumhur ÇÖKMÜŞ'e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi), laboratuvar çalışmaları ve diğer konularda yardımlarını esirgemeyen Araştırma Görevlisi Sefa Can SAÇILIK, Esma YOLCU ve Yüksel KELEŞ'e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi); sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımcı olan Araştırma Görevlisi Sayın M.Ali YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi) ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümündeki tüm hocalarına ve çalışanlarına içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
TABLOLAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
GRAFİKLER LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. MATERİYAL VE METOD	5
2.1. Materyal	5
2.1.1. Bitki materyali	5
2.1.2. Bitki besin çözeltisi	5
2.1.3. Protein ekstrasyonu için kullanılan tampon	7
2.1.4. Sodyum Dodesil Sülfat — Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE) için stok çözeltiler	7
2.1.4.1. Acrylamid / Bisacrylamid stok çözeltisi	7
2.1.4.2. Ayırma (resolving) jel tamponu (1.5 M Tris-HCl, pH = 8.6)	7
2.1.4.3. Yığma (stacking) jel tamponu (0.5 M Tris - HCl, pH 6.8)	7
2.1.4.4. Amonyum Persülfat çözeltisi (%10 gr/ml)	8
2.1.4.5. Tetra étil Metilen di amin (TEMED)	8
2.1.4.6. Suyla doyurulmuş Butanol	8
2.1.4.7. Koşturma (running) tamponu (pH = 8.3)	8
2.1.4.8. Boyama (staining) çözeltisi	8
2.1.4.9. Boya çıkarma (destaining çözeltisi)	9
2.1.4.10. Örnek tamponu (SDS sample buffer) (4x)	9
2.2. Metod	9
2.2.1. Buğday tohumlarının yüzeysel sterilizasyonu	9
2.2.2. Bitki yetiştirme ortamı olarak kumun hazırlanması	9
2.2.3. Yetiştirme kapları	10

	Sayfa
2.2.4. Hoagland besin çözeltisinin hazırlanması	10
2.2.5. NaCl'lü Hoagland besin çözeltisinin hazırlanması	10
2.2.6. Bitkilerin yetiştirilmesi.....	10
2.2.7. Deneysel koşullar	11
2.2.8. Yaprak örneklerinin alınması	11
2.2.9. Yaprak örneklerinin muhafazası.....	11
2.2.10. Protein ekstraksiyonu.....	11
2.2.10.1. Uygun pH'in belirlenmesi için yapılan ekstraksiyon	11
2.2.10.2. Protein profilleri için yapılan ekstraksiyon.....	12
2.2.11. SDS—PAGE'in yapılması	12
2.2.11.1. Jelin hazırlanması	12
2.2.11.2. Spot test.....	13
2.2.11.3. Örneklerin jel'e uygulanması	13
2.2.12. Resimlerin çekilmesi	13
2.2.13. İstatistiksel değerlendirme.....	13
3. SONUÇLAR	14
3.1. NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında Çimlenme ve Bitki Gelişimi Üzerine Etkisi	14
3.2. NaCl Tuzluluğunun Fide Evresinde Uygulandığında Bitki Gelişimi Üzerine Etkisi	19
3.3. Protein Ekstraksiyonu İçin En Uygun pH'in Belirlenmesi	24
3.4. NaCl Tuzluluğunun Protein Profillerine Etkisi	25
4. TARTIŞMA.....	31
KAYNAKLAR.....	33
EKLER	35

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1 : TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin Bazı Agronomik Özellikleri	6
Tablo 2 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi... .	14
Tablo 3 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında GEREK-79 Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi.	14
Tablo 4 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi.	15
Tablo 5 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	16
Tablo 6 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	16
Tablo 7 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.	17
Tablo 8 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	20
Tablo 9 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	20
Tablo 10: Fide Evresinde NaCl Uygulamasının BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	21

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : TOSUN-144 Buğday Çeşidinde Ekimden itibaren 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik NaCl Uygulamasının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	18
Şekil 2 : GEREK-79 Buğday Çeşidinde Ekimden itibaren 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik NaCl Uygulamasının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	18
Şekil 3 : BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinde Ekimden itibaren 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik NaCl Uygulamasının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	19
Şekil 4 : Fide Devresinde 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM NaCl Uygulamasının TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkisi.....	22
Şekil 5 : Fide Devresinde 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM NaCl Uygulamasının GEREK-7 Buğday Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkisi.....	22
Şekil 6 : Fide Devresinde 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM NaCl Uygulamasının BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkisi.....	23
Şekil 7 : 0.1 M Tris-HCl Tampon pH'sının Protein Ekstraktibilitesi Üzerine Etkisi.....	24
Şekil 8 : Tohum Ekiminden İtibaren Tuz Uygulamasının BEZOSTAYA-I ve GEREK-79 Protein Profili Üzerine Etkisi.....	25
Şekil 9 : Tohum Ekiminden İtibaren Tuz Uygulamasının TOSUN-144 Protein Profili Üzerine Etkisi.....	26
Şekil 10: Fide Evresinde Tuz Uygulamasının GEREK-79 Protein Profili Üzerine Etkisi	27
Şekil 11: Fide Evresinde Tuz Uygulamasının BEZOSTAYA-I Protein Profili Üzerine Etkisi.....	28
Şekil 12: Fide Evresinde Tuz Uygulamasının TOSUN-144 Protein Profili Üzerine Etkisi.....	29
Şekil 13: Fide Evresinde Tuz Uygulamasının BEZOSTAYA-I Protein Profili Üzerine Etkisiyle Ortaya Çıkan Yeni Bandın Büyütlümüş Görüntüsü.....	30

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	35
Grafik 2: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında GEREK-79 Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	36
Grafik 3: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	37
Grafik 4: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	38
Grafik 5: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	39
Grafik 6: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi..	40
Grafik 7: Fide Evresinde NaCl Uygulamasının TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	41
Grafik 8: Fide Evresinde NaCl Uygulamasının GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	42
Grafik 9: Fide Evresinde NaCl Uygulamasının BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi.....	43
Grafik 10: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin Ortalama Çimlenme Oranları	44
Grafik 11: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin Ortalama Boy Oranları	45
Grafik 10: Fide Evresinde NaCl Uygulamasının TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin Ortalama Boy Oranları	46

GİRİŞ

Türkiye, nüfusu hızla artan ve beslenmesinin temelini tarımsal ürünlerin oluşturduğu bir ülkedir. Buna bağlı olarak oluşan ihtiyaca cevap verme zorunluluğu araştırcıları uygun olmayan çevre koşullarında bu ortama uyum sağlayan bitki türlerini belirlemeye yöneltmiştir.

Sahip olduğu coğrafi konum itibarıyle Türkiye düzensiz bir yağış rejimine sahiptir. Topraklarının yarısından fazlası kurak ve yarıkurak özellik göstermektedir. Yağışların mevsimlere ve aylara göre dağılımının bölgeden bölgeye değişmesi ve ortalama yıllık yağış miktarının yıldan yıla büyük farklılıklar göstermesi toplam üretimi önemli ölçüde etkilemektedir. Yapılan istatistiklere göre Türkiye'de 17.7 milyon hektar tarıma elverişsiz alanın bulunduğu ve 4.9 milyon hektardan fazla toprağın da kullanılmadığı saptanmıştır. (2).

Günümüzde buğday ekim alanını arttırma olanağı kısıtlı olduğundan, üretim miktarında artış sağlamak için birim alandan verimi artırma yönünde çalışmaların yapılması zorunludur. Bunu başarabilmek için ise iklim ve toprak koşullarına maksimum derecede uyum sağlayabilen yeni çeşitlerin ıslah edilmesi en uygun yol olabilir. Bu aşamada materyallerin seçilmesi için bitkinin tuz ve su stresi ile ilişkilerini, yani tuz ve su stresinin bitki büyümeye ve gelişmesi üzerindeki etki mekanizmalarının anlaşılması zorunluluğu vardır.

Literatürlerden elde edilen bilgilere göre bu ilişkilere araştırmalarda büyük önem verildiği görülmektedir. Buna karşılık Türkiye'de bu konu üzerinde yeterli çalışmanın yapıldığını söylemek olanaksızdır.

Büyüme ve gelişmeleri boyunca bitkiler çevresel stres olarak bilinen sıcaklık, kuraklık, soğuk, anaerobik şartlar ve tuzluluğa maruz kalırlar. Bunlardan etkin stres olarak bilinen tuz stresi tarımsal üretimi büyük oranda etkilemektedir.(8). Bitkilerin tuz maruz kalmaları iki şekilde meydana gelebilir. Birincisi; bitkilerin normalde tuzlu olan tarım alanlarına ekilmesi, ikincisi ise sulu tarım yapılan alanlarda gerek sulama tekniğinin yanlışlığı ve gerekse sulama suyunun tuz oranının yüksek olması nedeniyle tuz stresiyle karşılaşmalarıdır.

Tuz stresine maruz kalan bitkiler çok çeşitli şekillerde etkilenirler ve bitkilerin anatomik, fizyolojik ve moleküler mekanizmalarında değişiklikler meydana gelir. Kültür bitkilerinin tümü tuzla az ya da çok duyarlıdır. Tuza karşı gösterdikleri tolerans ise aynı cinse bağlı türler arasında farklı olabileceği gibi aynı türün varyeteleri arasında bile değişiklik gösterebilir. (11).

Ortamdağı nonspesifik tuz konsantrasyonunu artırarak bitki büyümeye baskınlığında ilk ortaya çıkan etki ozmotik strestir. (3). Oluşan su stresi durumunda solunum, protein sentezi ve özümleme ürünlerinin taşınması gibi başka metabolizma olaylarına da ket vurulur.(12).

Yetiştiirdikleri ortamda tuzun doğal olarak bulunması ya da sulama sonucunda miktarının artması, bitki büyümeyi kısıtlar. Bu kısıtlama ise kök ortamında bulunan suyun ozmotik basıncının artmasına ya da özgün iyon etkisine bağlı olabilir.(11).

Bitkilerin tepkileri hem hücresel hem de organizmik seviyede kompleks bir olaydır. Hücresel seviyede; köklerin çevresi tuzlu ise çevrenin ozmotik basıncını artırarak suyun emilme kabiliyetini azaltır. Böylece bitki suyun emilimi için daha fazla enerji sarfeder. Bu etki de büyümeye düşüse neden olur. Ayrıca tuzluluk, dış ortamdağı çözeltinin su aktivitesi ve hücrenin fizyolojik ve biyokimyasal işlevlerini de etkiler. Bu etkiler ise bitkide turgorlulukta azalma, fotosentezin engellenmesi, membran işlevlerinin ve enzim aktivitesinin inhibasyonu, taşıyıcı mekanizmaların yetersizliğine bağlı iyon eksikliğinin artması gibi olumsuz durumların ortaya çıkmasına yol açar.(9) Ayrıca toleransın sağlanması ile ilgili büyümeye dışı olaylar için gerekli metabolik enerji kullanımının artmasına neden olur.(23).

Bitkilerin kök ortamındaki ozmotik basınç değişimlerine karşı içsel ozmotik durumlarını ayarlayabilmek için özel mekanizmalara sahip olmaları gereklidir. Bu mekanizmalardan en önemlisi ise ozmotik uyumdur. Bitkilerde ozmotik uyum terimi tuzluluk ya da su eksikliğine karşı iyonların, serbest amino asitlerin ve çözünebilir şekerlerin aktif birikimi ile ozmotik potansiyelin düşürülmesini ifade eder.(21).

Hücrelerde aktif madde birikimi, tahminen suyun hücre zarından dışarıya doğru hareketini engellemekte ve hücre içinde dış ortamda olabilecek değişimlere benzer değişimler meydana getirmektedir. Böylece hücrelerin içlerindeki çözünen / çözücü oranını değiştirerek dış ortamla ozmotik uyumlarını sağladıkları düşünülmektedir. Tuz ve su stresine karşı gösterdikleri tepkilerin dereceleri bakımından bitkiler arasında kantitatif farklılıkların olduğu bildirilmiştir.(20).

Mineral metabolizmada tuzluluğun tuzlu çevreye karşı tipik cevapları $\text{Na}^+—\text{Cl}^-$ 'ü yüksek konsantrasyonlarda intrasellüler olarak biriktirmeleridir.(1).

Tuzluluk ve kuraklık sonucu toprakta meydana gelen düşük su potansiyeli bitki büyümeye için gerekli su alınımını sınırlar. Bitkiler hücre içi ozmotik bileşiklerin konsantrasyonunu artırarak bu güçlüğü yenerler.(6)

Stres koşullarında su kaybını önlemek için bitkilerin madde biriktirmeye gereksinimi olduğu tezi (savı) geçerli görülmektedir. Buna karşılık glikofitlerde tuz zararının fazla iyon biriktirmesine bağlı olduğunu ve madde birikiminin büyümeyi inhibe ettiğini gösteren kanıtlar da giderek artmaktadır.(21)

Stresin neden olduğu çeşitli fizyolojik değişiklikler hücresel ozmolaritedeki artış ve stomanın kapanması, ABA (Absisik asit) seviyesindeki bir artışı içerdiği belgelenmiştir. ABA'daki artış daha fazla su kaybının önlenmesi için stomaların kapanmasıyla ilgili olduğu görülür.(10). Yine ABA üretiminin birçok çevresel strese karşı ortak bir karşılık olduğu iddia edilmiştir.(5).

Yüksek yapılı bitkilerin önemli bir kısmının dokularında nitratin nitrite indirgenmesi nitrat redüktaz tarafından katalize edilir. Bu enzim NADP'yi elektron vericisi olarak kullanır. Nitrat redüktazın çevresel değişikliklere karşı çok hızlı cevap verdiği bilinir. Nitrat redüktaz aktivitesinin yönlendirilmiş değişimlerdeki farklılığının ekstrem durumlarda meydana geldiği bildirilmiştir.(13)

Kurak çevrelere karşı metabolik bir adaptasyon için susuzluk veya yüksek seviyedeki NaCl ile bitkileri sulayarak fakultatif halofit bitkilerin oluşması mümkündür. (4).

Tuz stresi altında değişen gen ekspresyonu, transkripsiyon ve post translasyon seviyesinde oluşur. Pek çok gen ekspresyonu değişmez fakat gen ekspresyonunun düzenlenmesi belirli genlerin sentezinin baskılanması veya arttırılması şeklinde değişir. Çalışmalarda arpa kökünün toplam mRNA'sı azalmış, 21 yeni RNA türü üretilmiş ve diğer bir kaçı da inhibe edilmiştir. (17).

NaCl stresi bazı genlerin ekspresyon düzeylerini etkiler. Tütün hücrelerinin tuza adaptasyonu bazı proteinlerin artmasına, özellikle molekül ağırlığı 26 kD olan proteinlerin artmasına neden olur.

Proteinlerdeki değişimler (birçok protein sentezinin engellenmesinden yeni protein gruplarının indüksiyonuna kadar) ısı şoku, oksijensizlik, su stresi, soğuk iklim ve tuz stresi gibi bazı çevresel streslerin sonucu olabilir.(14).

Su stresine adaptasyon organizmaların dehidratasyon etkilerine karşı koymada önemli bir biyolojik işlemdir. Bu tür adaptasyon halofitler arasında gözlenir.(7).

Tuzluluk probleminin çözümünde iki yaklaşım gözlenir. Bunlar teknolojik ve biyolojik çözüm olarak karşımıza çıkar. Teknolojik çözüm su ve toprak yönetimindeki sulama yöntemlerindeki ve tuzsuzlaştırıldıkları gelişmeleri kapsamaktadır. Biyolojik çalışmalar ise halofitlerin tuza dayanıklılık karakterlerinin tarım bitkilerine, özellikle glikofitlere uygulanmasını içerir.(9). Bu nedenle günümüzde genetik olarak tuza daya-

nukli bitki çeşitlerinin yetiştirilmesi için büyük çaba harcanmaktadır.

Ayrıca bazı çalışmalarda ek uygulamalarla tuz stresinin çimlenme ve enzim aktiviteleri üzerine etkileri incelenerek anlamlı sonuçlar alınmıştır.(6).

Biyoteknoloji alanındaki son gelişmeler sayesinde rekombinant DNA yöntemlerini kullanarak gen transformasyonunu, protoplast birleştirme yöntemi ile veya somatik hücre seçiminin kullanılmasıyla tuza dayanıklı bitki genotiplerini elde etme potansiyeli ortaya çıkmıştır.(9).

Ayrıca yapılan bir diğer çalışmada besin çözeltisinde büyütülen kişlik buğday bitkilerinde soğuk iklim koşullarında tuz stresinin etkileri gösterilmiştir.(19).

Stresin bitki metabolizması üzerindeki olumsuz etkileri ve bu etkiler altında bitkilerin yaşamlarını sürdürmekteki rolü hakkında pek çok araştırma yapılmasına rağmen günümüzde bu olaylar tam olarak aydınlatılmıştır.(22). Bu nedenle strese dayanıklı bitkiler yetiştirmeyi sağlayacak bir ıslah stratejisi henüz geliştirilememiştir.(15).

Bugüne kadar strese dayanıklı bitki varyetelerinin seçimi için geleneksel ıslah yöntemleri kullanılmıştır. Bununla birlikte tuzluluğa ve kuraklığa daha dayanıklı olan bitkilerin kullandıkları adaptif mekanizmaların anlaşılması, geleneksel ıslah tekniklerinin etkinliğini daha da artıracaktır.(14).

Bu çalışmada, Türkiye'de yetiştirciliği yapılan TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I buğday çeşitlerine, kum kültüründe NaCl'ün, çimlenme ve büyümeye etkisi ve SDS-PAGE ile yaprak protein profillerine etkilerini araştırmak hedeflenmiştir.

2. MATERİYAL ve METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Bitki materyali

Bu çalışmada daha önceki çalışmalarında tuz stresine farklı duyarlılık gösteren buğday çeşitleri kullanılmıştır. Bunun için, benzeri çeşitlerinin özelliklerini gösteren TOSUN-144 (*Triticum aestivum var. ferrugineum*), GEREK-79 (*Triticum aestivum var. erythroleucon*) ve BEZOSTAYA-I (*Triticum aestivum var.lutescens al.*) deney materyali olarak seçilmiş ve tohumlar 1993 mahsülü olup Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümünden temin edilmiştir.

TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I buğday çeşitlerinin bazı agronomik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

2.1.2. Bitki besin çözeltisi

Bu çalışmada bitkileri geliştirmek için aşağıda bileşimi verilen Hoagland besin çözeltisi kullanılmıştır.

Hoagland besin çözeltisinin bileşimi

Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	0.005 M
KNO ₃	0.005 M
KH ₂ PO ₄	0.001 M
Mg SO ₄ .7H ₂ O	0.001 M
Mg HPO ₄ . 3H ₂ O	0.001 M
C ₆ H ₅ Fe O ₇ 5H ₂ O	0.0014 M
Mn Cl ₂ . 4H ₂ O	0.000009 M
H ₃ BO ₃	0.000046 M
Zn Cl ₂	0.000008 M
Cu Cl ₂ . H ₂ O	0.0000002 M

Tablo 1 . TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin Bazı Agronomik Özellikleri

Varyete	Orijini	Islah Yöntemi	Biyolojik Özellikleri	Bazı Morfolojik Özellikleri			Bazı Tarımsal Özellikleri			Teknolojik Özellikleri
				Büyük Uzunluğu	Çapı	Kısa Dayanma	Kuraklığa Dayanma	Erken ciligi		
TOSUN-144	A Ü.Ziraat Fakültesi (Türkiye)	Melezleme	Kışlık	90-110 cm.	9-9.5 cm.	Kırcıklı	Çok iyi	Orta	Erkenci	Ekmekeklik
GERET-79	Eskişehir (Türkiye)	Melezleme	Kışlık	90-100 cm.	Orta	Kırcıklı	Yüksek	Orta	Erkenci	Orta Ekmekeklik
BEZOSTAYA-I	Kresnodar (Rusya)	Melezleme	Kışlık	70-80 cm.	Orta	Kılçiksız	Çok iyi	Orta	Orta	Ekmekeklik

2.1.3. Protein ekstraksiyonu için kullanılan tampon :

Yapraklardan protein ekstraksiyonu için 0,1 M Tris-HCl pH=8.5 kullanılmıştır.

2.1.4. Sodyum Dodesil Sülfat—Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS—PAGE) için stok çözeltiler:

2.1.4.1. Acrylamid / Bisacrylamid stok çözeltisi

Acrylamid	28.8 gr.
Bisacrylamid	1.2 gr.
Distile su	100 ml.

Acrylamid, Bisacrylamid gerekli miktarda tartılır, 60-70 ml distile su ile çözülür ve 100 ml'ye tamamlanarak Whatman No:1 filtre kağıdından süzülür. Çözelti +4C° de saklanır.

2.1.4.2. Ayırma (Resolving) jel tamponu (1.5 M Tris—HCl, pH=8.6)

Trizma Base	36.33 gr.
SDS	0.80 gr.

Trizma base ve SDS 150 ml'de çözünlerek pH HCl ile 8.6'ya ayarlanır. Distile su ile 200 ml'ye tamamlanır ve Whatman No:1 filtre kağıdından süzülür.

2.1.4.3. Yığma (Stacking) jel tamponu (0.5 M Tris—HCl, pH = 6.8)

Trizma base ve SDS 75 ml distile su içerisinde çözünlerek pH'sı HCl ile 6.8'e ayarlanır. Daha sonra Distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak Whatman No:1 filtre kağıdından süzülür.

2.1.4.4. Amonyum Persülfat çözeltisi (% 10 gr/ml)

Amonyum Persülfat	1gr.
Distile Su	10 ml.

Amonyum Persülfat çözeltisi taze olarak % 10'luk hazırlanır ve +4C°'de en fazla 1 hafta bekletilir.

2.1.4.5. Tetra étil Metilen di amin (TEMED)

Sigma firmasından hazır olarak temin edilir.

2.1.4.6. Suyla doyurulmuş Butanol

10 ml distile suya 3-4 ml butanol ilave edilerek iyice çalkalanır. Bir müddet sonra üst kısmında toplanan Butanol'den kullanılır.

2.1.4.7. Koşturma (Running) tamponu (pH = 8.3)

Trisma Base	1.21 gr.
Glisin	5.76 gr
SDS	1.00 gr.
Distile Su	1.000 ml

Gerekli maddeler distile suda çözülmerek direkt kullanılır.

2.1.4.8. Boyama (Staining) çözeltisi

Coomasive Brilliant Blue R250	1.50 gr.
İzopropil Alkol	250 ml.
Asetik Asit	100 ml.
Distile Su	650 ml.

2.1.4.9. Boya çıkışma (Destaining) çözeltisi

İzopropil Alkol	250 ml.
Asetik Asit	100 ml.
Distile Su	650 ml.

2.1.4.10. Örnek tamponu (SDS Sample Buffer) (4x)

0.5 Tris HCl pH 6.8	5.12 ml.
Gliserol	8.00 ml.
Distile Su	3.00 ml.
SDS	2.00 gr.
2-Merkopto etanol	4.00 ml.
Bromofenol blue % 0.05 (W/V)	0.20 ml.

Bu karışım oda ısısında saklanır. 3 kısım protein örneği ile 1 kısım örnek tamponu karıştırılarak kullanılır.

2.2.Metod

2.2.1. Buğday tohumlarının yüzeysel sterilizasyonu

Çalışmaya yetecek miktarda tohumlar tel eleğe konarak % 1'lik Hipokloritde 3 dakika bekletildikten sonra steril saf su ile iyice yıkandı.

2.2.2. Bitki yetiştirmeye ortamı olarak kumun hazırlanması

Çalışmada kuvars kumu kullanılmıştır. Kum önce büyük delikli elekten geçirilerek kaba parçalar ayrılmış, daha sonra iki farklı elekten geçirilerek partikül büyüğlüğü 1 mm - 4 mm arasında olan kum ayrılmıştır. Kum çesme suyu ile yıkandıktan sonra tel elek yardımı ile kum üzerindeki organik madde ve kirecin temizlenmesi için % 16'lık HCl'den geçirildi. Daha sonra, HCl tamamen temizlenin-

ceye kadar musluk suyu ile yıkandı. Son olarak saf su ile yıkandıktan sonra kurumaya bırakıldı.

2.2.3. Yetiştirme kapları

Bitki yetiştirme kabı olarak 150 cm³ hacmindeki plastik kaplar kullanıldı. Her kaba 200 gr kum konuldu.

2.2.4. Hoagland besin çözeltisinin hazırlanması

100'er ml stok olarak hazırlanan Hoagland çözeltisi deneyin çeşitli aşamalarında seyreltilerek kullanılmıştır. Çözeltinin pH'sı 6.50-7.00'ye ayarlanmıştır. Çözelti kullanılincaya kadar renkli cam şişede buzdolabında +4°C'de saklanmıştır.

2.2.5. NaCl'lü hoagland besin çözeltisinin hazırlanması

Stok besin çözeltisinden gerekli miktar alınarak 50, 100, 250, 500 ve 1.000 mM olacak şekilde NaCl ilave edilip beş ayrı konsantrasyonda NaCl'lü Hoagland besin çözeltisi hazırlanmıştır.

2.2.6. Bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışma iki farklı şekilde planlanmıştır :

a- Tohum Ekiminden İtibaren Tuz Uygulaması ; Her kaba 30 adet sağlıklı tohum ekilmiş ve kontrol ile (NaCl içermeyen Hoagland çözeltisi) 50, 100, 250, 500 ve 1.000 mM NaCl içeren Hoagland çözeltileri 5 paralelli olarak her kaba 50 ml olacak şekilde uygulama yapılmıştır.

b- Fide Devresinde Tuz Uygulaması; Tohumlar 15 x 45 cm boyutunda büyük plastik saksıdaki kuma ekilmiş ve su ile sulanmıştır. Ekimin 6. gününde fideler 1. grup deney devresinde hazırlanan kaplara şaşırtılmıştır. Her kaba 15 fide yerleştirilmiş ve 1. deneyde olduğu gibi 50'şer ml çözelti ile sulanmıştır.

2.2.7. Deneysel koşullar

Bitkilerin yetiştirilmesi sera koşullarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma boyunca ortam sıcaklığı gündüz 16-25°C , gece 6-12°C düzeyinde seyretmiştir.

2.2.8. Yaprak örneklerinin alınması

I. Deney

- Birinci Örnek..... Tuz uygulamasından 7 gün sonra
İkinci Örnek..... Tuz uygulamasından 11 gün sonra
Üçüncü Örnek..... Tuz uygulamasından 13 gün sonra

II. Deney

- Birinci Örnek..... Şaşırma yapıldığında
İkinci Örnek..... Tuz uygulamasından 1 gün sonra
Üçüncü Örnek..... Tuz uygulamasından 5 gün sonra
Dördüncü Örnek..... Tuz uygulamasından 7 gün sonra

2.2.9. Yaprak örneklerinin muhafazası

Alınan yaprak örnekleri ağızı kilitlenebilen naylon torbalara konarak ekstraksiyona kadar - 20°C soğutucuda muhafaza edilmiştir.

2.2.10. Protein ekstraksiyonu

2.2.10.1. Uygun pH'mının belirlenmesi için yapılan ekstraksiyon

Protein ekstraksiyonunda kullanılacak Tris-HCl'in uygun pH'sını tespit için 6, 7, 8, 9 ve 10 pH'da beş ayrı Tris-HCl tamponu hazırlandı.

Rastgele seçilen bir yaprak örneği bu pH'lardaki tamponda ayrı ayrı havan içerisinde iyice ezildi. Madde mikrosüje alınarak ağırlıkları eşitlendi. Mikrosantrifüjde 15000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi. Üstteki süpernetanttan 150 µl alınarak başka bir

mikrofüje konuldu. Üzerine 50 µl SDS simple buffer kondu. Ekstrakt 5 dakika kaynatılarak Elektroforeze hazır hale getirildi.

Elektroforez sonucunda en uygun pH'nın 8.5 civarında olduğu tespit edilmiştir.

2.2.10.2. Protein profilleri için yapılan ekstraksiyon

Uygun pH belirlendikten sonra pH 8.5'da Tris-HCl tamponu hazırlandı. Yaprak örneklerinden 0.13 gr alınarak 600 µl Tris-HCl ile muamele edildi. Diğer yaprak örneklerinin extraksiyonunda da bu oran muhafaza edildi. Diğer işlemler pH tespiti ile aynı şekilde tekrarlandı. Santrifüj 15000 rpm'de 3 dk. olarak uygulandı.

2.2.11. SDS-PAGE'in yapılması (27)

2.2.11.1. Jelin hazırlanması

a- Ayırma (Resolving) Jel

Acrylamid / Bisacrylamid % 30	5.78 ml.
bidestile su	7.13 ml.
1.5 M Tris-HCl pH 8.6	4.33 ml.
% 10'luk Amonyum Persülfat	86.7 µl.
TEMED	8.16 µl

b- Yiğma (stacking) Jel

Acrylamid / Bisacrylamid % 30	0.82 ml.
bidestile su	2.93 ml.
0.5 M Tris-HCl pH 6.8	1.25 ml.
% 10'luk Amonyum Persülfat	30 µl.
TEMED	5 µl.

Ayırma jel maddeleri sırasıyla bir erlene konur ve karıştırılır. Daha önce hazırlanmış olan düzeneğe bir pipet yardımıyla yavaşça doldurularak üzerinde doymuş butanol ilave edilir. Bu jel % 10'luk ayırma jelidir. Jel polimerize olduktan sonra butanolu alınarak distile su ile yıkılır.

Daha sonra düzeneğe tarak yerleştirilerek aynı şekilde hazırlanmış olan yiğma jel karışımı pipetle düzeneğe bırakılır. Polimerizasyon gerçekleşikten sonra tarak yavaşça çekilerek tarak boşlukları koşturma tamponu ile yıkamır. Aparat tanka yerleştirilir.

2.2.11.2. Spot test

Daha önceden ekstrakte edilmiş olan örneklerin protein içeriğini saptamak için spot test uygulanır. Bunun için Whatman No:1 filtre kağıdından şerit şeklinde bir parça kesilerek örnekler mikropipet yardımı ile tahmini bir miktar ekstrakt kağıda emdirilir. Şerit Coomasive Brilliant Blue R 250 ile 5 dk. boyanır. Boyanma durumları tespit edilerek tarak boşluklarına ne kadar örnek uygulanacağı saptanır.

2.2.11.3. Örneklerin jel'e uygulanması

Bundan sonra tarak boşluklarına mikropipet yardımıyla örnekler doldurulur ve tank güç kaynağuna bağlanır. Elektroforeze 20 mA ile başlanır ve proteinler yiğma jelini geçinceye kadar 20 mA'de devam edilir. Proteinler ayırma jeline girdiğinde 30 mA'e çıkarılır. Proteinler jelin bitimine geldiğinde elektroforez durdurulur ve jel aparattan çıkarılır. Jel boyama çözeltisine daldırılarak bir gece boyada bekletilir. Boyanma sağlandıktan sonra jel boyanınca çözeltiye alınır.

2.2.12. Resimlerin çekilmesi

Boya çıkarılan çözeltiden alınan jel bir ışıklı tablo üzerine konarak uygun poz ölçülerinde resimleri çekilir.

2.2.13. İstatistiksel değerlendirme

Boy ve Çimlenme Üzerine NaCl'ün etkisinin araştırıldığı denemede elde edilen değerlerin önemlilik kontrolü Varyans Analizi ve Duncan Multiple Range Testi ile yapılmıştır. Testler Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü İstatistik ve Genetik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3. SONUÇLAR

3.1- NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında Çimlenme ve Bitki Gelişimi Üzerine Etkisi.

NaCl'ün 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik konsantrasyonlarının TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I çeşitlerinin 7 gün sonraki tohum çimlenmesi üzerine etkileri sırasıyla Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 2 :NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi (*)

TOSUN- 144	NaCl mM	ÇİMLENME ORANI (%)					ORTALAMA
		I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	IV.Paralel	V.Paralel	
	KONTROL	90	83	70	90	90	84.600± 8.706 A
	50	86.6	93.3	73.3	73.3	93.3	83.960±10.108 A
	100	80	66.6	80	70	56.6	70.640± 9.862 A
	250	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P > 0.05$

Tablo 3 :NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında GEREK-79 Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi (*)

GEREK- 79	NaCl mM	ÇİMLENME ORANI (%)					ORTALAMA
		I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	IV.Paralel	V.Paralel	
	KONTROL	93.3	90	80	90	76.6	85.980± 7.240 A
	50	83	90	73.3	66.6	76.6	77.900±8.986 A B
	100	50	66.6	80	66.6	65.9	65.960± 10.643 B
	250	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.05$

Tablo 4 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi (*)

NaCl mM	ÇİMLENME ORANI (%)					ORTALAMA	
	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	IV.Paralel	V.Paralel		
BEZOS-TAYA-I	KONTROL	86.6	93.3	83	80	90	86.580 ± 5.314 A
	50	90	76.6	83	66	60	75.120 ± 12.222 AB
	100	83	63	66.6	40	26.6	55.840 ± 22.420 B
	250	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.05$

NaCl'ün 250 mM ve daha yüksek konsantrasyonları tohum çimlenmesini 3 çeşitte de % 100 oranında durdurmuştur. Kontrol gruplarda çimlenme oranı % 85 civarında iken çimlenmenin görüldüğü en yüksek NaCl konsantrasyonu olan 100 mM'da çimlenme oranı TOSUN-144 de % 70.6, GEREK-79'da % 65.9 ve BEZOSTAYA-I'de % 55.8 olarak bulunmuştur. Çimlenme oranları dikkate alındığında, tuzluluğa dayanıklılık yönünden çeşitler fazladan aza doğru sıralanırsa TOSUN-144, Gerek-79 ve BEZOSTAYA-I olduğu görülür.

TOSUN-144 çeşidinde kontrol grubunun çimlenme oranı 84.600 ± 8.706 iken 50 ve 100 mM'da sırasıyla 83.96 ± 10.108 ve 70.640 ± 9.862 olarak bulunmuştur. Çimlenme oranındaki düşüş $P = 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. (Tablo 2). NaCl uygulaması bu çeşitte çimlenme oranını Kontrol Grubuna göre 50 mM'da % 0.75 ve 100 mM'da % 16.5 oranında düşürmüştür.

GEREK-79 çeşidinde Kontrol Grubu çimlenme oranı 85.980 ± 7.240 iken 50 mM'da % 77.900 ± 8.986 ve 100 mM'da % 65.960 ± 10.643 olarak bulunmuştur. Çimlenme oranındaki düşüş $P = 0.05$ seviyesinde Kontrol Grubu ile 100 mM arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. (Tablo 3). NaCl uygulaması çimlenme oranını Kontrol Grubuna göre 50 mM'da % 9.39 ve 100 mM'da % 23.28 oranında düşürmüştür.

BEZOSTAYA-I çeşidinde Kontrol Grubunda çimlenme oranı % 86.580 ± 5.314 iken 50 mM'da % 75.120 ± 12.222 ve 100 mM'da % 55.840 ± 22.420 olarak bulunmuştur. Bu çeşitte de çimlenme oranındaki düşüş $P = 0.05$ seviyesinde Kontrol Grubu ile 100 mM arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. (Tablo 4). NaCl

uygulaması çimlenme oranını Kontrol Grubuna göre 50 mM'da % 13.23 ve 100 mM'da % 35.50 oranında düşürmüştür.

Aynı bitkilerin 11.gündeki boyları ölçüldüğünde, bulunan değerler Tablo 5, Tablo 6, Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 5 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi (*)

NaCl mM	BOY ORANLARI (cm)				
	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	ORTALAMA	
TOSUN-144	KONTROL	9.18	9.00	9.04	9.073± 0.094 A
	50	6.07	6.95	7.34	6.786±0.650 B
	100	4.88	4.96	4.70	4.846 ± 0.133 C
	250	-	-	-	-
	500	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.01$

Tablo 6 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi (*)

NaCl mM	BOY ORANLARI (cm)				
	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	ORTALAMA	
GEREK-79	KONTROL	8.08	8.25	8.20	8.176± 0.087 A
	50	7.32	5.95	7.09	6.786± 0.733 A
	100	5.71	4.33	4.70	4.913 ± 0.714 B
	250	-	-	-	-
	500	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.01$

Tablo 7 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi (*)

NaCl mM	BOY ORANLARI (cm)			
	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	ORTALAMA
KONTROL	6.96	6.34	6.60	6.633± 0.311 A
50	5.77	4.61	4.94	5.770± 0.635 B
BEZOSTAYA-I	100	2.58	2.43	2.790 ± 1.148 C
	250	-	-	-
	500	-	-	-
	1000	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.01$

50 ve 100 mM'lik NaCl konsantrasyonlarında bitki boyları Kontrol Grubuna göre % 40-60 oranında azalmıştır. (Tablo 5, Tablo 6 ve Tablo 7).

TOSUN-144 Kontrol Grubunda boy 9.073 ± 0.094 cm. iken 50 mM'da 6.786 ± 0.650 cm. ve 100 mM'da 4.846 ± 0.133 cm. olarak bulunmuştur. Boy uzunluğundaki düşüş $P = 0.01$ seviyesinde önemli bulunmuştur. (Tablo 5). Bu çesitte NaCl uygulaması bitki boyunu Kontrol Grubuna göre 50 mM'da % 25.2 ve 100 mM'da % 46.6 oranında kısalttığı tesbit edilmiştir.

GEREK-79 çeşidinde Kontrol Grubunda boy uzunluğu 8.176 ± 0.087 cm. iken 50 mM'da 6.786 ± 0.733 cm. ve 100 mM'da 4.913 ± 0.714 cm. olarak bulunmuştur. (Tablo 6). Boy uzunluğundaki düşüş 100 mM'da $P = 0.01$ seviyesinde Kontrol Grubu ve 50 mM'a göre önemli bulunmuştur.

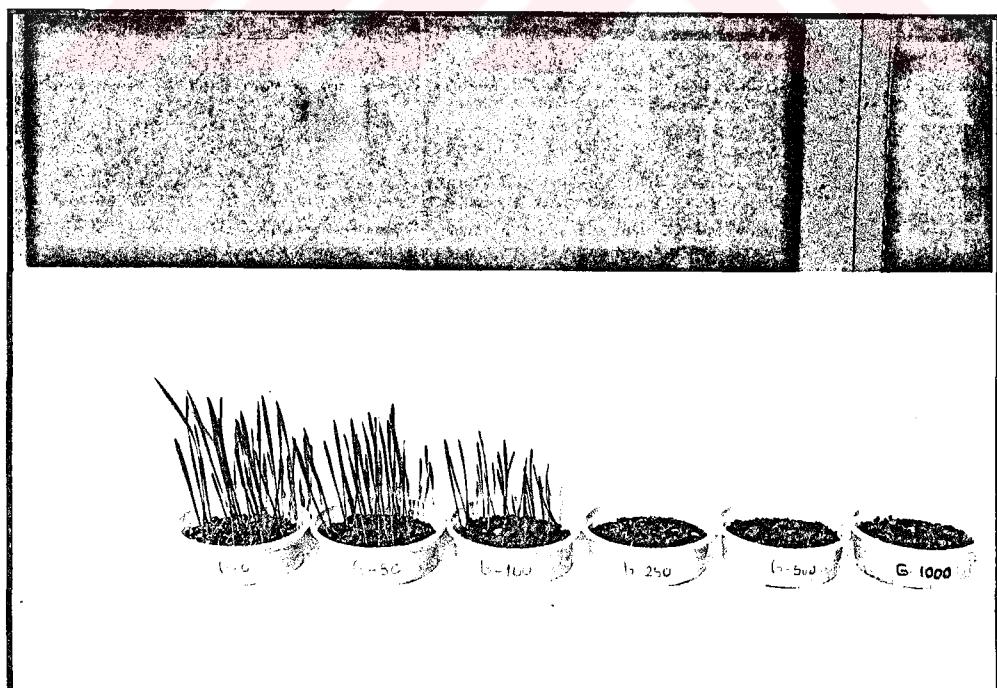
BEZOSTAYA-I çeşidinde Kontrol Grubunda boy uzunluğu 6.633 ± 0.311 cm. iken 50 mM'da 5.770 cm. ve 100 mM'da 2.79 ± 1.148 cm. olarak bulunmuştur. Boy uzunluğundaki düşüş $P = 0.05$ seviyesinde Kontrol Grubu, 50 mM ve 100 mM arasında önemli bulunmuştur. (Tablo 7).

NaCl'ün değişik konsantrasyonlarının tohum çimlenmesi ve bitki boyu üzerine etkisi Şekil 1, 2 ve 3'te görülmektedir.

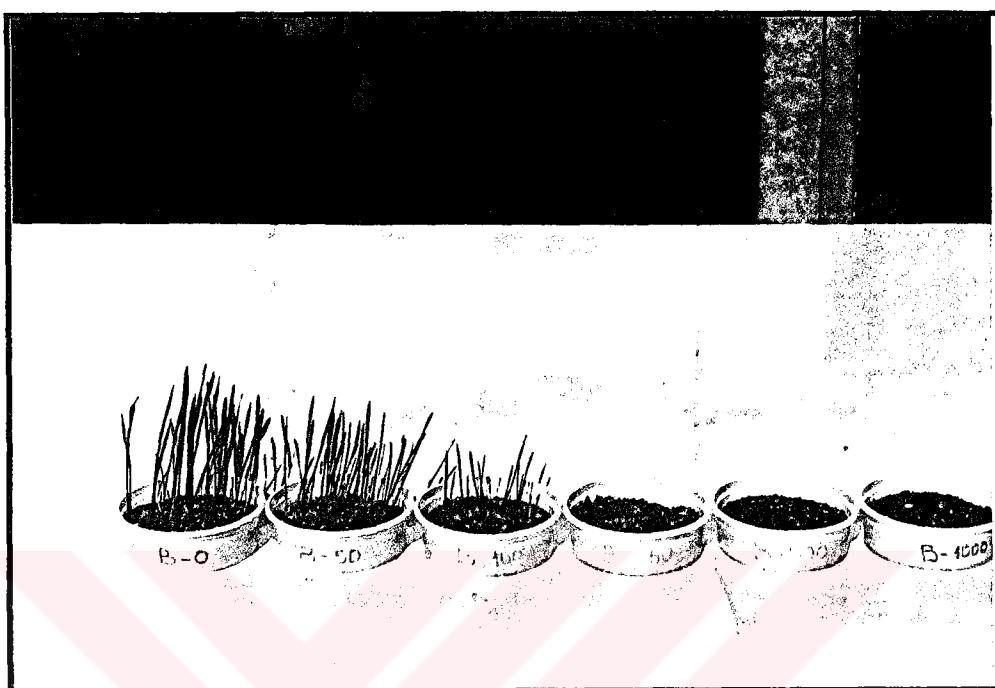
Şekil 1. TOSUN-144 Çeşidinde Ekiinden itibaren 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik NaCl Uygulamasının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi



Şekil 2. GEREK-79 Çeşidinde Ekiinden itibaren 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik NaCl Uygulamasının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi



Şekil 3. BEZOSTAYA-I Çeşidinde Ekimden itibaren 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik NaCl Uygulamasının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi



3.2.- NaCl Tuzluluğunun Fide Devresinde Uygulandığında Bitki Gelişimi Üzerine Etkisi.

NaCl'ün 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM'lik konsantrasyalarının fide devresinde uygulandığında bitki büyümesi üzerine olan etkileri TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I için sırasıyla Tablo 8, Tablo 9 ve Tablo 10'da görülmektedir.

Bağday fideleri NaCl'e maruz bırakıldığından boyları ortalama 3.5 cm. idi. Her üç çeşitte de 500 ve 1000 MM'lik NaCl konsantrasyonlarında bitki büyümesi durmuştur. Ayrıca NaCl konsantrasyonu arttıkça genel olarak bitki büyümesi yavaşlamıştır.

Tablo 8 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi (*)

NaCl mM	BOY ORANLARI (cm)			
	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	ORTALAMA
KONTROL	8.86	9.26	9.15	8.930± 0.242 A
50	7.33	7.60	7.53	7.486± 0.140 B
100	7.06	7.46	7.40	7.306 ± 0.215 B
250	4.00	4.06	4.33	4.130 ± 0.175 C
500	-	-	-	-
1000	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.01$

Tablo 9 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi (*)

NaCl mM	BOY ORANLARI (cm)			
	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	ORTALAMA
KONTROL	11.20	10.33	10.06	10.530± 0.595 A
50	10.00	9.73	10.86	10.176± 0.590 A
100	9.60	9.00	9.46	9.353 ± 0.313 A
250	5.73	5.26	5.26	5.416 ± 0.271 B
500	-	-	-	-
1000	-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.01$

TOSUN-144 çeşidinde Kontrol Grubunda boy uzunluğu 8.930 ± 0.242 cm. iken 50, 100 ve 250 mM'da sırasıyla 7.486 ± 0.140 cm., 7.306 ± 0.215 cm. ve 4.130 ± 0.175 cm. olarak bulunmuştur. Boy uzunlığındaki düşüş $P = 0.01$ seviyesinde 50 ve 100 mM arası hariç önemli bulunmuştur. (Tablo 8). NaCl uygulaması Kontrol Grubuna göre boyu 50 mM'da % 16.2, 100 mM'da % 18.25 ve 250 mM'da % 53.75 oranında düşürmüştür.

GEREK-79 çeşidinde Kontrol Grubunda boy uzunluğu 10.530 ± 0.595 cm. iken $50\text{ mM}'da 10.176 \pm 0.590$ cm., $100\text{ mM}'da 9.353 \pm 0.313$ cm. ve $250\text{ mM}'da 5.416 \pm 0.271$ cm. olarak bulunmuştur. Boy uzunlığundaki düşüş $P = 0.01$ seviyesinde $250\text{ mM}'da$ diğerlerine göre önemli bulunmuştur. (Tablo 9). NaCl uygulaması Kontrol Grubuna göre boyu, $50\text{ mM}'da \% 3.36$, $100\text{ mM}'da \% 11.2$ ve $250\text{ mM}'da \% 48.5$ oranında kısaltılmıştır.

Tablo 10 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi (*)

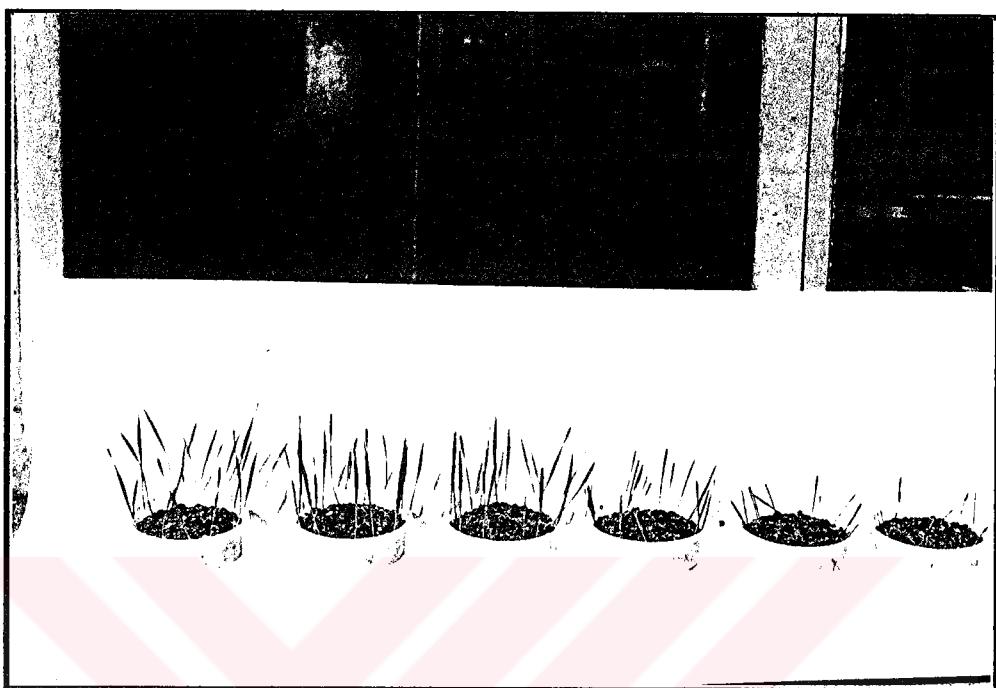
		BOY ORANLARI (cm)				
		NaCl mM	I.Paralel	II.Paralel	III.Paralel	ORTALAMA
BEZOSTAYA-I	KONTROL		7.53	7.66	7.20	7.463 ± 0.237 A
	50		10.00	9.06	8.80	9.286 ± 0.631 AB
	100		8.66	8.33	7.93	8.306 ± 0.365 B
	250		5.73	4.86	5.20	5.263 ± 0.438 C
	500		-	-	-	-
	1000		-	-	-	-

(*) Aynı veya ortak harfler farkın istatistiksel olarak önemsizliğini, farklı harfler ise önemliliğini gösterir. $P < 0.01$

BEZOSTAYA-I çeşidinde Kontrol Grubu boy uzunluğu 7.463 ± 0.237 iken, 50 , 100 ve $250\text{ mM}'da$ sırasıyla 9.286 ± 0.631 , 8.306 ± 0.365 ve 5.263 ± 0.438 olarak bulunmuştur. Boy uzunlığundaki değişiklik $P = 0.01$ seviyesinde önemli bulunmuştur. (Tablo 10). NaCl uygulaması Kontrol Grubuna göre boyu $50\text{ mM}'da \% 19.6$ ve $100\text{ mM}'da \% 10.1$ oranında arttırmıştır. $250\text{ mM}'da$ ise $\% 29.4$ oranında kısaltılmıştır.

Fide devresinde NaCl uygulaması yapılan bitkilerin boyları arasındaki farklar TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I çeşitleri için sırasıyla Şekil 4, 5 ve 6'da görülmektedir.

Şekil 4. Fide Devresinde 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM NaCl Uygulaması TOSUN-144 Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkisi



Şekil 5. Fide Devresinde 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM NaCl Uygulaması GEREK-79 Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkisi



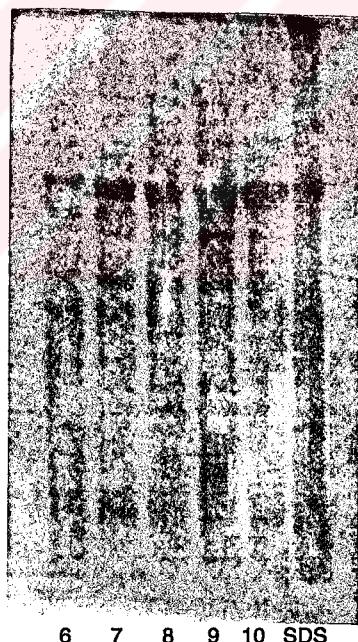
Şekil 6. Fide Devresinde 0, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM NaCl Uygulaması BEZOSTAYA-I Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkisi



3.3 - Protein Ekstraksiyonu İçin En Uygun pH'in Belirlenmesi.

Tampon pH'ının protein ekstraksiyonu üzerine etkisini belirlemek üzere 0.1 M Tris-HCl tamponunun pH'ı 6, 7, 8, 9 ve 10'a ayarlanmıştır. Ayrıca protein ekstraksiyonunda SDS-örnek tamponu kullanılmıştır. Elde edilen protein profilleri Şekil 7'de görülmektedir. pH = 6'da protein ekstraksiyonu nisbeten düşük olmasına karşılık 7, 8, 9 ve 10 pH'larda birbirine benzer oranlarda olmuştur. SDS-örnek tamponu ile yapılan ekstraksiyonda ise protein bandlarından bazılarının net olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre 0,1 M Tris-HCl pH : 8.5'un en iyi ekstraksiyon tamponu olduğuna karar verilmiştir.

Şekil 7: 0.1 M Tris HCl Tampon pH'sının Protein Ekstraktibilitesi Üzerine Etkisi

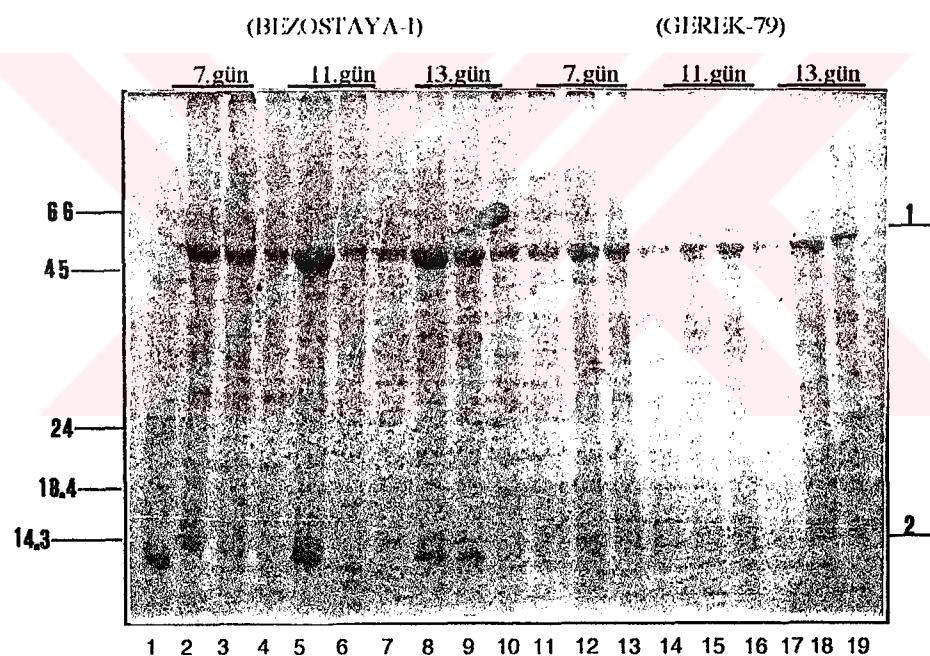


Hat , 1 : pH = 6 ; Hat, 2 : pH = 7 ; Hat, 3 : pH = 8 ; Hat, 4 : pH = 9 ;
Hat, 5 : pH = 10 ; Hat, 6 : SDS örnek tamponu (pH = 6.8)

3.4.- NaCl Tuzluluğunun Protein Profillerine Etkisi

Şekil 8'de BEZOSTAYA-I ve GEREK-79 buğay çeşitlerinde, ekimden itibaren 50 ve 100 mM NaCl uygulanan bitkilerin 7., 11. ve 13. günlerdeki yaprak protein profilleri görülmektedir. Buğday yapraklarında dominant olarak bulunan ve 1 numara ile gösterilen 49-50 kD büyüklüğündeki ve 2 numara ile gösterilen 16-17 kD büyüklü-ğündeki protein bandının konsantrasyonu tuz uygulaması ile birlikte azalmıştır.

Şekil 8. Tohum Ekiminden İtibaren Tuz Uygulamasının BEZOSTAYA-I (Hat 2-10) ve GEREK-79 (Hat 11-19) Protein Profili Üzerine Etkisi.



Hat 2, 5, 8, 11, 14 ve 17 : Kontrol ;

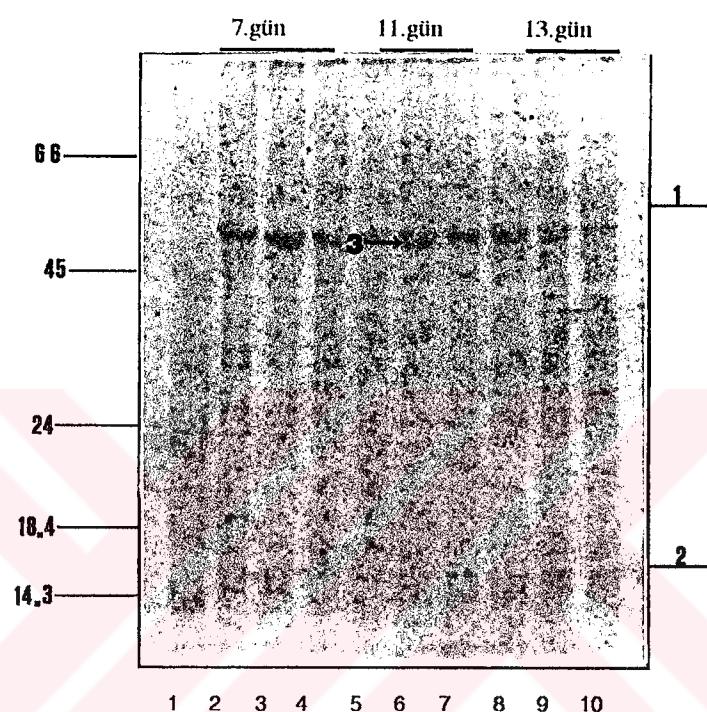
Hat 3, 6, 9, 12, 15, 18 : 50 mM NaCl

Hat 4, 7, 10, 13, 16, 19 : 100 mM NaCl

Hat 1 : Moleküler Ağırlık Standardı

TOSUN-144 buğday çeşidinde de 1 ve 2 numaralı protein bandlarının konsantrasyonunda tuz uygulamasıyla birlikte azalma olmuştur. (Şekil 9)

Şekil 9. Tohum Ekiminden İtibaren Tuz Uygulamasının TOSUN-144'te Protein Profili Üzerine Etkisi.



Hat ; 2, 5, 8 : Kontrol ;

Hat ; 3, 6, 9 : 50 mM NaCl

Hat ; 4, 7, 10 : 100 mM NaCl

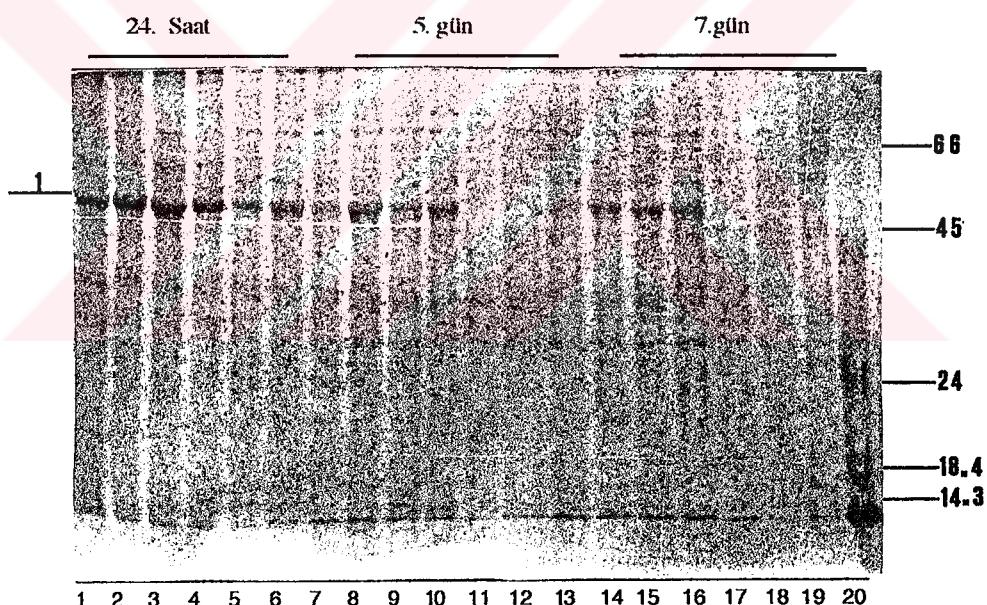
Hat ; 1 : Moleküler Ağırlık Standardı

Bu çeşitde ayrıca 3 numara ile gösterilen ve 48 kD civarında molekül ağırlığına sahip protein bandının konsantrasyonu 50 mM NaCl uygulamasının 11. gününde artmıştır.

Şekil 10, Şekil 11 ve Şekil 12'de fide evresinde 50, 100, 250, 500 ve 1000 mM

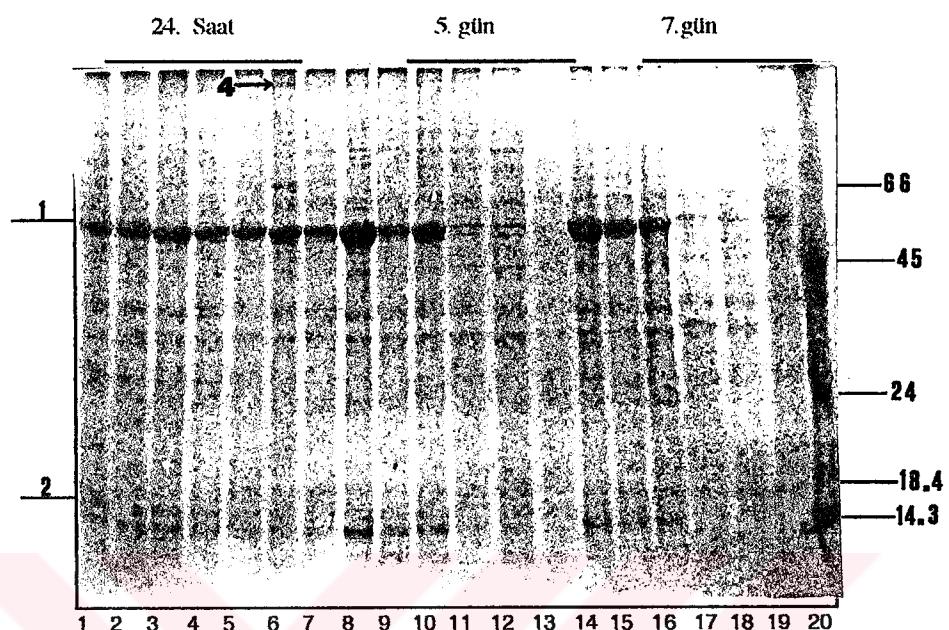
NaCl uygulamasının sırasıyla GEREK-79, BEZOSTAYA-I ve TOSUN-144 buğday çeşitlerinin yaprak protein profilleri üzerine etkisi görülmektedir. Yine, diğer uygulamada olduğu gibi 1 ve 2 numaralı protein bandının konsantrasyonu tuz konsantrasyonunun artması ile birlikte azalmıştır. BEZOSTAYA-I çeşidine, 500 mM NaCl uygulandığında 24 saat sonra oldukça büyük molekül ağırlıklı protein bandı ortaya çıkmıştır. (Şekil 11, Band no: 4) GEREK-79 da 1 ve TOSUN-144'de 1 ve 2 numaralı protein bandlarının konsantrasyonu NaCl uygulanmasıyla birlikte azalırken bu etki yüksek tuz konsantrasyonlarında daha belirgin hale gelmektedir. (Şekil 10, Şekil 12). TOSUN-144 çeşidine . Ayrıca 5 numara ile gösterilen ve ~32 kD molekül ağırlığına sahip protein bandının konsantrasyonu da NaCl konsantrasyonunun arttırılmasıyla azalma göstermiştir. (Şekil 12).

Şekil 10. Fide Devresinde Tuz Uygulamasının GEREK-79 Protein Profili Üzerine Etkisi



- | | |
|-----------------|-------------------------------|
| Hat ; 1 | : Şaşırma anı |
| Hat ; 2, 8, 14 | : Kontrol ; |
| Hat ; 3, 9, 15 | : 50 mM NaCl |
| Hat ; 4, 10, 16 | : 100 mM NaCl |
| Hat ; 5, 11, 17 | : 250 mM NaCl |
| Hat ; 6, 12, 18 | : 500 mM NaCl |
| Hat ; 7, 13, 19 | : 1000 mM NaCl |
| Hat ; 20 | : Moleküler Ağırlık Standardı |

Şekil 11. Fide Devresinde Tuz Uygulamasının BEZOSTAYA-I Protein Profili Üzerine Etkisi.



Hat ; 1 : Şaşirtma ami

Hat ; 2, 8, 14 : Kontrol ;

Hat ; 3, 9, 15 : 50 mM NaCl

Hat ; 4, 10, 16 : 100 mM NaCl

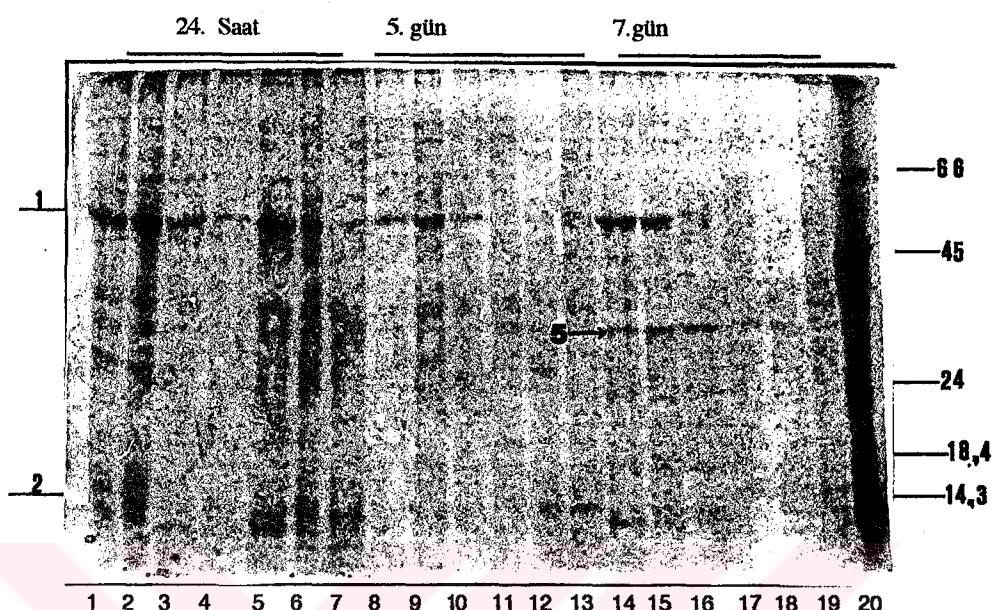
Hat ; 5, 11, 17 : 250 mM NaCl

Hat ; 6, 12, 18 : 500 mM NaCl

Hat ; 7, 13, 19 : 1000 mM NaCl

Hat ; 20 : Moleküler Ağırlık Standardı

Şekil 12. Fide Evresinde Tuz uygulamasının TOSUN-144 Protein Profili Üzerine Etkisi.



Hat ; 1 : Şaşırma anı

Hat ; 2, 8, 14 : Kontrol ;

Hat ; 3, 9, 15 : 50 mM NaCl

Hat ; 4, 10, 16 : 100 mM NaCl

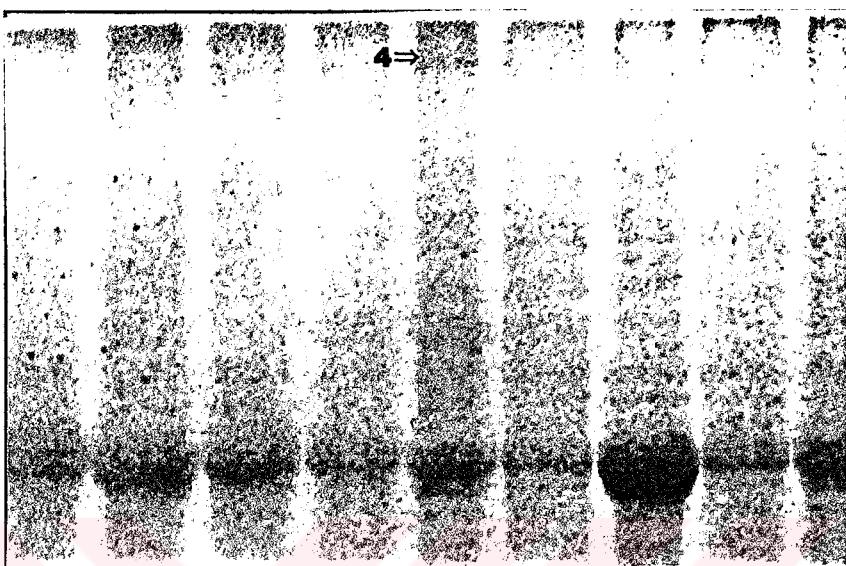
Hat ; 5, 11, 17 : 250 mM NaCl

Hat ; 6, 12, 18 : 500 mM NaCl

Hat ; 7, 13, 19 : 1000 mM NaCl

Hat ; 20 : Moleküler Ağırlık Standardı

Şekil 13. Fide Devresinde Tuz Uygulamasının BEZOSTAYA-I Protein Profili Üzerine Etkisiyle Ortaya Çıkan Yeni Bandın Büyütülmüş Görüntüsü.



4.TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan 250 mM ve daha yüksek NaCl konsantrasyonları TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I buğday çeşitlerinin çimlenmesini önlemiştir. Ayrıca, 50 ve 100 mM'lık NaCl konsantrasyonları da çimlenme oranını kontrollere göre önemli ölçüde düşürmüştür (Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4). Çimlemenin önlenmesi muhtemelen tohum dışındaki ozmotik yoğunluğun yüksek oluşu ve suyun alınamamasından kaynaklanmaktadır. NaCl tuzluluğu, çimlenmenin yanında bitki boyuna da etki etmiştir. Her üç çeşitte de çimlenmenin olabildiği 50 ve 100 mM'lık NaCl konsantrasyonlarında bitki boyaları kontrollere göre % 40-60 oranında azalmıştır (Tablo 5, Tablo 6, Tablo 7— Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3). NaCl'nin bitki büyümesi üzerine olan etkisi fide devresinde NaCl uygulamasıyla da gösterilmiştir (Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10—Şekil 4, Şekil 5, Şekil 6). Fakat, 250 mM'da az oranda da olsa yavaş bir büyümeye kaydedilmiştir. Sadece BEZOSTAYA-I çeşidinde 50 ve 100 mM'lık NaCl uygulamalarında kontrollere göre bitki boyalarında % 11-24 oranında bir artış gözlenmiştir. Bu ise suyun NaCl tarafından kumda kontrole göre daha fazla tutulmasından kaynaklanmış olabilir. Daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında büyümeye olmamıştır. Bu etkiler de muhtemelen dış ortamdan suyun tuzluluk nedeniyle alınamaması ve zar geçirgenliğinin bozulmasından kaynaklanmaktadır.

NaCl tuz stresi altında çimlenmekte olan arpa tohumlarındaki α -Amilaz aktivitesi üzerine spermidin Poliamin ve Gibberelilik asidin etkisi incelenmiş, bazı durumlarda çimlenmenin ve α -Amilaz aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. (6, 18).

Denemedede kullanılan her üç çeşit buğdayda dominant olarak bulunan ve 1, 2 ve 5 numara ile işaretlenen sırasıyla 49-50 kD, 16-17 kD ve 32 kD molekül ağırlığındaki proteinlerin miktarında NaCl uygulamasıyla birlikte azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde A. DELL'AQUILA ve P.SPADA tarafından yapılan bir çalışmada önce tuz stresine bırakılan, daha sonra da suya transfer edilen tuza hassas buğdayların tuz stresiyle birlikte radikülün çıkışmasıyla ilgili polipeptidlerin azaldığı veya yok olduğu tespit edilmiştir.(6).

Ayrıca NaCl stresine maruz bırakılmış arpa yapraklarının tilakoid membranlarındaki proteinler SDS-PAGE ile incelenmiş ve bazı protein bandlarının yoğunluğunun artması bazlarının da azalması yanında tuz stresiyle birlikte 25.1 kD'luk yeni bir proteinin meydana geldiği tespit edilmiştir.(7).

Protein bandlarındaki azalmalar bitki büyümesinin NaCl etkisiyle yavaşlatılmasından kaynaklanabilir.

Çalışmamızda, BEZOSTAYA-I çeşidinde, fide devresinde 24 saatlik 500 mM NaCl uygulaması yapıldığında yiğma jelin altında ayırma Jel'in 1-2 mm başlangıcında büyük molekül ağırlıklı yeni bir protein tespit edilmiştir. NaCl stresiyle meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin incelendiği bir başka çalışmada da buğday kök ve gövdelerinde benzer sonuçlar bulunmuştur.

Tuz stresine maruz bırakılmış buğday çeşitlerinin PS-II aktivitesi ve zar geçirgenliği ölçülmüş ve TOSUN-144ının dayanıklı, GEREK-79ının ise dayaniksız olduğu sonucuna varılmıştır. Çeşitlerin kök ve gövdelerindeki protein değişimleri SDS-PAGE ile incelenmiş ve 17 ve 22 kD'luk kök proteinlerinin TOSUN-144 çeşidinde arttığı, GEREK-79 çeşidinde ise azaldığı tespit edilmiştir. Gövdede de tuz stresiyle bazı proteinlerin biriği tespit edilmiştir.(16).

Fakat çalışmamızda tespit etmiş olduğumuz yeni protein bandının büyük oluşu farklılık göstermektedir.

Çimlenme ve büyümeye özellikleri dikkate alındığında NaCl'e en fazla dayanıklı olarak TOSUN-144 gözükmeekte, bunu sırasıyla GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I izlemektedir.

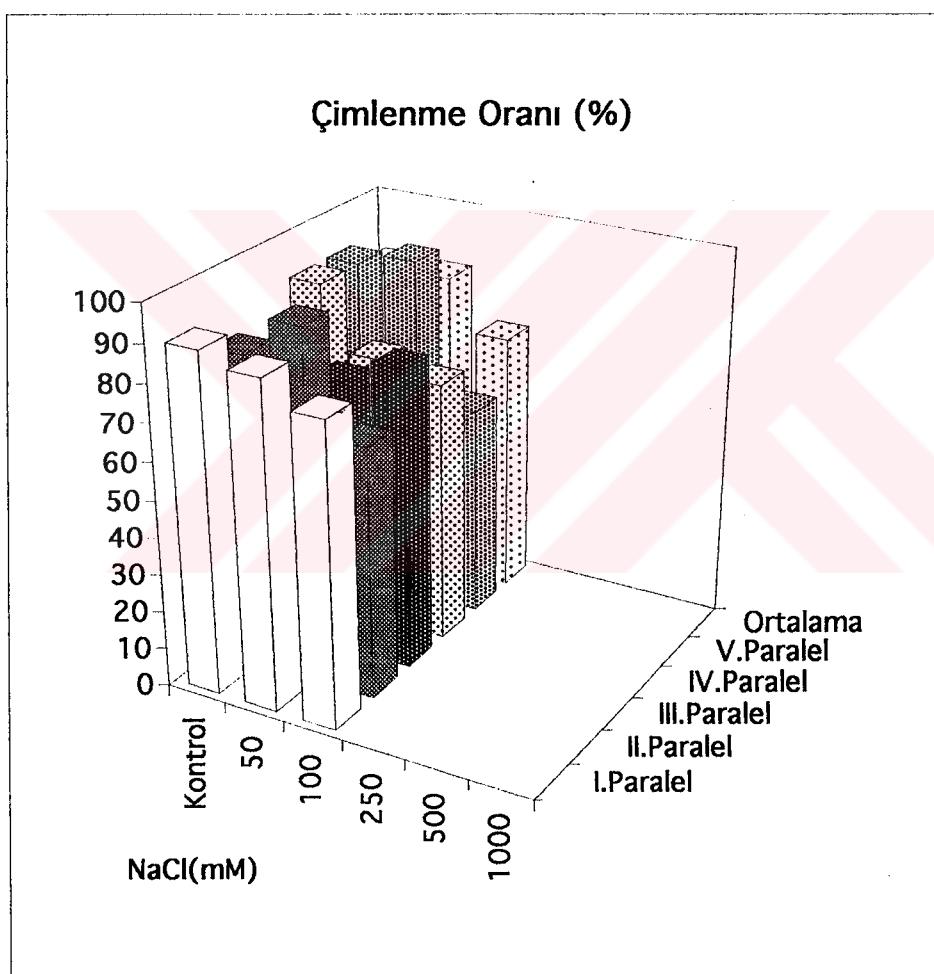
İleride yapılacak çalışmalarla NaCl'e bitkilerin tepkisi gerek hücresel gerekse gen düzeyinde daha detaylı incelenecik, etki mekanizması daha iyi anlaşılacaktır.

KAYNAKLAR

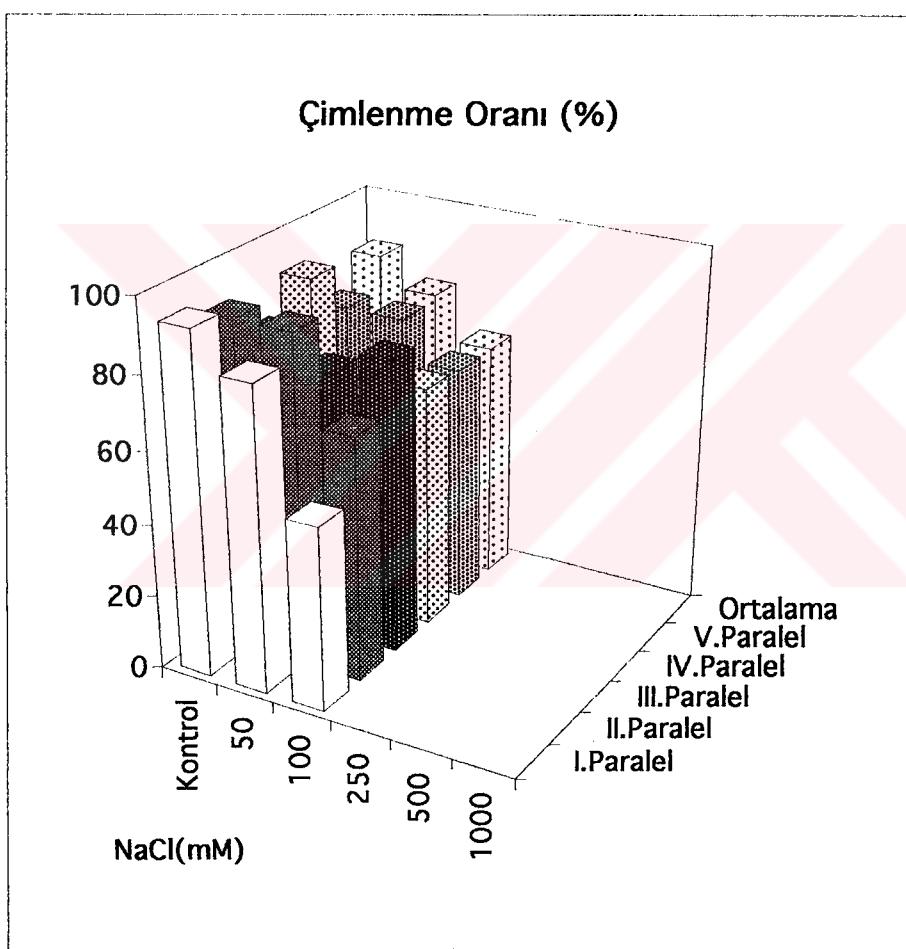
- 1.ABO-HAMED, S. A., YOUNIS, M.E., EL-SAHADY, O.A. and HAROUN, S.A., 1990: Plant Growth, Metabolism and Adoption in Relation to Stress Conditions, Phyton (Horn, Austria), 30: 187-199.
- 2.Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, 1980 : Genel Tarım Sayımı Muhtarlık Anketi Sonuçları: Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası Ankara, Haziran 1982 Yayın No:1000
- 3.BLUM, A., 1985, CRC Critical Reviews In Plant Sciences 2: 199-238.
- 4.CUSHMAN, Jhon C., MEYER, G., MICHALOWSKI Christine, B.and BOHNERT Hans. J., 1990, Developmental Control of Crassulaceon Acid Metabolism Inducibility by Salt Stress in The Common Ice Plant, Plant Physiol, 94: 1137-1142.
- 5.CUSHMAN, Jhon C., MICHALOWSKI Christine , B., SCHMITT, Jurgen, M. and BOHNERT Hans. J.,1989, Salt Stress Leads to Differential Expression of Two Izogenes of Phosphoenolpyruvate Carboxylase During Crassulacean Acid Metabolism Inductio in The Common Ice Plant : The Plant Cell, 1: 715-725.
- 6.DELL'AQUILA, A. and SPADA, P., 1992, The Effect of Salinity Stress Upon Protein Synthesis of Germinating Wheat Embryos, Annals of Botany 72: 97-101.
- 7.DURUSOY, M., TIPIRDAMAZ, R. ve BOZCUK, S., 1994 ; Dıştan Uygulanan Spermidin ve Giberellic Asitin Tuz Stresinde Çimlenen Arpa Tohumlarında - α -Amilaz Aktivitesine Etkisi, Doğa-Türk Biyoloji Dergisi, B: 94016, Baskıda.
- 8.GORHAM, J. and WYN JONES, R.G., 1983. Solute distribution in Suaeda Maritma : Planta, 157: 344-349.
- 9.GORHAM, J., WYN JONES, R.G., McDONNELL, E. 1985 : Some Mechanisms of Sort Tolerance in Crop Plants, Plant and Soil . 89: 15-40.
- 10.GREENWAY, H. and MUNNS R., 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes : Ann. Rev. Plant Physiol. 31: 149-190.
- 11.HASEGAWA, P. M., BRESSON, R. A. and HONDA, A. K., 1986, Cellular Mechanism of Salinity Tolerance : Hort. Science 21: 1317-1324.
- 12.JONES Hamlyn G., FLOWERS, T. J. and JONES, M. B., 1989, Plants Under Stress: Cambridge University Press, 1989.
- 13.JOSNI, S.S., 1984 Effect of Salinity Stress on Organic and Mineral Cosntituents in The Leaves of Pienopea : Plant and Soil, 82: 69-76.
- 14.KAPTAN, H. , 1993, Toprak Verimliliği ve Bitki Besleme, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları I, Şanlıurfa.

- 15.KENZHEBOEVA, s.s., RAKOVAIN, M and POLIMBETOVA, F. A., 1989, Effects of Low Temparute and Salinity on NADH and NADH-Dependent Nitrate Reductase, Activities in Overground Organs of Winter Wheat, Plenum Puplishina Corporation, 295-300.
- 16.KRAMER, D., 1983, The Possible Role of Transfer Cells in The Adoption of Plants to Salinity. *Pshsiol. Plant.* 58: 549-555.
- 17.MASLENKOVA, L. T., MITEVA, T.S. and POPOVA, Losanka P., 1992, Changes in The Polypeptide Patterns of Barley Seedlings Exposed to Jasmonic Acid and Salinity, *Plant Physiol.*, 98: 700-707.
- 18.MATOH, T., MATSASHITA, N. and TAKAHASHI, E., 1988, Salt Tolerance of The Reed Plant *Phragmites Communis* : *Physiologia Plantarum*, 72: 8-14.
- 19.ÖZALP, Veli. C., 1993, Physiological and Biochemical Responses of Wheat Cultivars to Salt Stress, Middle East Technical University, Master of Science in Biology.
- 20.RAMAGOPAL, S., 1987, Differential mRNA Transcription During Salinity Stress in Borley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 94-98.
- 21.TIPIRDAMAZ, R., DURUSOY, M., ve BOZCUK, S., 1994, Dıştan Uygulanan Spermidin ve Giberellic Asitin Tuz Stresinde Çimlenen Arpa Tohumlarında - α -Amilaz Aktivitesine Etkisi, *Türk Botanik Dergisi*, Baskıda, (3.0: 34013).
- 22.TYLER, N. J., FOWLER, D. B. and GUSTER, L. V., 1981, The Effect of Sand Stress on The Cold Hardness of Winter Wheat, *Con. J. Plant Sci.* 61: 543-548.
- 23.VEIMBERG, R., LERNER, H. R, and POLJAKOFF-MAYBER, A., 1984, Changes in Growth and Water-Soluble SoluteConcentrations in Sorghum Bicolar Stressed with Sodium and Potassium Salts : *Physiol. Plant.* 62: 472-480.
- 24.WEIMBERG, W. 1986. Growth and Solute Accumulation in 3 Week-Old Seeding of *Agropyron elongatum* Stressed with Sodium and Potassium Salts. *Phsiol. Plant.* 67: 129-135.
- 25.WEIMBERG, R. and SHANNON Michael C., 1988, Vigor and Salt Tolerance in 3 lines of fall Wheatgrass.
- 26.YEO, A. R., 1983 Salinity Resistance : *Physiologies and Pricies* : *Physiol . Plant.*, 58: 214-222.
27. LAEMMLI, U.K., 1970. Cleavage of Structural proteins during the asscmbly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*, 227:680-685

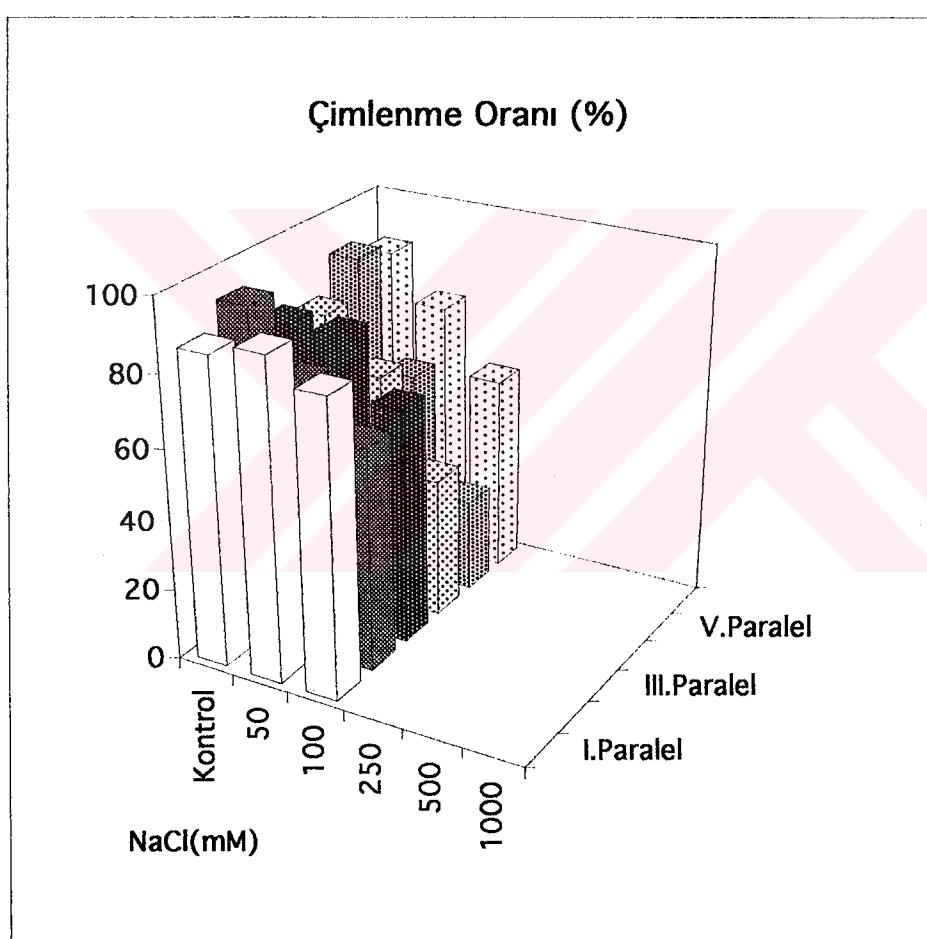
Grafik 1. NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde TOSUN-144
Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi



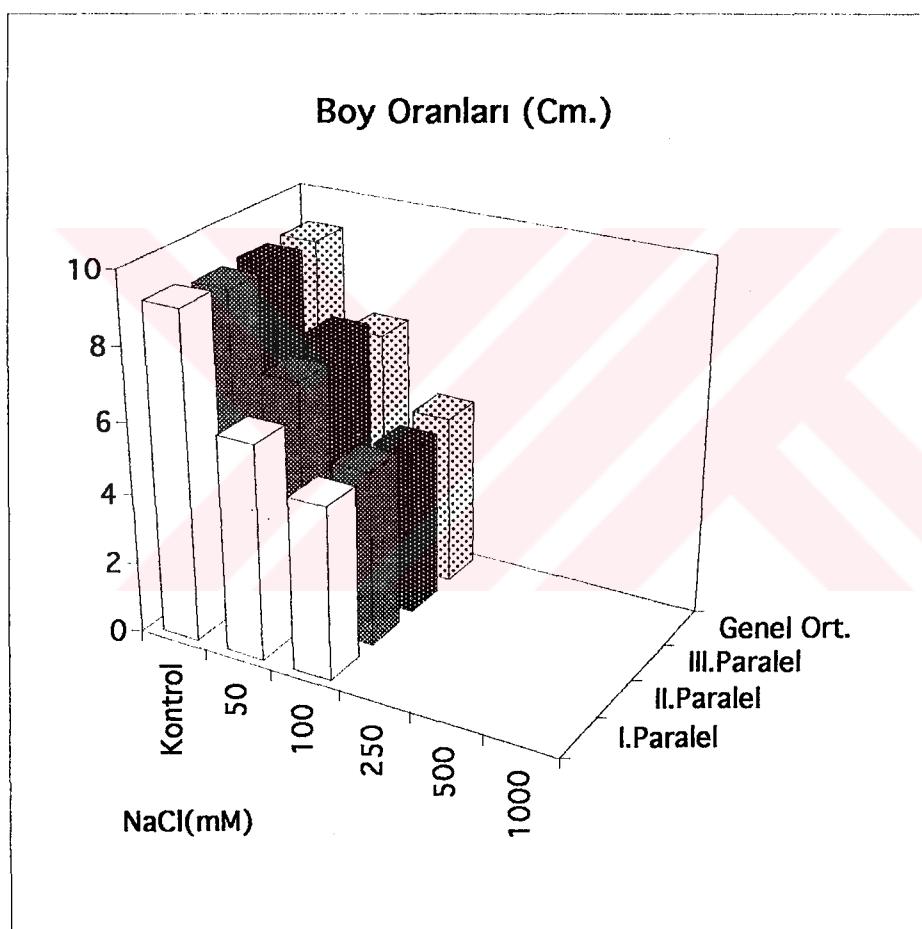
Grafik 2 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde GEREK-79
Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi



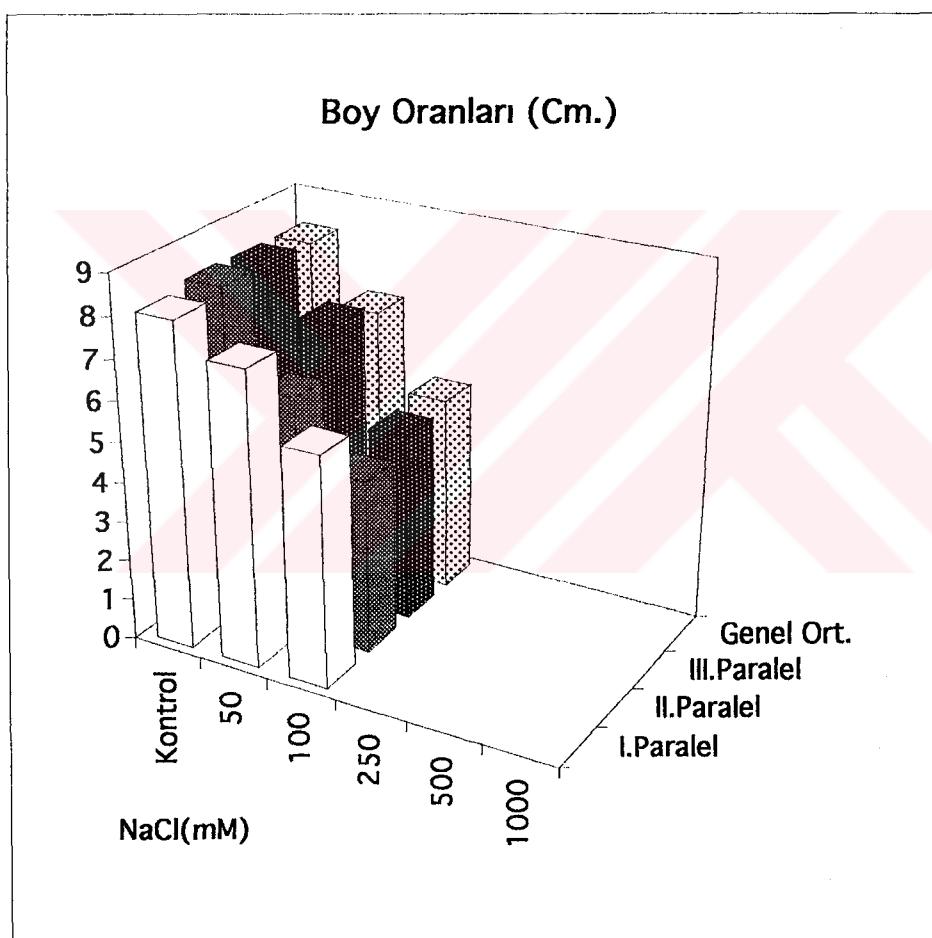
Grafik 3 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Çimlenmesi Üzerine Etkisi



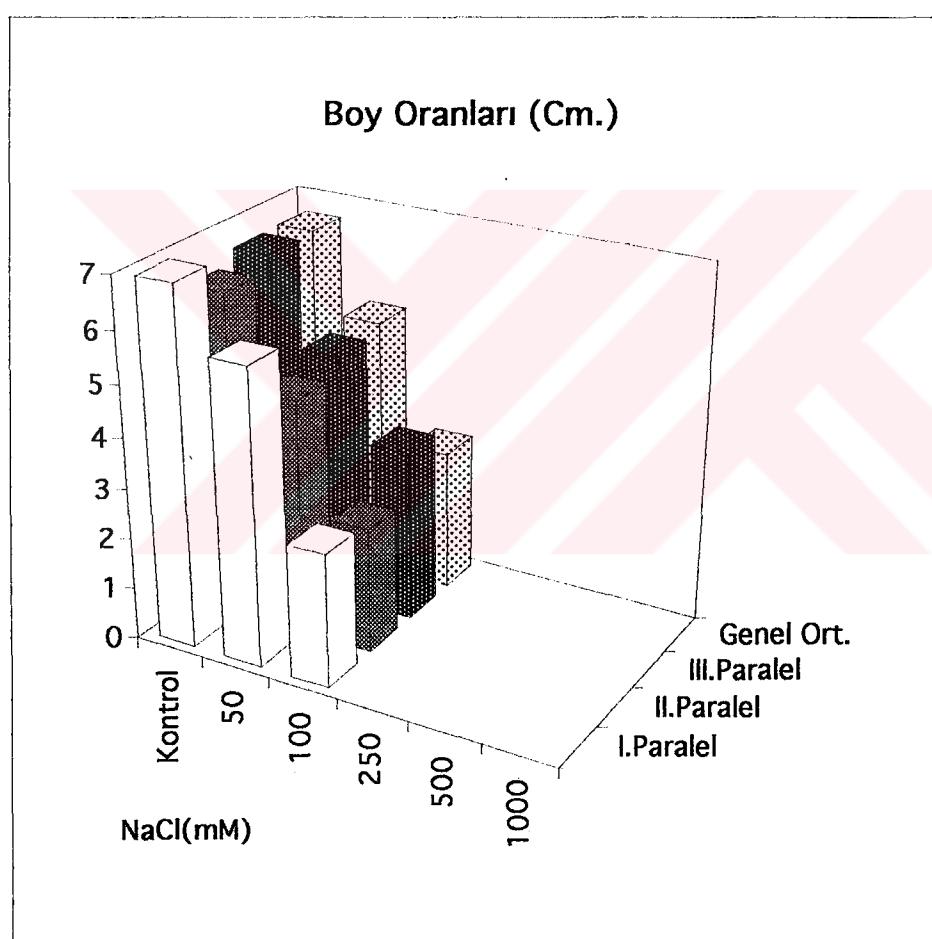
Grafik 4 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında
TOSUN-144 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi



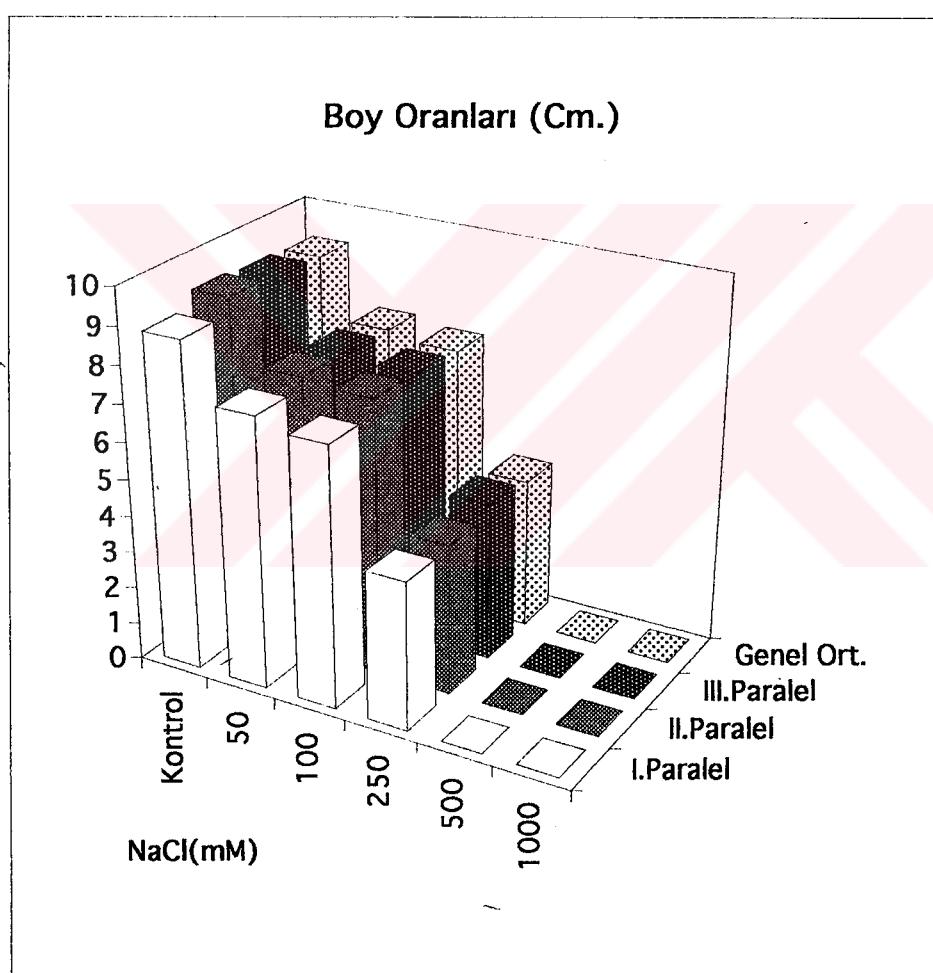
Grafik 5 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında
GEREK-79 Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi



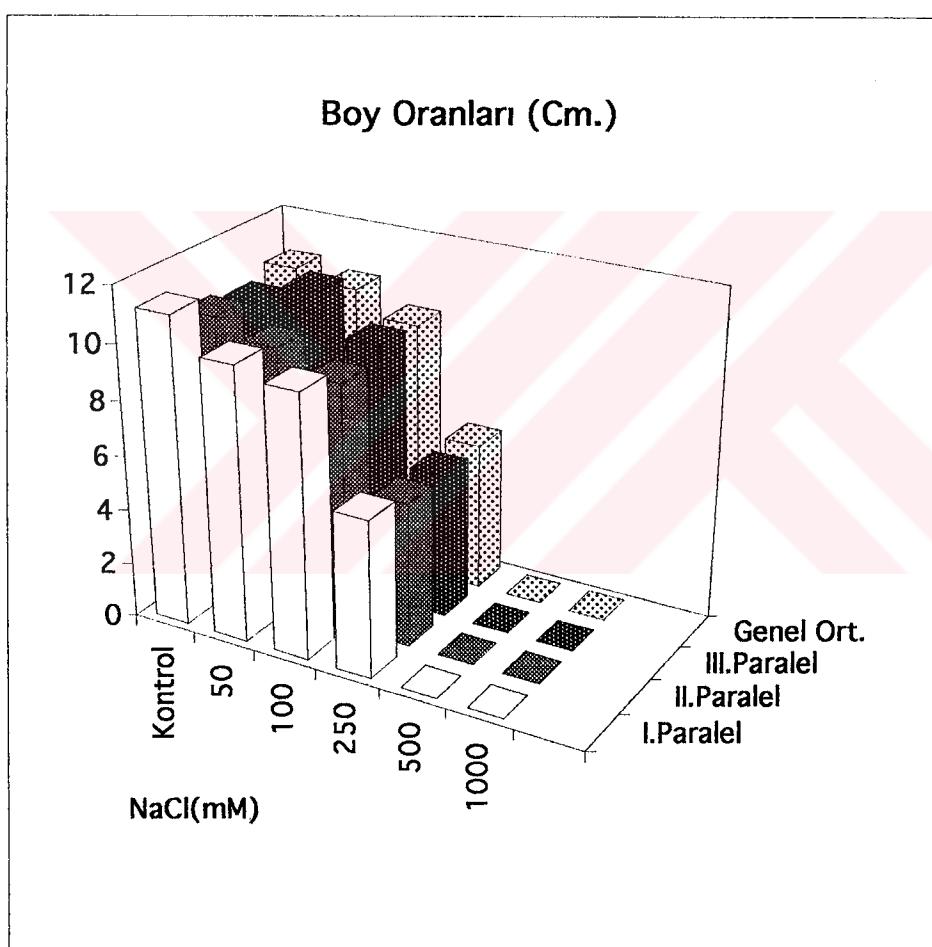
Grafik 6 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında
BEZOSTAYA-I Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi



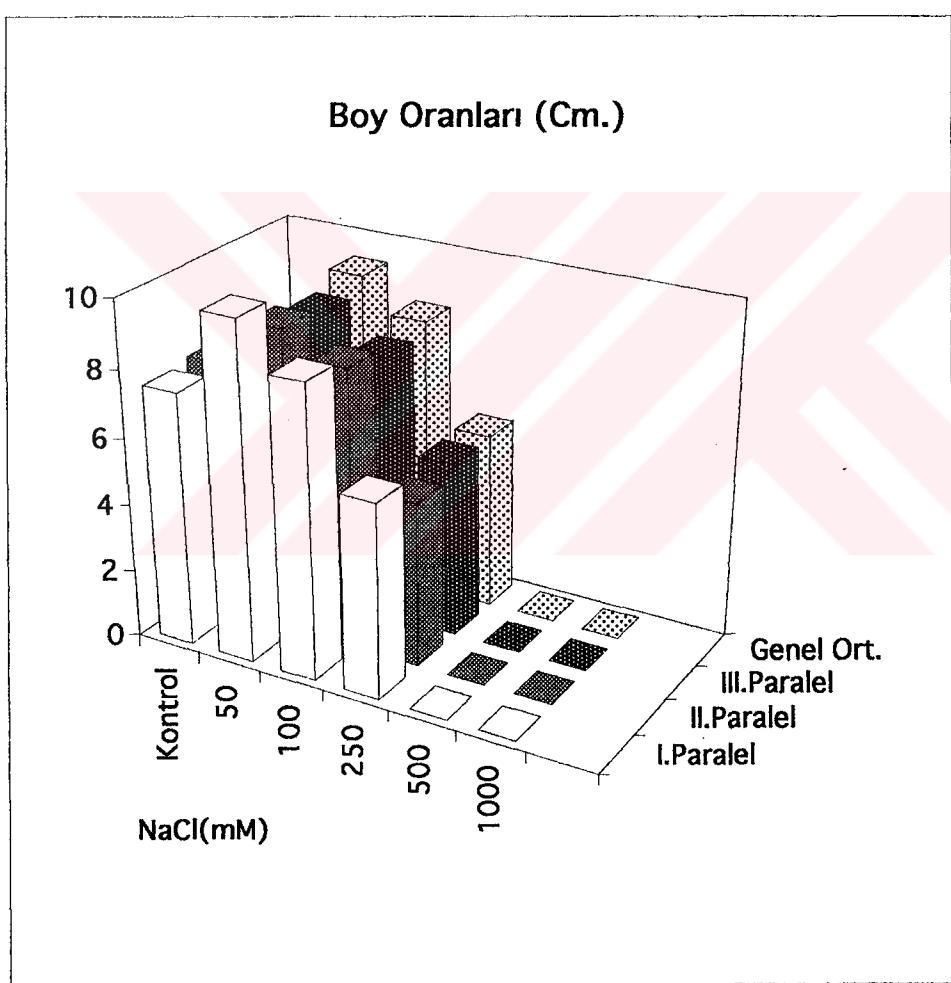
Grafik 7 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının TOSUN-144
Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi



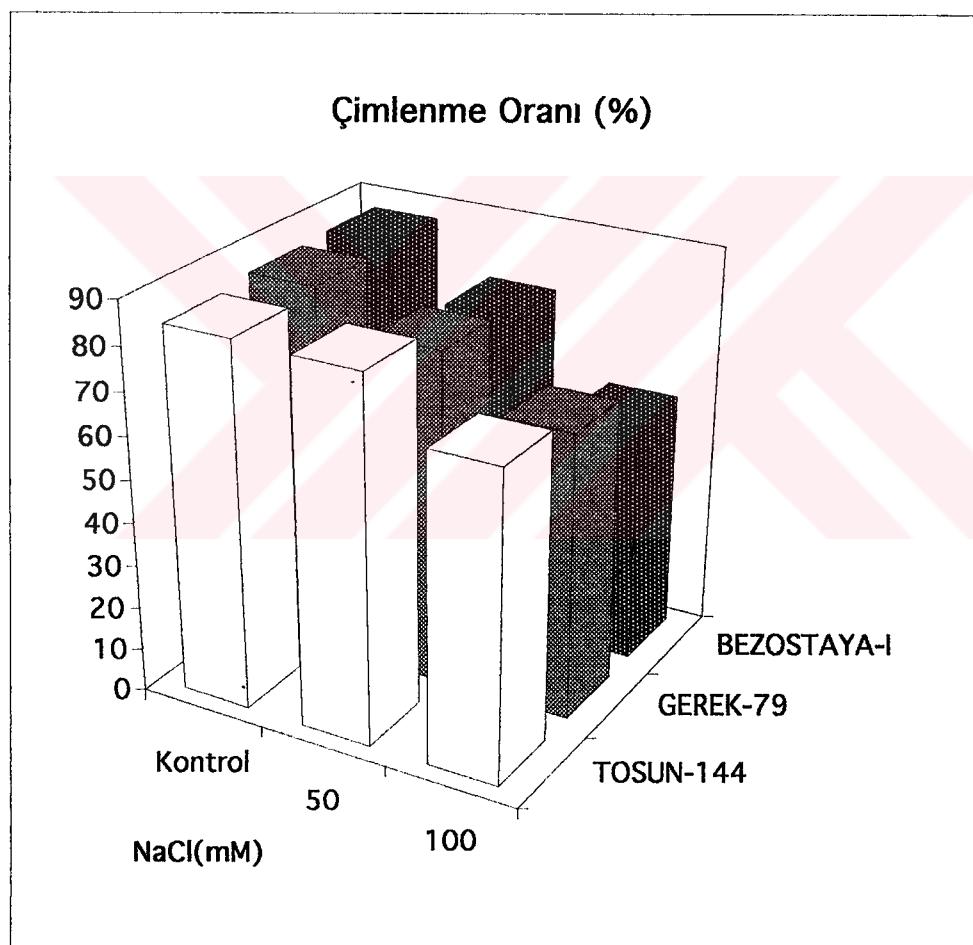
Grafik 8 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının GEREK-79
Buğday Çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi



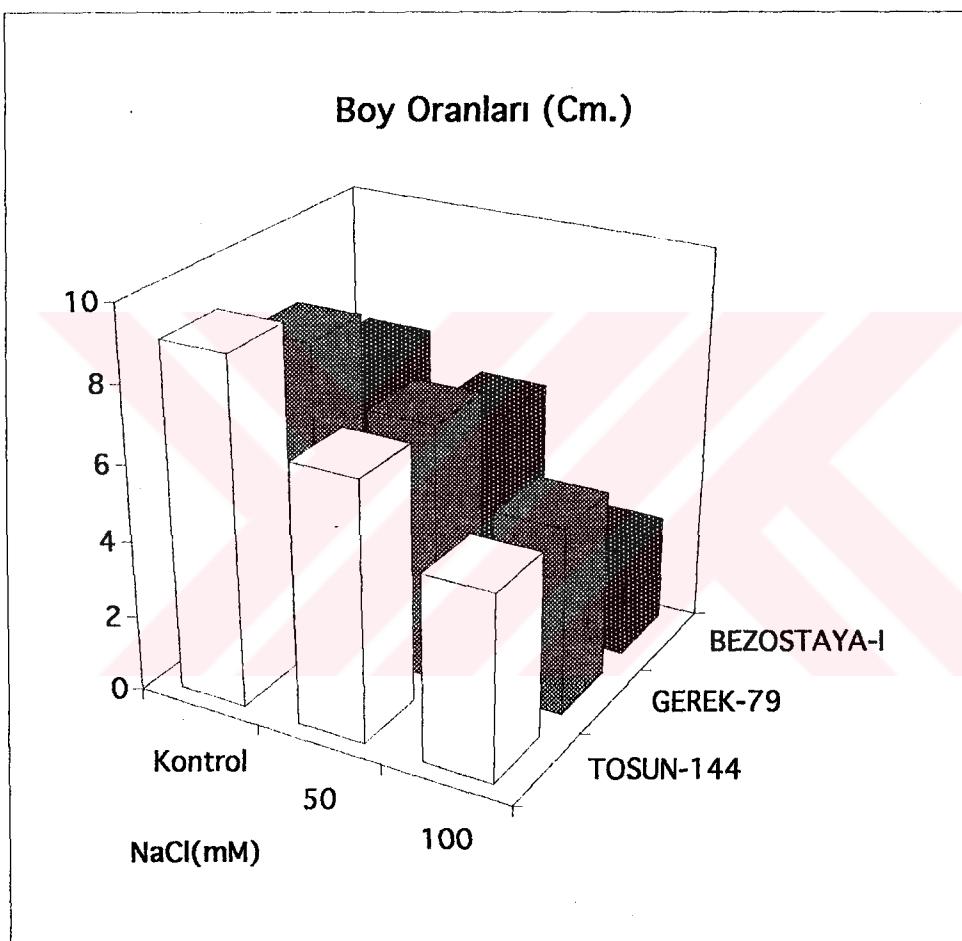
Grafik 9 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının BEZOSTAYA-I
Buğday çeşidinin Gelişimi Üzerine Etkisi



Grafik 10 : NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında
TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin
Ortalama Çimlenme Oranları.



Grafik 11: NaCl Tuzluluğunun Tohum Ekimi Evresinde Uygulandığında
TOSUN -144, GEREK-79 VE BEZOSTAYA-I Buğday
Çeşitlerinin Ortalama Boy Oranları



Grafik 12 : Fide Evresinde NaCl Uygulamasının TOSUN-144, GEREK-79 ve BEZOSTAYA-I Buğday Çeşitlerinin Ortalama Boy Oranları.

