



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Glycine max* L. BİTKİSİNDE TUZ STRESİ İLE NİTRİK
OKSİT ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Elif AYTAMKA
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Programı**

**Danışman
Doç. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ**

Haziran, 2005

İSTANBUL

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın hazırlanmasında her türlü destek ve yardımlarından dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. GÜL CEVAHİR ÖZ' e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve çalışmalarımda desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. SEMAHAT YENTÜR' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. MUAMMER ÜNAL'a, Yrd. Doç. Dr. SERAP ÇAĞ'a, Yrd. Doç. Dr. MİNE SARSAĞ' a ve özet kısmının çevirisinde yardımcı olan NADİM YILMAZER'e

Bu çalışmam sırasında her zaman yanımda olan çalışma arkadaşlarım SIRRI YÜZBAŞIOĞLU, EDA KAPLAN, ÇİĞDEM ÇİNGİL ve TAYLAN KÖSESAKAL' a

Çalışmalarım sırasında benden destek, ilgi ve sevgilerini eksik etmeyen ANNEME, BABAMA ve kardeşim ESRA'ya

İçtenlikle teşekkür ederim.

Haziran, 2005

Elif Aytamka

T-322/03112003 numaralı tez projemi destekleyen Araştırma Projeleri Yürütücü Sekterlięi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ	ix
ÖZET	x
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. Tuz Stresi Kavramı	3
2.2. Tuz Stresinin Bitki Büyüme ve Gelişmesine Etkisi.....	3
2.3. Bitkilerde Nitrik Oksit Kavramı	9
2.4. Nitrik Oksitin Bitki Büyüme ve Gelişimi Üzerine Etkisi	13
2.5. Biyotik ve Abiyotik Stres ile Nitrik Oksit Arasındaki İlişki.....	15
2.6. Nitrik Oksit ve Tuz Stresi Arasındaki İlişki	17
3. MALZEME VE YÖNTEM	19
3.1. Bitkisel Materyalin Seçimi	19
3.2. <i>Glycine max</i> L Fidelerinin Yetiştirilmesi.....	19
3.3. Çimlenme Yüzdesi	20
3.4. Oransal Su İçeriği Tayini.....	20
3.5. Klorofil Tayini.....	20
3.6. Total Çözünabilir Protein Miktarının Tayini	21
3.7. Peroksidaz Aktivitesinin Tayini	21
3.8. Prolin Tayini	21
3.9. İstatistiksel Hesaplamalar.....	22
4. BULGULAR	23
4.1. Çimlenme Yüzdesi	24
4.2. Oransal Su İçeriği	25

4.3. Klorofil Miktarı	27
4.4. Karotinoid Miktarı	30
4.5. Protein Miktarı.....	33
4.6. Peroksidaz Aktivitesi	36
4.7. Prolin Miktarı	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 4.1** Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO + 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO, 100 μ M SNP konsantrasyonlarında 2 gün ön işlem görmüş soya fidelerinin büyümesi üzerine tuzun etkisi..... **23**
- Şekil 4.2** : Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş tohumların çimlenme yüzdesi .. **25**
- Şekil 4.3** : Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO 100 μ M SNP ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarının oransal su içeriklerine ait değerlerin değişimi..... **26**
- Şekil 4.4** : Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarlarının değişimi **28**
- Şekil 4.5** : Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki total klorofil miktarlarının değişimi **29**
- Şekil 4.6** : Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki karotinoid miktarlarının değişimi **31**
- Şekil 4.7** : Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki karotinoid miktarlarının değişimi **33**
- Şekil 4.8** : Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının değişimi..... **34**
- Şekil 4.9** : Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki total protein miktarlarının değişimi **36**

- Şekil 4.10** : Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi **37**
- Şekil 4.11** : Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi **38**
- Şekil 4.12** : Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki prolin birikimindeki değişim **40**

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	: NO Biyosentezi ve sinyal mekanizması	12
Tablo 2.2	: Bitkilerde NO in etkilediği fizyolojik ve biyokimyasal olaylar.....	14
Tablo 4.1	: Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş tohumların çimlenme yüzdesi ..	24
Tablo 4.2	: Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 1 µM SNP+1 µM c-PTIO 100 µM SNP ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarının oransal su içeriğine ait değerlerin karşılaştırılması	26
Tablo 4.3	: Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarının karşılaştırılması	27
Tablo 4.4	: Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarının karşılaştırılması	29
Tablo 4.5	: Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki karotinoid miktarlarının karşılaştırılması.....	31
Tablo 4.6	: Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki karotinoid miktarlarının karşılaştırılması.....	32
Tablo 4.7	: Kontrol, 100 mM NaCl, 1 µM c-PTIO+NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 1 µM c-PTIO +1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması.....	34

Tablo 4.8	: Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması	35
Tablo 4.9	: Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin karşılaştırılması	37
Tablo 4.10	: Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki peroksidaz aktivitesinin karşılaştırılması	38
Tablo 4.11	: Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki prolin birikimindeki değişim	39

SEMBOL LİSTESİ

ABA	: absisik asit
ADC	: aşırı duyarlılık cevabı
BSA	: bovin serum albumin
cADPR	: siklik ADP-riboz
cGMP	: siklik guanil mono fosfat
c-PTIO	: 2-(4-karboksi-fenil)-4,5-dihidro-4,4,5,5-tetrametil-1H-imidazol-1-oksi-3-oksit potasyum tuzu
DAF-2	: 4,5-diaminoflourensan diasetat
GTP	: guanil mono fosfat
H₂O₂	: hidrojen peroksit
mM	: milimolar
NaCl	: sodyum klorür
NADP(H)	: nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	: nitrik oksit
NOS	: nitrik oksit sentaz
NR	: nitrat redüktaz
OSİ.	: oransal su içeriği
ONOOH	: peroksinitrit
PHÖ	: programlanmış hücre ölümü
POD	: peroksidaz
SA	: salisilik asit
SNAP	: S-nitroso-N-Asetil-Penisilamin
SNP	: sodyum nitroprussid
UV	: ultraviyole
µM	: mikromolar

ÖZET

***Glycine max* L. BİTKİSİNDE TUZ STRESİ İLE NİTRİK OKSİT ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Bu araştırmada *Glycine max* L. (soya fasulyesi) bitkilerinde tuz stresi ve nitrik oksit (NO) arasındaki ilişki incelendi.

G. max tohumlarının çimlenmesini ardışık, 6 günlük fideler NO vericisi olarak kullanılan değişik konsantrasyonlardaki sodyum nitroprussid (SNP) ve NO tutucusu olan c-PTIO ile 2 gün ön muamele edildi. Daha sonra fideler deneylerde kontrol grup olarak kullanılan ½ Hoagland besin çözeltisi ile hazırlanan 100 mM NaCl içeren hidroponik kültüre alındı. Deney sonunda 19 günlük soya fidelerinin çeşitli kısımlarında oransal su içeriği, klorofil, karotinoid ve total çözünebilir protein miktarı, peroksidaz enzim aktivitesi ile prolin birikimi tayin edildi.

Kontrol grubu bitkiler ile sadece 100 mM NaCl stresine maruz kalan bitkiler karşılaştırıldığında, tuzun soya fidelerinde büyümenin gerilemesine, yapraklarda sararmaya ve epinastik hareketlere neden olduğu gözlemlendi. Buna karşın 2 gün 0.01, 1, 100 µM SNP ile ön işlemden sonra tuz stresine maruz kalan bitkilerde azalan konsantrasyona bağlı olarak tuza karşı artan bir tolerans saptandı.

Tuz stresi altında soya fidelerinde oransal su içeriği, total klorofil, karotinoid, miktarlarının değişimi üzerine en etkin SNP konsantrasyonunun 0.01 µM olduğu tespit edildi. Total çözünebilir protein miktarı ve peroksidaz enzim aktivitesi ise tuz stresi etkisi ile artış gösterdi. Uygulanan tüm SNP konsantrasyonlarında, 100 mM NaCl deki protein ve peroksidaz değerlerinin altında sonuçlar elde edildi. En önemli tuzluluk parametrelerinden biri olan prolin birikimi ise kontrole göre 100 mM NaCl ve yükselen SNP konsantrasyonlarında giderek belirgin bir artış gösterdi. NO tutucusu 1 µM c-PTIO, 1 µM SNP ile birlikte uygulandığında NO tarafından oluşturulan tuza karşı toleransın azalarak, tuz grubu bitkilerin sonuçlarına yakın değerler saptandı.

Sonuç olarak, 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinde meydana gelen bazı olumsuz etkilerin, NO vericisi olan SNP nin dışarıdan uygulanması ile kısmen önlenilebildiği ve c-PTIO uygulaması ile NO in etkilerinin ortadan kaldırıldığı ileri sürülebilir. Ayrıca NO in *G. max* fidelerinde tuz stresine karşı gelişen toleransda rol oynayabileceği söylenebilir.

SUMMARY

THE RELATIONSHIP BETWEEN SALT STRESS AND NITRIC OXIDE IN *Glycine max* L. SEEDLINGS

This study examined the relationship between salt stress and nitric oxide in *Glycine max* L. seedling (soybean).

6 days old seedlings following germination of *G. max* L. seeds were pretreated with sodium nitroprussid (SNP), a NO donor, and c-PTIO, a NO scavenger, at different concentrations for two days. The seedlings were then taken into hydroponic culture containing 100 mM NaCl prepared with ½ Hoagland solution which was also used as the control group in the experiment.

Relative water content, chlorophyll, carotenoid and total soluble protein amounts, peroxidase activity and proline accumulation were determined in the several parts of the 19 days old seedlings. When the plants of the control group were compared with the plants subjected to 100 mM NaCl stress only, salt was observed to have led to regression of growth of the soybean seedlings, chlorosis of the leaves and epinastic movements. Opposingly, an increasing tolerance against salt was detected in the plants which were exposed to salt stress after a pretreatment of 0.01, 1, and 100 µM SNP for two days, depending on the decreased concentrations.

The most efficient SNP concentration on alterations of relative water content, total chlorophyll and carotenoid amounts in the soybean seedlings under salt stress was found to be 0.01 µM SNP. Total soluble protein amount and peroxidase activity were increased with the effect of salt stress. Values of protein amount and peroxidase activity at SNP concentrations were lower than those at 100 mM NaCl application. Proline accumulation, which is one of the most significant parameters for saltiness, showed a prominent elevation at 100 mM NaCl and at increasing SNP concentrations by the control. When a combination of 1 µM c-PTIO and 1 µM SNP was applied tolerance against salt which occurred with NO, was lowered, values being close to the results of the salt group.

In conclusion, one may put forward that negative effects seen in the soybean seedlings grown in the medium of 100 mM NaCl can partly be prevented with exogenously applied NO, and NO action is removed with c-PTIO application. In addition, NO can be said to be involved in developing tolerance against salt stress in *G. max* L. seedlings.

1. GİRİŞ

Çevresel faktörlerden biri olan tuzluluk gerek dünya gerekse Türkiye tarımı için son derece önemli güncel problemlerden biridir. Bu nedenle bitkilerin büyüme ve gelişimi üzerinde olumsuz etkiler meydana getiren tuz stresi bitki fizyologlarının önemli çalışma konuları arasında yer almaktadır. Son yıllarda bu konu ile ilgili yapılan araştırmalar oldukça dikkat çekicidir ve sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Toprakları gittikçe çoraklaşan Ülkemizde de başarılı bir tarım yapabilmek ve yüksek ürün alabilmek için bitki ile tuzluluk arasındaki ilişkilere ışık tutacak araştırmaların yapılması son derece önemlidir. Özellikle Türkiye tarımında ekonomik değere sahip bazı sebze ve tahıl bitkilerinin büyüme ve gelişmesi üzerine tuzluluğun etkilerinin araştırılması gerekmektedir.

Son yıllarda bitkilerde varlığı saptanan önemli bir haberci molekül olan nitrik oksitin (NO), pek çok fizyolojik ve biyokimyasal olayda rol oynadığı bilinmesine rağmen etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu konuda doyurucu bir açıklama yapılamamıştır. Yapılan literatür incelemelerinde biyotik ve abiyotik stres faktörleri ve NO arasında da bir ilişkinin olduğu bilinmekle birlikte, tuzluluk ve NO etkileşimi ile ilgili çalışmalar hakkında oldukça sınırlı sayıda kaynak mevcuttur. Bu nedenle çalışmanın başlıca amacı, bitkilerde NaCl tipi tuzluluğun etkisi altında meydana gelen bazı metabolik değişikliklerde haberci molekül özelliğine sahip NO in muhtemel rollerini saptamak ve tamamlayıcı bilgiler elde etmektir.

Tez çalışma konusu, *Glycine max* L. (soya fasulyesi) bitkisinde tuz stresi ile NO arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. Bu amaçla, ½ Hoagland besin çözeltisi içerisinde hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (0.01, 1, 100 μ M) NO vericisi olan sodyum nitroprussid (SNP) ve NO tutucusu c-PTIO ile 2 gün ön işlem görmüş 6 günlük soya fideleri, 11 gün boyunca 100 mM NaCl stresine maruz bırakılmışlardır. Sadece ½ Hoagland çözeltisinde yetiştirilen bitkiler kontrol grubu olarak alınmıştır. Hem kontrol grubunda hem de deney serilerinde yetiştirilmiş toplam 19 günlük soya fidelerinin

çeşitli kısımlarında oransal su içeriği, klorofil ve karotinoid pigment içeriği, total çözünebilir protein miktarı, peroksidaz aktivitesi ile prolin birikimi tayin edilmiştir. Böylece tuz stresi koşulları altında meydana gelen bu değişiklikler ile NO konsantrasyonları arasında bağlantılar kurmaya ve bu etkileşimi mümkün olduğu kadar açıklığa kavuşturmaya çalışılmıştır. Burada elde edilen veriler temel bir bilim olan bitki fizyolojisinde bu konu ile ilgili literatürdeki eksikliği bir dereceye kadar kapatabilecektir. Ayrıca ekonomik değere sahip soya bitkisinin gittikçe çoraklaşan topraklardaki adaptasyonunda ve ürün eldesinde bu araştırmanın sonuçlarının faydalı olacağı düşünülmektedir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. TUZ STRESİ KAVRAMI

Çevresel streslerden biri olan tuzluluk dünyadaki tarım alanlarının büyük bir bölümünde bitkisel üretimi sınırlayan çok önemli bir faktördür (Datta ve diğ. 2000). Birleşmiş Milletler Besin ve Tarım Organizasyonu'nun (FAO) tahminlerine göre 930 milyon hektar olan dünya topraklarının yaklaşık %7 si tuzluluktan etkilenmektedir (Szaboles,1994; Barrett-Lennard, 2000). Nüfusu belli bir hızla artan ve beslenmesinin temelini tarımsal ürünlerin oluşturduğu ülkemizde de toprakların önemli bir bölümü kurak ve yarı kurak olduğundan çoraklaşma diğer bir deyimle tuzluluk giderek artmakta ve sonuçta verimlilik azalmaktadır (Çakırlar, 1989; Ghassemi ve diğ. 1995). Gerek doğa koşulları (okyanuslar, ana materyal, iklim, küresel ısınma, topografya ve erozyon) gerekse aşırı sulama ve fazla gübreleme gibi primer (doğal) ve sekonder (insan kaynaklı) kökenli etmenler toprakta tuz birikimine neden olmaktadır ve bu alanlarda ürün yetiştirilmesi de oldukça kısıtlanmaktadır. Bu durumda ya tarıma uygun toprakların tuzluluk nedeni ile verimsiz hale dönüşmesini önlemek ve bu topraklara uyum sağlayabilecek tür seçimi yapmak ya da genetik olarak tuza dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bundan dolayı Türkiye için çok ciddi bir problem olarak karşımıza çıkan tuzlanma ile ortaya çıkan sorunların giderilmesi, alınması gereken önlemler ve çözüm yolları ile ilgili araştırmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

2.2. TUZ STRESİNİN BİTKİ BÜYÜME VE GELİŞMESİNE ETKİSİ

Uzun yıllardan beri tuzluluğun, halofitler (tuza toleranslı) hariç, tüm bitkilerin metabolizmasını, büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilediği ve ürün eldesinde uygun olmayan koşullar yarattığı bilinmektedir. Literatürde tuz stresi terimi topraktaki total tuzların yüksek konsantrasyonları için kullanılmaktadır ve doğada tuz stresinin bir

çoğu sodyum klorüre (NaCl) bağlıdır. Tuz stresinin bitki büyüme ve verimi üzerindeki sınırlayıcı etkisini meydana getiren mekanizmalardan birisi osmotik etki ile ilgili olandır. Yaşamını devam ettirmek için suyu topraktan almak zorunda olan bitkilerin yetişme ortamındaki yüksek tuz konsantrasyonları, toprak su potansiyelini azaltarak fizyolojik kuraklığa neden olmakta ve toprakta yeterli su bulunsa bile bitki bu suyu yeterince alamamaktadır (Mayer ve Poljakoff-Mayber, 1975; Çakırlar ve Bozcuk, 1982; Weimberg, 1988; Hayashi ve Murata, 1998). Diğer bir mekanizmada ise tuz iyonları osmotik etkiye ilave olarak toksik etkiye sahiptir. Özellikle Na^+ , Cl^- ya da SO_4^{2-} iyonları zararlı konsantrasyonlarda biriktiği zaman spesifik bir şekilde bitkideki birçok metabolik olaya ket vurmaktadır (Çakırlar ve Bozcuk, 1982; Hayashi ve Murata, 1998; Taiz ve Zeiger, 2002). Bazı bitkilerde tuzlu koşullara karşı oluşturulan hücresel, biyokimyasal ve moleküler düzeydeki cevaplarda hem osmotik etki hem de iyonların toksik etkisi rol oynamakta ise de bitki büyümesinde osmotik stresin iyonik stresten daha etkin olduğu kaydedilmiştir (Ashraf, 1994a). Ayrıca tuz iyonlarının meydana getirdiği osmotik ve toksik etkinin yanı sıra, Na^+ ve Cl^- iyonlarının antagonist etkileri nedeni ile bazı yaşam için gerekli iyonların alınması da engellenerek bitki beslenmesi olumsuz yönde etkilenmektedir (Kinzel, 1982; Hayashi ve Murata, 1998).

Sonuç olarak, tuz stresi önce toprağın, ardından bitkinin su potansiyelinin azalmasına, iyon dengesizliğine ve toksisiteye neden olmaktadır. Yüksek tuz konsantrasyonlarında aşırı miktarda biriken Na^+ K^+ alınımını, Cl^- ise özellikle NO_3^- alınımını engelleyerek bitkilerde iyon dengesizliği ortaya çıkmaktadır (Watad ve diğ., 1991). Ayrıca tuzluluk bitkilerde çimlenme, büyüme, fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması, yaprakta klorosis ve senesens gibi tüm önemli olayları etkilemektedir (Gorham ve diğ., 1985; Cevahir, 1992; Munns, 2002; Munns ve James, 2003). Tüm bu fizyolojik etkilerin yanı sıra yaprak anatomisi üzerine tuzluluğun etkileri de çalışılmıştır. Tuz stresi fasulye, pamuk ve *Atriplex* bitkilerinin yapraklarında epidermis, palizad ve sünger parenkiması hücrelerinin hem çaplarının hem de uzunluğunun artmasına neden olmaktadır. Ayrıca tuzluluk ile yaprakta vakuolleşmeler, endoplazmik retikulumda kısmi şişkinlik, hücrelerarası alanda, mitokondri kristallerinde, kloroplast ve stoma sayısında azalmalar meydana gelmektedir (Parida ve diğ., 2004a).

Tuz stresinin bitkilerin büyümesi üzerindeki etkisi tuzluluğun tipine, uygulama süresine, şiddetine, bitki türüne, özellikle stresin meydana geldiği gelişme dönemine bağlıdır. Değişik bitki türleri ve varyeteleri ile yapılan çalışmalar tuza duyarlılığın Cl^- ve Na^+ iyonlarının fazla miktarda alınmasına bağlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca iyon konsantrasyonu açısından türler arasında hatta aynı bitkinin farklı kısımları arasında bile büyük farklar olduğu bildirilmiştir (Greenway ve Munns, 1980).

Bitkilerin en fazla tuza duyarlı olduğu basamak tohum çimlenme evresidir, daha sonraki büyüme ve gelişme evrelerinde tuza karşı dayanıklılık biraz daha artmaktadır (Strogonov, 1964; Karaki, 2001). Tuz stresı koşullarında ortam suyunun osmotik potansiyelinin artarak tohumun su alıp şişmesi ve böylece çimlenmesi ile ilgili fizyolojik olayların başlaması inhibe olmaktadır (Mayer ve Poljakoff-Mayber, 1975; Bozcuk, 1978; Bliss ve diğ., 1986; Saleki ve diğ., 1993). Saleki ve diğ. (1993) tuzlu koşullar altında çimlendirilen *Arabidopsis thaliana* mutantlarının çimlenme aşamasında Na^+ iyonunun toksik etkisine osmotik stresten daha duyarlı olduklarını saptamışlardır. Tuzluluk ile çimlenmenin inhibisyonunda başlıca kotiledonlardaki karbonhidrat ve protein depolarının hareketlenmesinde görev alan bazı enzimlerin (α -amilaz, proteaz ve RNaz) aktivitelerinin inhibe olduğu, solunumun engellendiği ve zar permeabilitesinin etkilendiği ileri sürülmüştür (Prisco ve diğ. 1981; Gomes ve diğ. 1988). Ayrıca Kocaçalışkan ve Kabar (1990) farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen cüce fasulye ve mısır tohumlarının, tuz oranı arttıkça polifenol oksidaz (PPO) ve amilaz aktivitelerinin azaldığını, buna karşın protein içeriklerinin arttığını bulmuşlardır.

Çimlenmeyi ardışık büyüme evresinde bitkilerin kök, gövde ve yaprak gibi vegetatif organlarının tuz uygulamalarından birkaç dakikadan saate, günlere, haftalara ve hatta aylara varan dönemlerde değişik oranlarda etkilendiği bilinmektedir (Munns, 2002). Özellikle, tuz uygulanmasından sonra ilk dakikalarda kök ve yapraklarda büyüme oranında hızlı ve ani değişimler meydana gelmektedir. Mısır, pirinç, buğday ve arpada yapılan deneylerde ani uygulanan yüksek tuz konsantrasyonunun osmotik etkiden dolayı yaprak yüzeyi genişlemesinde hızlı ve geçici azalmalara neden olduğu gösterilmiştir (Cramer ve Bowman, 1991; Yeo ve diğ., 1991; Neumann, 1993; Passioura ve Munns, 2000; Munns, 2002). Ayrıca tuzun meydana getirdiği toksik etki, yaşlı yapraklarda genç yapraklardan daha fazla gözlenmektedir (Colmer ve diğ. 1995).

Rodriguez ve diğ. (1997) nin yaptıkları çalışmada 150 mM NaCl ile işlem görmüş mısır köklerinde, başlangıç anında meydana gelen büyümedeki azalmanın, muhtemelen tuz ile teşvik edilmiş Ca^{++} eksikliğinden kaynaklanacağı ileri sürülmüştür. Benzer sonuçlar 150 mM NaCl uygulanmış *Sorghum* köklerinde de izlenirken, Ca^{++} varlığında %20, yokluğunda ise %80 oranında bir azalma saptanmıştır (Colmer ve diğ. 1996). Buna ilave olarak domates, mısır ve buğday bitkilerinde düşük konsantrasyonlarda uygulanan NaCl ün kök uzunluğunda artışa, gövde uzunluğunda ise bir azalışa neden olduğu gösterilmiştir (Cramer ve diğ., 1988; Rodriguez ve diğ., 1997). Tuz stresi kök, gövde ve yaprakların taze ve kuru ağırlığında da dikkate değer azalmalara neden olmaktadır (Chartzoulakis ve Klapaki, 2000). Meloni ve diğ. (2001) artan NaCl miktarına bağlı olarak pamukta kök/gövde oranının arttığını bulmuşlardır.

Bitkilerde tuz stresine karşı oluşturulan fizyolojik cevaplar, özellikle tuza hassas türlerde haftalar geçtikçe daha da belirgin hale gelmektedir. Tuzun meydana getirdiği zarar, yaşlı yaprakların sararması ya da ölümü ile gözle görülür olmaktadır. Bu durum aylar geçtikçe bitkide daha hızlı seyretmektedir. NaCl ün reproduktif organların oluşumunu etkileyerek çiçeklenme olayını geciktirdiği de ileri sürülmektedir (Munns ve Rawson, 1999; Zandt ve Mopper, 2002). Örneğin, tahıllarda tuz stresinde başak başına düşen çiçek sayısı azalır, çiçeklenme ve sonuçta olgunlaşma zamanı değişir (Munns ve Rawson, 1999). Bununla birlikte Cevahir (1992) %0.6 NaCl konsantrasyonlarında yetiştirilen *Helianthus annuus* bitkisinin kontrol bitkilere göre vegetatif evreyi tamamlayıp hızla reproduktif evreye geçtiğini rapor etmiştir. Tuzluluğa karşı oluşturulan cevaplarda meyve verimi üzerine olan araştırmalar oldukça sınırlı olmakla birlikte toprak tuzluluğunun toksik düzeylerde olmasa bile *Citrus*'da meyve üretimini azalttığı bilinmektedir (Maas, 1993). NaCl stresi altında çiçek, meyve ve tohum sayısının indirgenmesinin yanı sıra meyvelerin küçüldüğü, dolayısıyla bitkiden elde edilen verimin oldukça azaldığı da kaydedilmiştir (Mitchell ve diğ., 1991; Soria ve Cuartero, 1997).

Bitkilerde yüksek tuz konsantrasyonu altında meydana gelen önemli fizyolojik değişiklikler arasında yapraklarda klorofil ve karotinoid içeriğinin azalması, fotosentezin indirgenmesi, stomaların kapanıp transpirasyonun azalması yer almaktadır (Burugnoli ve Björgman, 1992; Salama ve diğ., 1994; Goldstain ve diğ., 1996;

Mickelbart ve Marler, 1996; Agastian ve diğ. 2000; Tezera ve diğ. 2002; Burman ve diğ. 2003; Ashraf, 2004). Wang ve Nil (2000) tuzlu koşullarda *Amaranthus*’da klorofil içeriğinin arttığını, Kennedy ve De Fillippis (1999) buna zıt olarak *Grevillea*’de protoklorofil, klorofil ve karotinoidlerin belirgin şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde *Bruguiera parviflora*’da tuz stresi yapraklarda klorofil a, b ve karotinoid içeriğinde azalmalara neden olmaktadır (Parida ve diğ. 2002).

Tuzluluğun büyümeyi teşvik edici ya da ket vurucu hormonların sentezi üzerine farklı şekilde etki ettiği bilinmektedir (Topçuoğlu ve Çakırlar, 1990). Yüksek tuz konsantrasyonu absisik asit (ABA) ve sitokinin düzeylerinde artışa neden olmaktadır (Vaidyanathan ve diğ. 1999). Ayrıca jasmonatlar bitkilerde tuz toleransında önemli rollere sahiptir. Deneysel veriler jasmonat düzeylerinin tuza toleranslı domates bitkilerinde hassas olanlardan daha yüksek olduğunu göstermiştir (Hilda ve diğ. 2003).

Tuz stresi koşullarında, hücresel düzeyde membran yapısının bozulup, permeabilitenin değişmesi sonucu dış ortama sızan elektrolit miktarının artışı ile beraber plazma membranı ve tonoplast ATPaz aktivitesinde de artış söz konusudur (Kuiper, 1984; Dietz ve diğ. 2001). Son yıllarda tuzluluğun yol açtığı biyokimyasal değişiklikler arasında süperoksit (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) gibi aktif oksijen türlerinin oluşumu dikkat çekmektedir. Böyle sitotoksik oksijen radikallerinin membranlara, fotosentetik pigmentlere ve lipid, protein, nukleik asit gibi makromoleküllere zarar verdiği ortaya konmuştur (Fadzilla ve diğ., 1997; Shalata ve Tal, 1998).

Bitkiler tuzlu koşullardaki davranışlarına göre halofitler (tuza toleranslı) ve glikofitler (tuza hassas) olmak üzere iki gruba ayrılır. Halofitler genellikle iyonları biriktirerek yüksek turgor potansiyellerini koruma özelliğine sahiptir. Buna karşın, tuz stresi koşullarında yetişen glikofitlerin yaşamlarını sürdürmeleri için, tuzun meydana getirdiği olumsuz etkileri ortadan kaldıracak moleküler ve biyokimyasal bazı adaptasyon mekanizmaları geliştirdikleri bilinmektedir. Bunlar arasında iyonların dışarıda bırakılması ya da seçici biriktirilmesi, köklerden yapraklara kontrollü olarak iyon taşınması ve depolanması, uyumlu erimiş maddelerin sentezi ve depolanması, fotosentetik yolun, membran yapısının, bitki hormonlarının miktarının değişimi ve

antioksidan enzimlerin aktivitesinin teşviki yer alır. Özellikle bitkiler tuz stresi sırasında osmoregülasyonda görev alan başlıca Na^+ , K^+ gibi inorganik iyonlar ile prolin (amino asit), glisin betain (kuaterner amonyum bileşiği) gibi bazı organik maddeleri yapılarında biriktirirler (Hellebust, 1976; Greenway ve Munns, 1980; Voetberg ve Steward, 1984; Ashraf, 1994a; Mansour, 2000; Ashraf ve Bashir, 2003; Parida ve Das, 2005). Ayrıca bitkilerin gliserol, şekerler (glukoz, fruktoz, sukroz), organik asitler ile amino asitler (glisin, alanin, arginin, serin, lösin, valin, sitrullin, ornitin), amidler (glutamin, asparagin), imino asitler, proteinler, dehidrinler gibi azot içeren bileşikleri ve poliaminleri biriktiği de saptanmıştır (Mansour, 2000; Ashraf, 2004). Tuz stresine maruz kalmış bitkilerde en fazla biriken amino asidin prolin ve osmotik düzenlemede görev alan en önemli maddenin ise glisin betain olduğu bilinmektedir (Abraham ve diğ., 2003; Yang ve diğ., 2003). *Pringlea antiscorbutica*'nın yaprak, gövde ve köklerinde prolinin, vakuole göre sitoplazmada daha yüksek konsantrasyonda biriktiği rapor edilmiştir (Aubert ve diğ. 1999). Ayrıca bitki hücreleri tuza adaptasyonda sitosolde yüksek K^+/Na^+ konsantrasyonunu sürdürebilmek için sitosolik Ca^{++} düzeylerinde geçici bir artış meydana getirirler.

NaCl stresi altında, arpa, ayçiçeği, pirinç gibi tuza hassas bitkilerde total çözünebilir protein miktarı azalırken, bazı özel düşük moleküler ağırlıklı stres proteinlerin sentezinin arttığı saptanmıştır (Hurkman ve diğ., 1989; Ashraf ve Tufail, 1995; Lutts ve diğ., 1996; Ashraf ve O'Leary, 1999; Parida ve diğ. 2002; Parida ve Das, 2005). Agastian ve diğ. (2000) çözünebilir proteinlerin düşük tuz konsantrasyonunda arttığını, yüksek tuz konsantrasyonunda ise azaldığını bulmuşlardır. Değişik bitki türlerinde tuz stresi ile teşvik edilmiş bazı stres proteinleri tanımlanmıştır. Bunlar arasında tütünde osmotin (26 kDa ağırlığındaki), arpada osmotinden farklı bir polipeptid olan germin, turpta 22 kDa ağırlığında başka bir proteinin varlığı da kanıtlanmıştır (Singh ve diğ., 1987; Hurkman ve diğ., 1991; Lopez ve diğ., 1994; Ashraf ve Harris, 2004). Ayrıca tuzluluk mısır köklerinde 61, 51, 39 ve 29 kDa ağırlığında dört polipeptidin birikimini teşvik etmektedir (Tamas ve diğ. 2001). Son yıllarda tuz toleransının moleküler mekanizması ile ilgili çalışmalarda tuz stresi ile teşvik edilmiş çok sayıda gen tanımlanmıştır (Shinozaki ve diğ. 1998). Bunlar arasında *Arabidopsis thaliana*'da *sal 1*, *Brassica napus*'da *Bnd 22* ve *Lycopersicon esculentum*'da *le-16* genleri bulunmaktadır (Plant ve diğ. 1991; Reviron ve diğ. 1992; Quintero ve diğ. 1996; Parida ve Das, 2005).

Tuzluluk ile oluşan aktif oksijen radikallerine karşı koruyucu olarak antioksidan aktiviteye sahip bazı enzim sistemleri (süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz, katalaz) aktivitelerini arttırarak, bu olumsuz etkilerin ortadan kaldırılmasında görev almaktadırlar. Tuz stresi koşullarında katalaz, askorbat peroksidaz, guaiacol peroksidaz, glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz aktiviteleri artış göstermektedir ve enzim düzeyleri ile tuz toleransı arasında bir korelasyon kaydedilmiştir. Bu enzimlerin yanı sıra askorbat, glutatyon, β -karoten, α -tokoferol ve antosiyaninler gibi antioksidan moleküllerin de tuzluluğa karşı toleransda koruyucu role sahip oldukları kanıtlanmıştır (Anderson ve diğ., 1995; Hernandez ve diğ., 2000; Eryılmaz, 2003).

Bitkilerin büyüme ve farklılaşma olaylarında önemli rolü olan peroksidaz (POD) lignin biyosentezinden ve hücre çeperinin oksidatif polimerizasyonundan sorumlu bir enzimdir. Bir stres parametresi olarak da dikkate alınan POD ın kuraklık, soğuk, hava kirleticileri, Mg^{++} eksikliği ve ışık stresi gibi çevresel faktörlerin etkisi ile aktivitesinin arttığı bulunmuştur. Çeşitli stres koşulları altında ortaya çıkan aktif oksijen türlerinden biri olan H_2O_2 i ya katalaz ile su ve oksijene ya da peroksidaz izozimlerinin aktivitesi ile askorbat, fenolik bileşikler, flavononlar ve antosiyaninlerin oksidasyonu yardımıyla parçalamaktadır (Chang ve diğ. 1984; Jovanovic ve diğ. 1997; Parida ve diğ. 2005).

2.3. BİTKİLERDE NİTRİK OKSİT KAVRAMI

Uzun yıllardan beri canlılarda varlığı bilinen nitrik oksit (NO: azot monoksit), son yıllarda hem memelilerde hem de bitkilerde anahtar haberci molekül olarak dikkatleri üzerine çekmiştir. NO in bitkiler tarafından salındığı ve bitki büyümesi üzerine olan etkileri ancak 1970 lerin başında anlaşılmıştır (Anderson ve Mansfield, 1979; Klepper, 1979). Bu yıldan itibaren, bitkilerde NO ile ilgili çalışmalar, Leshem (Leshem ve Haramaty, 1996) ve Lamattina (Laxalt ve diğ., 1997) gibi araştırmacılar ile son derece sınırlı kalmıştır. Özellikle, 1998 yılında NO in bitki savunma sinyali olarak tanımlanmasından sonra NO ve bitki biyolojisi ile ilgili çalışmalarda kaydedeğer bir artış olmuştur (Durner ve Klerssig, 1999; Beligni ve Lamattina, 2001a; Wendehenne ve diğ., 2001; Neill ve diğ., 2002b, 2003).

NO, düşük moleköl ağırlıklı, lipofilik özellikte olduğundan dolayı hücre membranlarından kolayca difüzyona uğrayabilen, renksiz ve gaz yapısında bir moleküldür. Ayrıca çiftlenmemiş elektron taşıması nedeniyle serbest radikal olarak kabul edilen NO başka moleküllerle kuvvetli reaksiyonlara girebilen, birkaç saniye yarı ömrü olan fizyolojik haberci moleköl olarak tanımlanmaktadır (Durner ve Klessig, 1999; Neill ve diğ., 2002a). NO tek başına yüksek konsantrasyonlarda dahi hücrelere zarar vermez ancak hücrelerde kontrolsüz üretim ile artan NO, süperoksit anyonları ile reaksiyona girerek peroksinitriti meydana getirmesi sonucunda toksik etki göstermektedir. NO in reseptör molekülleri aktive etmediği, bunun yerine birkaç farklı mekanizma yolu ile hedef moleküllere kovalent olarak bağlanarak hücrelerin yaşaması için temel biyokimyasal süreçlerden biri olan mitokondrilerdeki solunumu baskıladığı, demir sülfür içeren enzimlerle ilişkiye girerek bunların etkinliğini engellediği ve DNA da yıkımlara yol açtığı da bilinmektedir (Van der Viet ve diğ., 1996; Stöhr ve Ullrich, 2002).

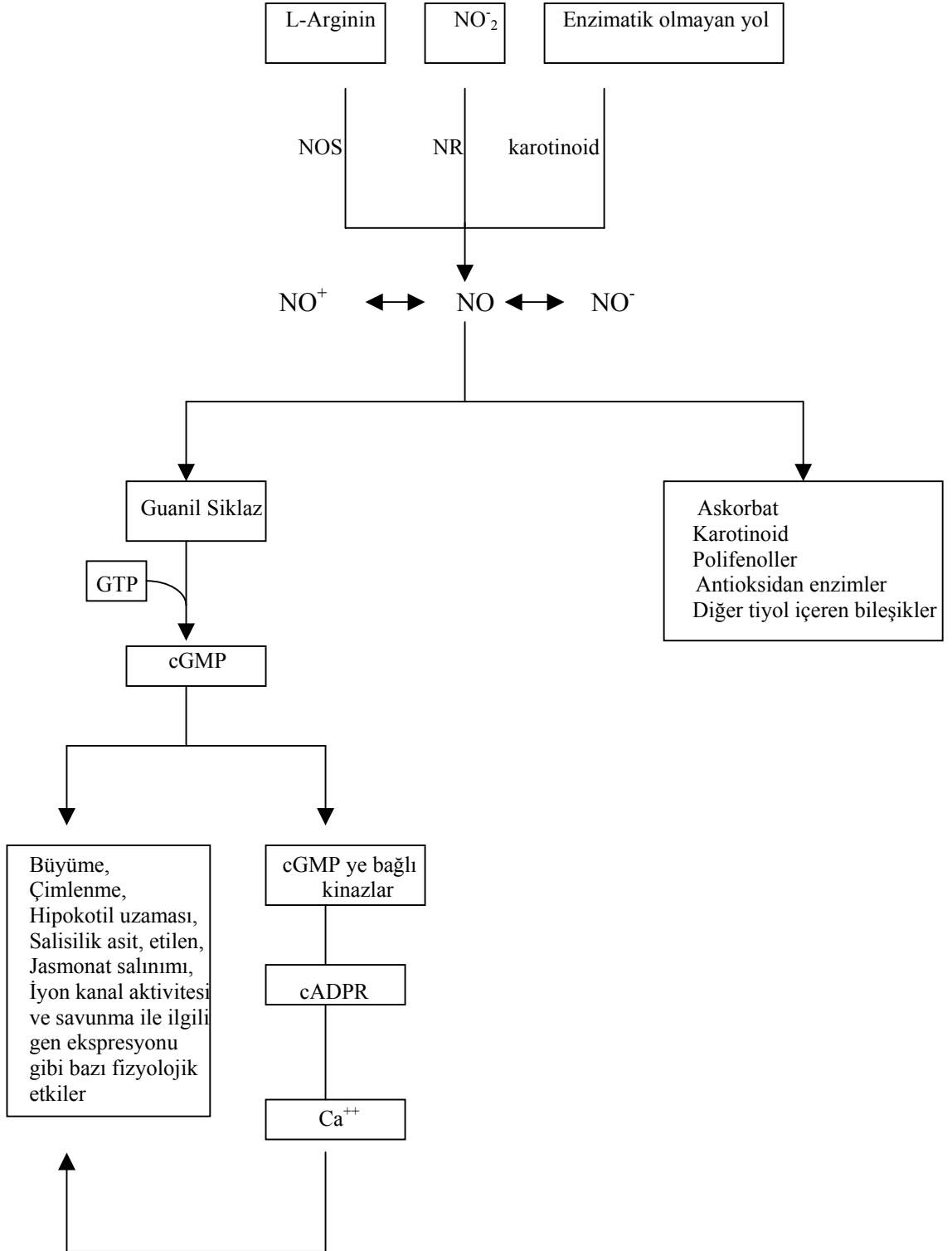
NO, normal koşullarda bitki hücrelerinde az miktarda sentezlenip salınmaktadır. Bitkilerde NO enzimatik ve enzimatik olmayan iki farklı metabolik yol ile sentezlenmektedir. NO sentezi bitki türüne, dokusuna, içinde bulunduğu yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Bitki hücrelerinde NO üretim yeri sitosol, nukleus, peroksizom matriksi ve kloroplastlardır. Enzimatik yollardan biri olan ve memelilerdeki nitrik oksit sentaza (NOS) benzeyen ancak henüz tanımlanmamış bir enzim ile bitki hücrelerinde L-argininin katalizlenmesi sonucu NO oluşmaktadır (Şekil 2.1). Bitkilerde NOS ın kloroplast ve peroksizomlarda bulunduğu rapor edilmiştir (Barroso ve diğ. 1999; Pedrosa ve diğ. 2000). Kuo ve diğ. (1995) fare NOS antikorlarını kullanarak buğday tohumlarında NOS varlığını göstermişlerdir. Ayrıca bu yöntem kullanılarak bezelye, buğday ve mısır bitkilerinde de NOS varlığı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Sen ve Cheema, 1995; Ribeiro ve diğ., 1999). Ninneman ve Maier (1996) tarafından yüksek bitkilerde işaretlenmiş sitrullin oluşumunun gösterilmesinin yanısıra, L-NNA (N^G -nitro-L-arjinin) ve L-NAME (N^W -nitro-L-arjinin metil ester) gibi inhibitörler kullanılarak NOS aktivitesi kanıtlanmıştır. Bütün bu verilerin yanısıra, bazı bitkilerin yaprak ekstratlarında ve dokunulmamış dokularda NOS inhibitörlerinin NO sentezi üzerine hiçbir etkisi olmadığını savunan araştırmacılar da

bulunmaktadır (Clarke ve diğ., 2000; Rockel ve diğ., 2002). Diğ er bir enzimatik yolda ise yüksek bitkilerde nitrat asimilasyonu için anahtar enzim olan ve nitratın nitrite dönüşümünü katalizleyen nitrat redüktaz (NR), nitritten NO i oluşturmaktadır (Ş ekil 2.2). NR ın siyanüre duyarlı oldu ğ u, optimum pH 6,75 de nitritten NAD(P)H 1 kullanarak in vitro ve in vivo koş ullarda NO i ürettiğ i kanıtlanmı ş tır (Harper, 1981; Dean ve Harper, 1986; Yamasaki ve Sakihama, 2000). Enzimatik olmayan yol da asidik pH da askorbat, dehidroaskorbik asit ve NO i sentezlemek üzere nitros asitle reaksiyona girer (Weitzberg ve Lundberg, 1998). Diğ er bir enzimatik olmayan yol ise ış ığ a bağı mlı olarak NO₂ in NO e dönüşümünün karotinoidler aracılığ ı ile katalizlenmesidir (Cooney ve diğ ., 1994).

NO kolaylıkla difüze olmasına rağ men, uzun ya da kısa mesafede NO öncü maddeleri ve vericileri olarak taş ınmaktadır (Jackson, 2002). Ö rneğ in, bitki hücrelerinde NO in öncü maddesi olan nitritin ksilem yolu ile taş ındı ğ ı bilinmektedir (Desikan ve diğ ., 2002).

Bitkilerde NO ile ilgili bulgular her geç en gün artmaktadır, ancak sinyal mekanizmasının süreçleri hakkında yine de çok az ş ey bilinmektedir (Tablo 2.1). Bilgilerimize göre NO için bugüne kadar spesifik bir reseptörün varlı ğ ı kanıtlanamamı ş tır (Neill ve diğ ., 2003). Bununla birlikte hücreler NO e oldukça duyarlıdır ve varlı ğ ında çeş itli hücresel aktiviteler gerç ekleş ir. NO, sinyal iletim yolunda ya iyon kanal proteinlerini ve onların gen anlatımlarını düzenleyen proteinleri doğ rudan aktive eder ya da protein kinazlar, iyon kanalları, ikincil haberci üreten enzimler gibi sinyal proteinlerle dolaylı yoldan iliş kiye girer (Neill ve diğ ., 2003; Crawford ve Guo, 2005). Genellikle NO sinyal mekanizması, ikincil haberci olan cGMP a bağı mlı ve cGMP dan bağı msız olarak iki ş ekilde oluş maktadır (Bogdan, 2001). cGMP a bağı mlı yolda, GTP dan cGMP sentezini sağı layan guanil siklaz (GC) enzimini aktive ederek, cGMP miktarını arttırır. Böylece artan cGMP miktarı diğ er bir ikincil haberci olan cADPR aktivitesini arttırarak sitosolik kalsiyum düzeylerini yükseltir. Ayrıca hücre içinde cGMP ın diğ er bir hedefi de protein kinazları aktive etmektir (Honda, 2001; Trewavas ve diğ ., 2002). cGMP dan bağı msız yolda ise, demir, bakır, ç inko gibi metal ya da tiyol iç eren proteinler NO in en önemli hücresel hedefleridir (Beligni ve Lamattina, 2001; Wendehenne ve diğ ., 2001).

Tablo. 2.1. NO Biyosentezi ve sinyal mekanizması.



2.4. NİTRİK OKSİTİN BİTKİ BÜYÜME VE GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

NO in bitki büyüme ve gelişmesinde, biyotik ve abiyotik stres koşullarında muhtemel rolleri günümüze kadar yapılan çalışmaların başlıca konuları arasındadır. Birçok biyolojik süreçte görev alan NO hem bitki savunma mekanizmasında bir sinyal molekül olarak hem de büyüme ve gelişmede hormonal özelliklere sahip bir bileşik olarak rol oynamaktadır (Leshem ve Haramaty, 1996; Beligni ve diğ., 1997; Dellodenne ve diğ., 1998; Beligni ve Lamattina, 1999a). NO yaprak genişlemesi, tohum çimlenmesi ve deetiyolasyonu teşvik ederken, hipokotil ve internod uzamasını inhibe etmektedir (Beligni ve Lamattina, 2000). Bitki büyümesi üzerine NO in etkilerinde konsantrasyonun son derece önemli olduğu vurgulanmıştır (Anderson ve Mansfield, 1979). NO in yüksek konsantrasyonlarının (40-80 ppm) domates, marul ve bezelye bitkisinde büyümeyi inhibe ettiği, düşük konsantrasyonlarının (0-20 ppm) ise büyümeyi teşvik ettiği ileri sürülmüştür (Hufton ve diğ., 1996; Leshem ve Haramaty, 1996). Takahashi ve Yamasaki (2002) NO in geri dönüşümlü olarak kloroplastlarda ATP sentezini, elektron transportunu baskıladığını ve NR tarafından üretilen NO in fotosentezi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Buna karşın patates, marul ve *Arabidopsis* gibi bazı bitkilere NO vericilerinin uygulanması klorofil içeriğini arttırmaktadır (Beligni ve Lamattina, 2000). NO in bezelye yapraklarında özellikle bekçi hücrelerinde klorofil içeriğini arttırdığı (Leshem ve diğ., 1997) ve NO ile işlem görmüş yabancı tip mısır bitkisinde klorosis olayını inhibe ettiği gösterilmiştir (Graziano ve diğ., 2002).

Yüksek bitkilerde NO in endojen bir olgunlaşma faktörü olduğu ve antisenesens özellik gösterdiği saptanmıştır (Leshem ve diğ., 1998). Bezelye yapraklarına NO vericisi uygulanmasının etilen biyosentezini inhibe ederek senesensi geciktirdiği kanıtlanmıştır (Leshem ve Haramaty, 1996; Leshem, 2001). Sebze ve meyvelerde de NO in senesensi geciktirdiği ve hasat sonrası ömrü uzattığı ileri sürülmüştür (Leshem, 2001). Ayrıca NO in sitokinin ile teşvik edilmiş programlanmış hücre ölümünde rol aldığı düşünülmektedir (Kakimoto, 1996).

NO in hormonlar gibi primer haberci moleküllerin biyolojik etkilerine aracılık ettiği bilinmektedir (Neill ve diğ., 2002b,c). Örneğin, sitokininin tütün, maydanoz ve *Arabidopsis* hücre kültüründe NO sentezini teşvik ettiği (Tun ve diğ., 2001) ve

Amaranthus fidelerinde NO in betalain birikimini teşvik ederek sitokinlerin bazı etkilerini taklit ettiği gösterilmiştir (Scherer ve Holk, 2000). Ayrıca, NO ABA ile teşvik edilmiş stoma kapanmasında görev almaktadır. Son yıllarda ABA in bezelye bekçi hücrelerinde NO sentezini teşvik ettiği (Neill ve diğ., 2002a), *Arabidopsis* süspansiyon kültürlerinde ise etkili olmadığı bildirilmiştir (Tun ve diğ., 2001). Salatalık bitkisinde NO vericisi olarak kullanılan SNP ve S-nitroso-N-asetil-penisilamin (SNAP) in adventif kök gelişimini teşvik ettiği ve oksinle teşvik edilmiş kök büyümesinin, lateral kök oluşumunun c-PTIO uygulanması ile inhibe edildiği Pagnussat ve diğ. (2002) tarafından rapor edilmiştir. Bitkilerde NO in hangi fizyolojik ve biyokimyasal olayları etkilediği Tablo 2.2 de özet halinde verilmiştir.

Tablo 2.2. Bitkilerde NO in etkilediği fizyolojik ve biyokimyasal olaylar.

BÜYÜME VE GELİŞME • Çimlenme • Kök Gelişimi • Stoma Hareketi • Senesens ve Programlanmış Hücre Ölümü (PHÖ) • Hücre Duvarı Lignifikasyonu • Deetiyolasyon • Hipokotil uzaması
HÜCRESEL BÖLÜMLERDEKİ METABOLİZMASI • Kloroplast: Klorofil Biyosentezi, fotofosforilasyon • Mitokondri: Sitokrom c oksidaz, alternatif oksidaz • Peroksizom: Katalaz Düzenlenmesi
HORMONLAR İLE İLİŞKİSİ • Absisik asit • Etilen • Sitokinin
BİYOTİK STRES • Aşırı Duyarlılık Cevapları • Sistemik Kazanılmış Direnç
ABİYOTİK STRES • Tuzluluk • Yüksek Sıcaklık • Kuraklık • Ultraviyole

2.5. BİYOTİK VE ABİYOTİK STRES İLE NİTRİK OKSİT ARASINDAKİ İLİŞKİ

Eksojen olarak uygulanan NO patojen (Durner ve diğ., 1998; Delledonne, 2005), ışık (Beligni ve Lamattina, 2001), yerçekimi (Pedrosa ve Durzan, 2000) ve oksidatif strese (Beligni ve Lamattina, 1999) karşı bitki cevaplarını etkilemektedir. Durner ve diğ. (1998) bitki aşırı duyarlılık cevaplarının (ADC; Hypersensitive Response=HR) tetiklenmesi sürecinde, NO in anahtar sinyal rolüne dair kanıtlar elde etmişlerdir. Aşırı duyarlılık cevabına neden olan tütün mozaik virüsü (TMV) ile enfekte olmuş tütün bitkisinde NOS aktivitesi teşvik olmuştur ve bu aktivite NOS inhibitörleri tarafından inhibe edilmiştir. Ayrıca, NO savunma ile ilgili PR-1 geninin anlatımını ve salisilik asit (SA) biyosentezini teşvik etmektedir (Draper, 1997). Patojen enfeksiyonu sırasında aşırı duyarlılık cevabı ile ilgili maddelerden biri olan fitoaleksinlerin birikimi NO vericisi ile muamele edilmiş patates tuberlerinde artış göstermektedir (Noritake ve diğ., 1996). Bitki hücrelerinde çeşitli türdeki yaralanmalar ile meydana gelen nekrozdan farklı, genetik olarak belirlenmiş ve bazı metabolik olayların sonucunda programlanmış hücre ölümü (PHÖ; Programmed Cell Death=PCD) gerçekleşmektedir. Programlanmış hücre ölümünde NO in rolü ayrıntılı olarak incelenmiştir. Örneğin, *P. syringae* pv *maculicola* mantarı ile enfekte olmuş *Arabidopsis* (tere otu) hücrelerinde NO programlanmış hücre ölümünü teşvik etmektedir (Clarke ve diğ., 2000).

Kuraklık, tuzluluk, düşük ve yüksek sıcaklık gibi çeşitli abiyotik stres koşulları altında da NO in etkileri araştırılmıştır. Bu tip stres koşulları altında aktif oksijen türleri (AOT; Reactive Oxygen Species=ROS) açığa çıkmakta ve hücrelerde birçok oksidatif yıkım olayı başlamaktadır. Stres koşulları altında sinyal iletim yolunda görev alan NO aktif oksijen türleri ile karşılıklı etkileşim halindedir. NO tarafından lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, NO in potansiyel antioksidan rolünü işaret etmektedir (Beligni ve Lamattina, 1999; Boveris ve diğ., 2000; Vranova ve diğ., 2002). Bitkilerde kuraklık stresi büyüme, gelişme ve ürün verimini sınırlayıcı bir etkidir. Son yıllarda NO in buğday fidelerinde kuraklıktan kaynaklanan oksidatif strese karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Garcia Mata ve Lamattina, 2001). Kuraklığa maruz kalan bitkilerde, turgor kaybını ardışık, bekçi hücrelerinde absisik asit NO üretimini teşvik etmektedir. Leshem ve Haramaty (1996) bezelye bitkilerinde solma ile NO salınımının arttığını,

Magalhaes ve diğ. (2000) ise *Arabidopsis*'de bu çalışmaya zıt sonuçlar bulmuşlardır. NO in stoma kapanmasına neden olarak, birkaç bitki türünde transpirasyonu indirdiği gösterilmiştir (Garcia-Mata ve Lamattina, 2001). Ciddi kuraklık stresine karşı toleransı arttıran NO in tek başına çalışmadığı, örneğin *Arabidopsis*' de stoma kapanmasında H_2O_2 ile birlikte çalıştıkları bulunmuştur (Garcia-Mata ve Lamattina, 2001). Ayrıca yapılan çalışmalarda NO in sıcaklık ve soğuk stresindeki cevapları da rapor edilmiştir. Yonca bitkisinde kısa süreli sıcaklık stresi NO sentezinin artmasına, domates, buğday ve mısırdaki dıştan NO vericilerinin uygulanması soğuk direncinin oluşmasına neden olmaktadır (Lamattina ve diğ., 2001; Leshem, 2001). Soğuk ve sıcak stresini ardışık, NO uygulanması ile yüksek düzeyde aktif oksijen türlerinin birikiminin baskılanması, NO in antioksidan özelliğini göstermektedir (Neill ve diğ., 2002b). Diğer çevresel streslerden biri olan UV ışığa maruz kalan patates tuberlerinde, NO vericileri uygulanan bitkilerin, kontrole oranla %50 daha sağlıklı yapraklar içerdikleri gözlenmiştir (Lamattina ve diğ., 2001). Buna karşın, An ve diğ. (2005) yaptıkları çalışmada UV-B stresi altında hem endojen hem de eksojen uygulanan NO in mısır yapraklarında büyüme ve gelişme süresince antistres molekül olarak rol oynamaktan çok, UV-B nin inhibe ettiği büyümede stres sinyal molekül olarak görev aldığı ileri sürülmektedir. Bitkilerde abiyotik stres etmeni olan kadmiyumun (Cd) oluşturduğu oksidatif strese karşı ayçiçeği bitkisinde NO in koruyucu rol oynadığı Laspina ve diğ. (2005) tarafından rapor edilmiştir. Toksik etkisi bilinen kurşun (Pb) ve kadmiyum gibi ağır metal etkisinde çimlenmenin inhibe olduğu bilinmektedir. Bu inhibisyonun SNP ile ön muamele sonucu *Lupinus luteus* tohumlarında yüksek oranda geri döndürülebildiği kanıtlanmıştır (Kopyra ve diğ., 2003)

evresel stres koşulları altında, düşük konsantrasyonlarda NO uygulanması bitkilerde dayanıklılığın artmasına neden olmaktadır. Stres cevaplarında NO in birbirleriyle ilişkili iki farklı mekanizma ile etkili olduğu önerilmektedir. Bu mekanizmalardan birinde NO, farklı stres koşulları tarafından oluşturulan aktif oksijen türlerine karşı doğrudan antioksidan etki göstermektedir. NO hızlı bir şekilde süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturmaktadır. Peroksinitrit ve peroksinitritin protonlanmış formları okside edici ajanlar olmakla beraber, bu formlar peroksidlerden daha az toksiktir, böylece sınırlı sayıda hücre yaralanması gerçekleşmektedir (Wink ve diğ., 1993). Bir başka şekilde, peroksinitrit H_2O_2 ile reaksiyona girerek ürün olarak

nitrit iyonlarını ve oksijeni vermektedir (Martínez ve diğ., 2000). Soya embriyonik süspansiyon kültürlerinde NO in süperoksit oranını kayda değer ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Caro ve Puntarulo, 1998). Diğer bir mekanizmada ise, NO sinyal molekül olarak gen ekspresyonu düzeyinde işlev görmektedir (Wendehenne ve diğ., 2001). Bu mekanizma cGMP/Ca⁺⁺ a bağımlı yolun aktivasyonunu ve aktif oksijen türleri ile karşılıklı etkileşimini içermektedir (Klessig ve diğ., 2000; Delledonne ve diğ., 2001).

2.6. NİTRİK OKSİT VE TUZ STRESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

En önemli stres etmenlerinden biri olan toprak tuzluluğu bitki büyüme ve gelişmesi, ürün nitelik ve niceliğini olumsuz şekilde etkilemektedir. Burada tuz stresi ister osmotik isterse spesifik iyon etkisi ile olsun sonuçta hücrelere zarar veren ya da hücreleri öldüren aktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olur (Mittova ve diğ., 2002). Aktif oksijen türlerinin zararlarına, bitkiler sahip oldukları antioksidan koruma sistemleri ile karşı koyarlar. Bitkilerde koruma sistemi çalışmadığı ya da yetersiz olduğu zaman bitki hücrelerinde ölüm gerçekleşir. Tuz stresi etkisi ile bitkiler antioksidan metabolitlerin (antosiyenin, karotinoid, α - tokoferol, poliamin, flavonoidler vb.) sentezlerini hızlandırmaları yanında antioksidan enzimlerin aktivitelerini de arttırırlar (Parida ve diğ., 2005). Bu yol ile bitkiler aktif oksijen türlerinin zararlarına karşı dayanıklılık kazanırlar.

Bitkilerde önemli bir sinyal molekül olan NO in tuz stresine karşı toleransda etkili bir rol oynadığı sınırlı sayıdaki araştırmacı tarafından incelenmeye çalışılmıştır (Uchida ve diğ., 2002; Zhao ve diğ., 2004). Yapılan bu çalışmalarda, NO in tuz stresi ile ilişkisi çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik parametrelere bakılarak araştırılmıştır. Gould ve diğ. (2003) nin yaptıkları çalışmada yüksek sıcaklık, osmotik stres ve tuzluluğa maruz kalan bütün hücrelerinde hızlı ve ani bir şekilde içsel NO oluşumu saptanmıştır. Bu çalışmada içsel NO oluşumu 250 mM NaCl uygulanan bütün bitkilerinde floresans özellikle DAF-2 boyası ile gösterilmiştir. Ayrıca uygulanan c-PTIO tarafından içsel NO in tutulduğu bulunmuştur ve dıştan uygulanan SNP nin oluşturduğu NO i c-PTIO nun tamamen inhibe edemediği DAF-2 boyaması ile gözlenmiştir. Gould ve diğ. (2003) hipotezine göre c-PTIO nun inaktivasyon kinetiğinin yavaş olmasından dolayı, dıştan verilen NO i

tamamen ortadan kaldıramamaktadır. Diğer bir çalışmada ise, NO ve H₂O₂ ile 2 gün ön işlem görmüş pirinç fidelerinde tuza karşı toleransın arttığı Uchida ve diğ. (2002) tarafından kanıtlanmıştır. Bu çalışmanın bulgularında ise SNP ile ön işlem sonucu tuz ortamında yeşil alan yüzdesi artmaktadır, SNP ile ön işlemten hemen sonra ise özellikle askorbat peroksidaz, guaiacol peroksidaz ve superoksit distumaz aktivitelerinde kontrole oranla önemli bir artış olduğu bulunmuştur. NO in tuz stresi altında bozulan iyon dengesi üzerine etkisi ise Zhao ve diğ. (2004) nin yaptıkları çalışmada incelenmiştir. Tuza farklı direnç gösteren kumul ve bataklık sazı bitkilerinde yapılan çalışmada tuz etkisi ile Na⁺ oranının artıp, K⁺ ve Ca⁺⁺ oranının azaldığı, bu etkinin ise SNP tarafından tersine çevrildiği gösterilmiştir. Bu araştırmacıların çalışması sonucunda NO in proton pompalanmasında görev alan plazma membranı ATPaz larının aktivitesi ile beraber K⁺/Na⁺ oranını arttırarak tuza direnç mekanizmasında sinyal molekül olarak görev aldığı belirlenmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. BİTKİSEL MATERYALİN SEÇİMİ

Bu tez çalışmasında deney materyali olarak Fabaceae familyasına ait May Tohum firmasından temin edilen A-3935 kodlu *Glycine max* L. (soya fasulyesi) tohumları kullanılmıştır. Soya fasulyesinin orta derecede tuzluluğa dayanıklı, kolay yetiştirilebilen, epigeik çimlenme özelliğine sahip monokarpik bir kültür bitkisi olması materyal olarak seçiminde etkili olmuştur. *G. max*'ın besin değeri bakımından önemli bir gıda maddesi olduğu bilinmektedir. Özellikle omega-3 yağ asidi olarak da bilinen linolenik asit yönünden oldukça zengindir. Bugün, dünyada yaklaşık 79.000.000 hektarlık alanda soya tarımı yapılmakta ve yıllık 180.000.000 ton civarında bir üretim gerçekleştirilmektedir. Ülkemizde ise, Karadeniz bölgesinde, Ordu ve Samsun illerinin yanında, Akdeniz bölgesinde Antalya ve Çukurova bölgelerinde ekimi yapılmaktadır (Babaoğlu, 2003).

3.2. *Glycine max* L. FİDELERİNİN YETİŞTİRİLMESİ

Bir gece suda bekletilen soya tohumları petriye dizilerek 3 gün boyunca 25 ± 2 °C lik etüvde çimlenmeye bırakıldı. Çimlenen tohumlar 6 günlük fide olana kadar 12 saat fotoperiyod altında 25 ± 2 °C sıcaklıkta 6000 luks ışık şiddetindeki büyüme odasında perlit ortamında, $\frac{1}{2}$ Hoagland çözeltisi ile gün aşırı sulanarak yetiştirildi. 6 günlük fidelerin ön muamele işlemi kahverengi şişelerde 2 gün boyunca, $\frac{1}{2}$ Hoagland çözeltisi içinde hazırlanan 0.01, 1, 100 μ M konsantrasyonlardaki NO vericisi sodyum nitroprussid (SNP) ve NO yakalayıcısı 1 μ M c-PTIO [2-(4-karboksi-fenil)-4,5-dihidro-4,4,5,5-tetrametil-1H-imidazol-1-oksi-3-oksi potasyum tuzu] + 1 μ M SNP ile yapıldı. Daha sonra bu fideler $\frac{1}{2}$ Hoagland çözeltisinde hazırlanan 100 mM NaCl ortamına alındı. Diğer bir seride 1 μ M c-PTIO 100 mM NaCl ile birlikte uygulandı. Kontrol grubu olarak da $\frac{1}{2}$ Hoagland besin çözeltisi içinde yetişen bitkiler alındı. SNP ile ön işlem görmemiş sadece tuz uygulanan bitkiler 100 mM NaCl serisi olarak kullanıldı. Tüm bu serilerde yetişen bitkiler tuz uygulanmasını ardışık 11. günde hasat edilerek, kotiledon ve 1. yapraklarında ilgili metodlar kullanılarak çeşitli parametreler incelendi.

3.3. ÇİMLENME YÜZDESİ

Deney materyali olan soya fasulyesi tohumları bir gece 0.01, 1, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile muamele edildi. SNP ile ön işlem görmüş tohumların tuzlu ortamdaki çimlenme yüzdeleri gözlemek amacıyla eşit sayıdaki tohumlar içinde 100 mM NaCl ve ½ Hoagland çözeltisi bulunan petrilerde 25 °C lik etüvde çimlenmeye bırakıldı. 2. günün sonunda çimlenme oranları % cinsinden hesaplandı.

3.4. ORANSAL SU İÇERİĞİ (OSİ) TAYİNİ

Barr ve diğ. (1962) ne göre farklı deney gruplarına ait yaprak örneklerinin orta damara uzak bölgelerinden diskler çıkartılıp taze ağırlıkları alınarak (T.A.), deiyonize su bulunan petri kaplarında 24 saat bekletildi. Deiyonize su içinde turgorlu (TR.A.) hale gelen örneklerin ağırlıkları alındı. Daha sonra örneklerin kuru ağırlıkları (K.A.) 4 gün 80 °C lik etüvde bekletilerek tayin edildi. Elde edilen ağırlıklar aşağıdaki formülde yerine konularak oransal su içeriği (OSİ) % cinsinden hesaplandı.

$$\text{OSİ (\%)} = \frac{\text{T.A.} - \text{K.A.}}{\text{TR.A} - \text{K.A.}} \times 100$$

3.5. KLOROFİL TAYİNİ

Klorofil tayini yapılacak olan materyalin taze ağırlığı alınarak bir miktar CaCO_3 tozu ile % 90 aseton içinde ekstre edildi. Ekstreler 24 saat boyunca +4 °C de bekletildikten sonra 3000 g de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra üst sıvı (supernatant) spektrofotometrede 480, 630, 645, 665 ve 750 nm dalga boylarında absorpsiyon değerleri ölçülerek herbir örneğin klorofil a, b, ve karotinoid içerikleri $\mu\text{g/ g.T.A.}$ cinsinden tayin edildi (Parsons ve Strickland, 1963).

3.6. TOTAL ÇÖZÜNEBİLİR PROTEİN MİKTARININ TAYİNİ

Taze ağırlığı alınan materyal pH 7 fosfat tamponu içinde soğuk havanlarda homojen hale gelene kadar ekstre edildi. Mikrotüplere alınan homojenatlar 13000 devir/dakika, 4 °C de 30 dakika santrifüj edildi. Suda çözünen proteinleri içeren üst sıvı alınarak protein miktarı ölçülmek üzere -20 °C de saklandı. Protein miktarının belirlenmesi Bradford (1976) yöntemi kullanılarak yapıldı. Total protein miktarının hesaplanması bovine serum albuminin (BSA) farklı konsantrasyonlarından hazırlanan standart eğride absorpsiyona karşılık gelen protein miktarı µg/ml olarak belirlendi.

3.7. PEROKSİDAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

Birecka ve diğ. (1973) nin yöntemine göre peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi için taze ağırlıkları alınan bitki kısımları pH 7 fosfat tamponunda ekstraksiyonu ardışık, 13000 devir/dakika, 4°C de 30 dakika santrifüj edildi. Ölçüm yapılana kadar örnekler -20 °C de saklandı. Peroksidaz aktivitesinin spektrofotometrik ölçümü için 5 mM H₂O₂ ve 15 mM guaiacol bulunan 1 ml 0.1 M pH 7 fosfat tamponu üzerine üst sıvıdan 80 µl eklendi. Hazırlanan karışımın 2 dakika içerisinde 10 saniye aralıklarla 470 nm dalga boyunda absorpsiyonu ölçüldü. Sonuç olarak peroksidaz enziminin aktivitesi ΔA/g.T.A.dk. cinsinden tayin edildi.

3.8. PROLİN TAYİNİ

Bates ve diğ. (1973) ne göre taze ağırlıkları alınan yaprak örnekleri %3 sülfosalisilik asit içinde homojenize edildi. Whatman 2 filtre kağıdından süzülen ekstratın 2 ml si, 2 ml asit ninhidrin ve 2 ml glasiyal asetik asit içeren kapaklı test tüplerinde 1 saat 100 °C lik su banyosunda tutuldu. Reaksiyon buz banyosunda tamamlandı. Reaksiyon ortamına 4 ml tolüen ilave edilerek karıştırıldı. Tolüen kör olarak kullanıldı ve üst sıvı 520 nm de ölçüldü. Standart olarak L-prolin kullanıldı. Sonuçlar µmol prolin/g.T.A. olarak hesaplandı.

3.9. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR

Araştırmada deneyler en az 3 tekrar şeklinde yapılmış olup, standart hataları aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\bar{X}: \sum X_i / N$$

$\bar{X}$: Aritmetik ortalama

$\sum X_i$: Değerlerin toplamı (birinciden N'inciye kadar değişkenin bütün değerlerinin toplamı)

N: Tekrarlanan deney sayısı

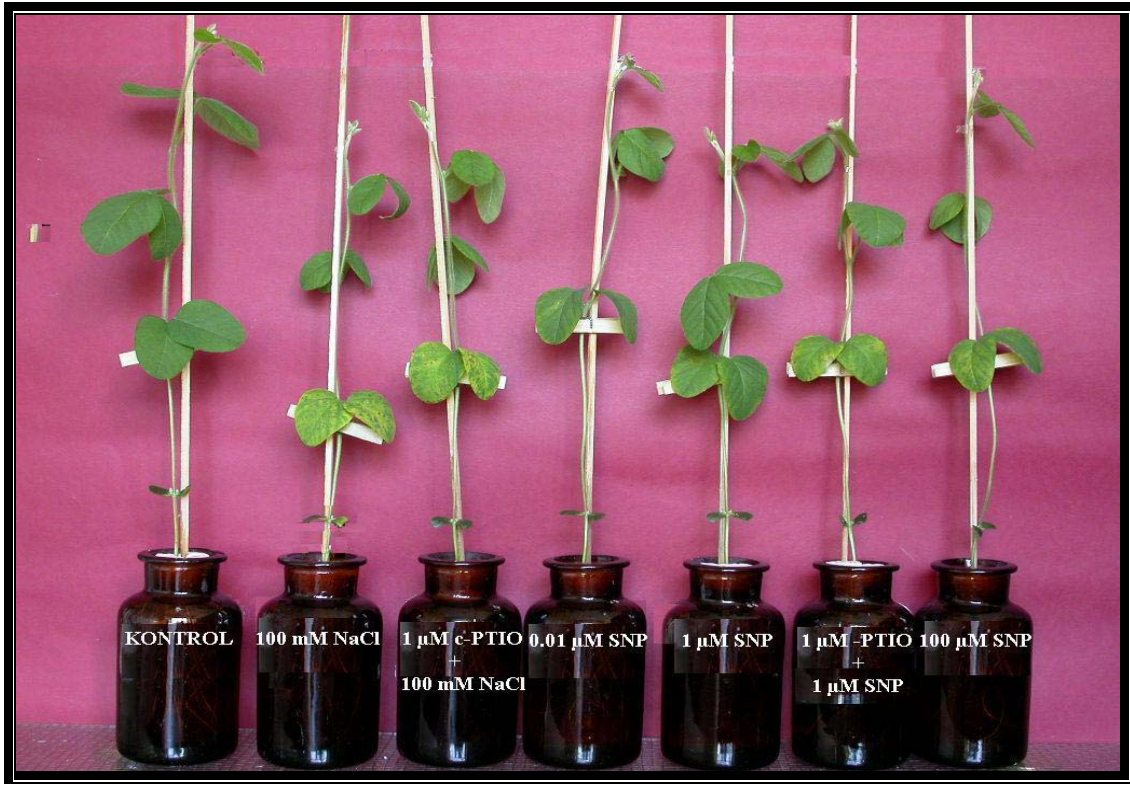
$$S = \sqrt{\sum X_i / N}$$

S: Standart sapma

Standart Hata: $S / \sqrt{N}$

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında soya tohumları petrilerde çimlendirildikten sonra perlitte 6 günlük fide oluncaya kadar büyütüldü. Bu periyot sonunda kotiledon ve ilk yaprakları çıkan fideler su kültürüne alınarak 2 gün NO vericisi olan SNP ile muamele edildi. İşlem sonrası kontrol, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl+c-PTIO ve SNP konsantrasyonları karşılaştırıldığında büyümede kaydadeğer bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO + 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO, 100 μ M SNP konsantrasyonlarında 2 gün ön işlem görmüş soya fidelerinin büyümesi üzerine tuzun etkisi

Şekil 4.1 de tuz uygulanmış bütün serilerin kontrole oranla boylarında bir kısalma ve yaprak sayısında azalma gözlenmiştir. Tuz etkisinde özellikle 1. yapraklarda klorosis ve yaprak genişliğinde azalma belirgindir. 100 mM NaCl ve 0.01, 1, 100 μ M SNP ile ön işlem görmüş seriler karşılaştırıldığında azalan konsantrasyona bağlı olarak tuzun etkilerinde bir miktar iyileşme tespit edilmiştir. Özellikle 0.01 ve 1 μ M SNP de klorofil

kaybında önemli ölçüde azalış izlenmektedir. NO tutucusu olan c-PTIO ile SNP beraber uygulandığında ise 1 μ M SNP de gözlenen iyileşmenin engellendiği belirlenmiştir. c-PTIO ile NaCl ün beraber verildiği seride tuzun etkileri daha belirgin şekilde görülmektedir.

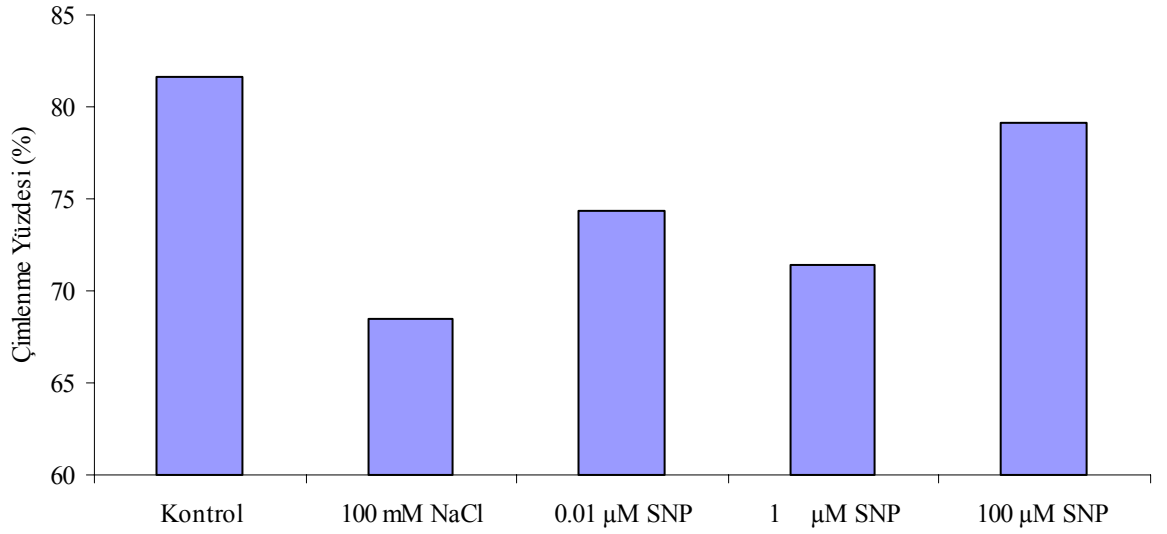
4.1. ÇİMLENME YÜZDESİ

Farklı SNP konsantrasyonlarında ve kontrol olarak distile suda bir gece şişmeye bırakılan tohumlar, 100 mM NaCl içeren ½ Hoagland çözeltisi içinde çimlendirilmek üzere 15 cm çapındaki petrilere ekilmiştir. 48 saat sonunda petrillerdeki soya tohumlarının çimlenme yüzdeleri Tablo 4.1 ve Şekil 4.2 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş tohumların çimlenme yüzdesi.

DENEY SERİLERİ	Çimlenme Oranı (%)
Kontrol	81.66
100 mM NaCl	68.45
0.01 μ M SNP	74.40
1 μ M SNP	71.43
100 μ M SNP	79.17

Tablo 4.1 den de görüldüğü gibi SNP ile işlem görmemiş 100 mM NaCl serisi sadece Hoagland besin çözeltisi içeren kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tuz stresinin çimlenen soya tohumlarının sayısında azalmalara neden olduğu saptanmıştır. Halbuki artan SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş ve sonra tuz ortamına alınmış soya tohumlarının 100 mM NaCl serisine göre çimlenmelerinin önemli miktarlarda arttığı kaydedilmiştir. Çimlenme üzerine en belirgin konsantrasyonun 100 μ M SNP olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş tohumların çimlenme yüzdesi.

Şekil 4.2 de izlendiği gibi 48 saat sonunda 100 mM NaCl uygulanması, kontrole göre soya tohumlarının çimlenme yüzdesi üzerinde %16 inhibisyona yol açmaktadır. Tuz stresinin çimlenme üzerine olan bu inhibe edici etkisinin artan SNP konsantrasyonları tarafından sırası ile %9, %4 ve %16 oranında tersine çevrildiği ve özellikle 100 µM SNP de belirgin oranda artıp Hoagland'a yakın bir değer gösterdiği bulunmuştur.

4.2. ORANSAL SU İÇERİĞİ

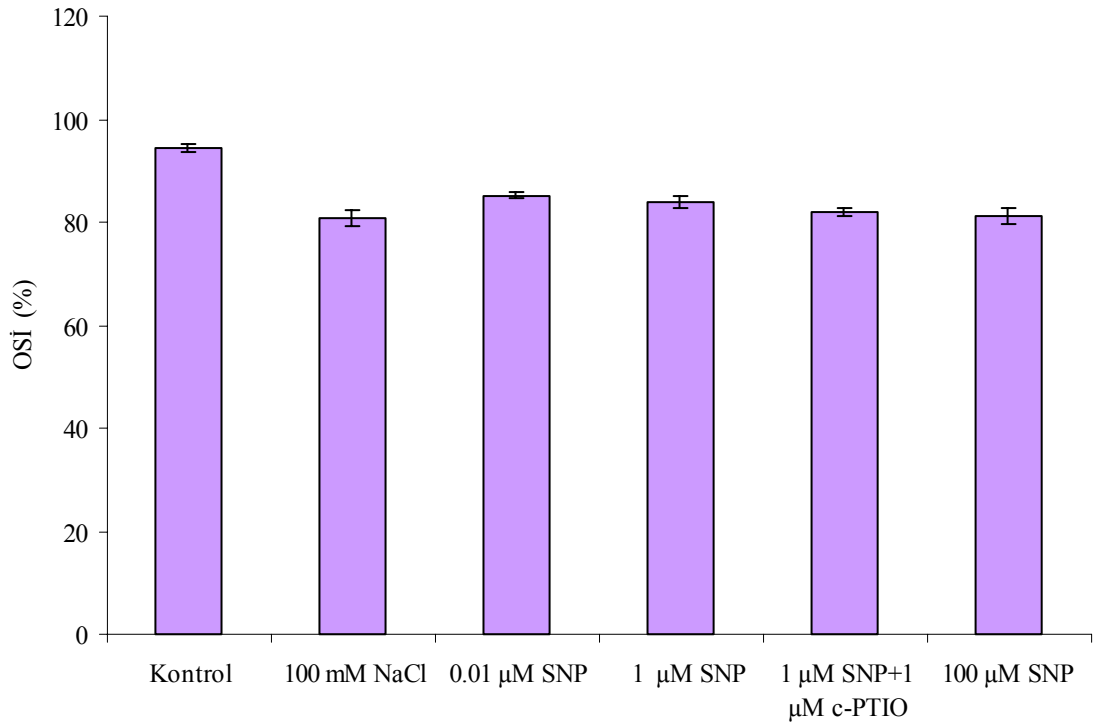
Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP, 1 µM SNP+1 µM c-PTIO ile ön işlem görmüş sonra 100 mM NaCl içeren ½ Hoagland ortamında yetiştirilen 19 günlük soya fidelerinin 1. yapraklarından alınan disklerde oransal su içeriği tayini yapılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.2 ve Şekil 4.3 de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 de bitkilerin 1. yapraklarının oransal su içeriklerine ait veriler incelendiğinde, 100 mM NaCl uygulanan seride kontrole göre bir azalma meydana gelmektedir. Bu azalma SNP konsantrasyonları ile bir miktar artırılsa bile yine de kontrol serisinin değerlerinin altındadır. 1. yapraklardaki oransal su içeriğinde en fazla artış 0.01 µM SNP uygulanması ile elde edilmiştir. Ortamdaki NO i tutma özelliğine sahip 1 µM

c-PTIO, 1 μ M SNP ile birlikte uygulandığında ise oransal su içeriğinde meydana gelen artış hemen hemen 100 mM NaCl grubundaki fidelerin değerlerine ulaşmıştır.

Tablo 4.2. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO 100 μ M SNP ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarının oransal su içeriğine ait değerlerin karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	OSİ (%)
Kontrol	94,53 $\pm$ 0,790
100 mM NaCl	80,94 $\pm$ 1,540
0.01 μ M SNP	85,23 $\pm$ 0,614
1 μ M SNP	83,81 $\pm$ 1,108
1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO	81,86 $\pm$ 0,81
100 μ M SNP	81,13 $\pm$ 1,65



Şekil 4.3. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO 100 μ M SNP ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarının oransal su içeriklerine ait değerlerin değişimi.

Şekil 4.3 de oransal su içeriğine ait değerler incelendiğinde kontrole göre 100 mM NaCl uygulamasında %14 lük bir azalma, 0.01 ve 1 μ M SNP konsantrasyonlarında 100 mM NaCl serisine göre sırasıyla %5 ve %4 oranında bir artış elde edilmiştir. 100 μ M SNP uygulamasında ise sadece tuz uygulanan seri ile yakın değerler bulunmuştur.

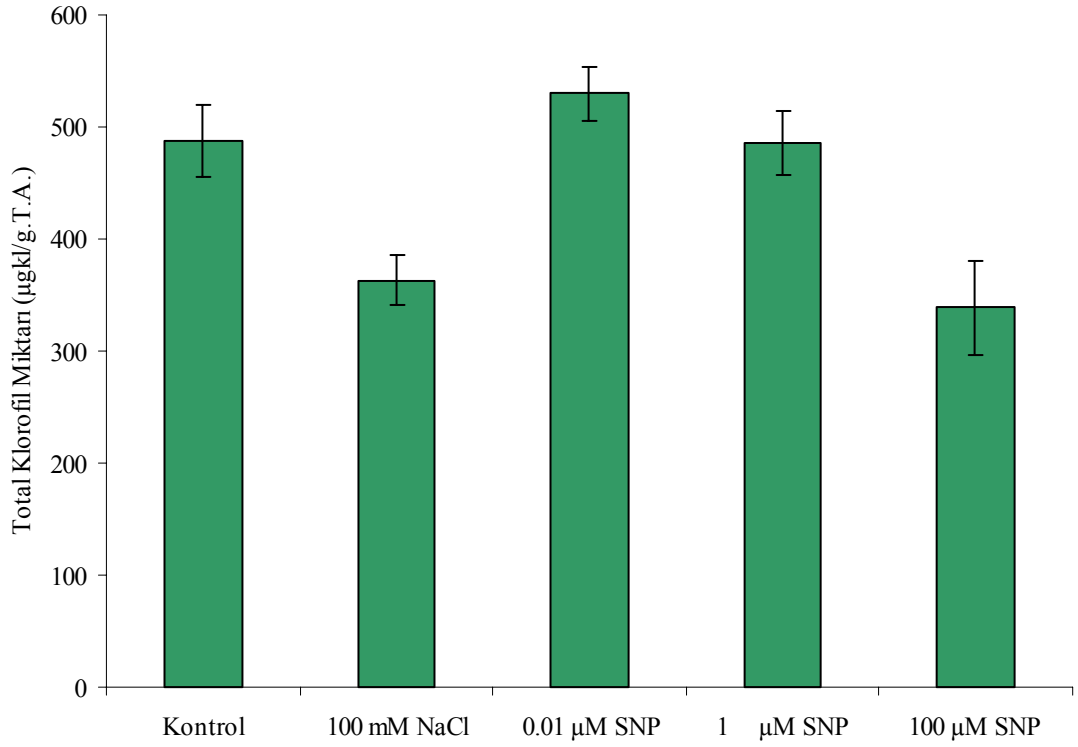
4.3. KLOROFİL MİKTARI

Kontrol, 100 mM NaCl ve farklı konsantrasyonlardaki SNP ile ön işlem görmüş daha sonra 11 gün boyunca 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledon ve 1. yapraklarında klorofil a, klorofil b ve total klorofil içerikleri tayin edilmiştir. Kotiledonlardaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriğindeki değişiklikler Tablo 4.3 ve sadece total klorofil içeriğine ait veriler ise Şekil 4.4 de gösterilmiştir.

Tablo.4.3. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarının karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	Klorofil a (μ g Kl/g.T.A.)	Klorofil b (μ g Kl/g.T.A.)	Total Klorofil (μ g Kl/g.T.A.)
Kontrol	346 $\pm$ 25,67	141 $\pm$ 6,91	487 $\pm$ 31,91
100 mM NaCl	236 $\pm$ 16,55	127 $\pm$ 7,42	363 $\pm$ 22,76
0.01 μ M SNP	369 $\pm$ 18,67	161 $\pm$ 6,19	530 $\pm$ 24,17
1 μ M SNP	340 $\pm$ 23,27	146 $\pm$ 5,26	486 $\pm$ 28,09
100 μ M SNP	223 $\pm$ 31,44	116 $\pm$ 11,37	339 $\pm$ 42,21

Tablo 4.3 deki değerlerin incelenmesinden anlaşılabacağı gibi 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarları kontrole oranla oldukça düşük seviyelerde seyretmektedir. Buna karşılık 0.01 ve 1 μ M SNP ile işlem görmüş ve daha sonra tuz stresine maruz kalmış kotiledonların klorofil içeriklerinin, 100 mM NaCl grubundaki fidelerin kotiledonlarındaki klorofil miktarına göre kaydadeğer bir artış göstermesi dikkat çekicidir, ancak 100 μ M SNP de kontrolün altında değerler elde edilmiştir.



Şekil 4.4. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki total klorofil miktarlarının değişimi.

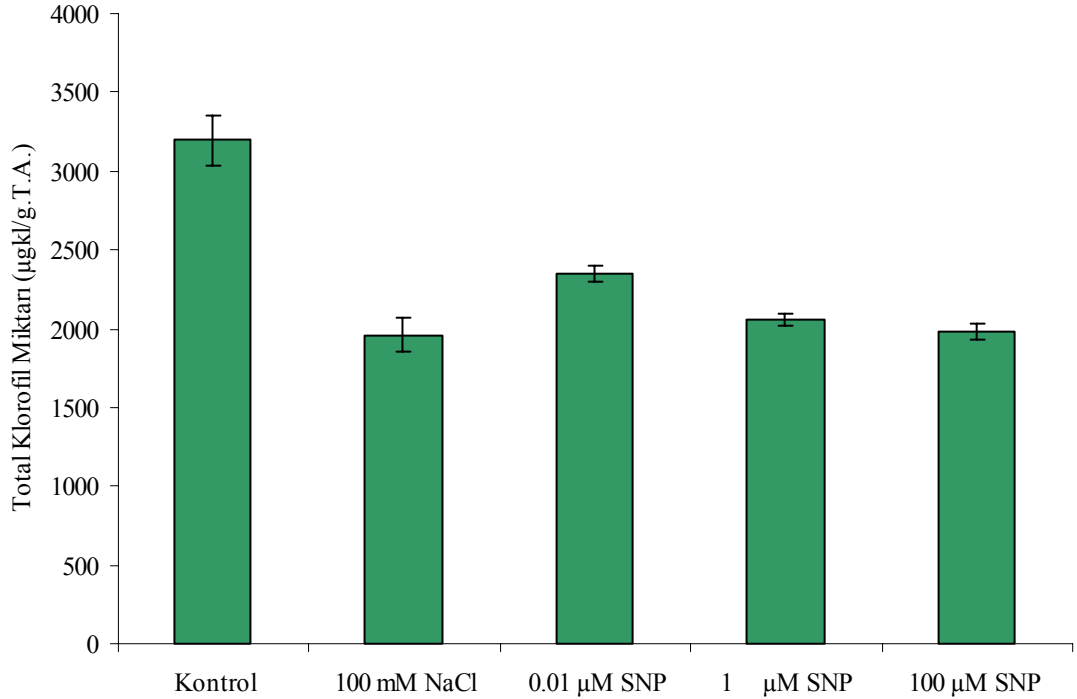
Materyal ve metod kısmında anlatıldığı şekilde yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarında sadece total klorofil miktarlarına ait değerler Şekil 4.4 de verilmiştir. Değerler incelendiğinde kontrol grubundaki kotiledonların total klorofil miktarlarına göre, 100 mM NaCl deki bitkilerin kotiledonlarındaki klorofil miktarının %26 oranında azaldığı görülmektedir. Buna karşılık farklı SNP konsantrasyonları ile işlem görmüş deney serileri, 100 mM NaCl ile karşılaştırıldığında kotiledonlardaki total klorofil miktarı en fazla 0.01 µM SNP de %46 oranında bir artış göstermektedir.

Tuz stresi altındaki soya fidelerinin 1. yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriklerindeki değişimler Tablo 4.4 de, Şekil 4.5 de ise sadece total klorofil miktarları belirtilmiştir.

Tablo 4.4. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarının karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	Klorofil a (µg Kl/g.T.A.)	Klorofil b (µg Kl/g.T.A.)	Total Klorofil (µg Kl/g.T.A.)
Kontrol	2379 ± 118,92	815 ± 48,54	3194 ± 155,06
100 mM NaCl	1442 ± 80,92	515 ± 25,95	1957 ± 106,52
0.01 µM SNP	1741 ± 38,75	607 ± 11,93	2348 ± 50,16
1 µM SNP	1528 ± 31,26	531 ± 11,71	2059 ± 41,19
100 µM SNP	1485 ± 40,26	497 ± 12,44	1982 ± 51,59

Tablo 4.4 den izlendiği gibi, 100 mM NaCl grubundaki fidelerin 1. yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarları kontrol grubuna göre dikkat çekici şekilde azalmıştır. Bununla birlikte sırası ile 0.01, 1 ve 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş ve daha sonra 100 mM NaCl uygulanmış soya fidelerinin 1. yapraklarındaki klorofil a ve total klorofil değerlerine ait veriler sadece tuz stresine



Şekil 4.5. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki total klorofil miktarlarının değişimi.

maruz kalmış 100 mM NaCl grubundaki fidelerin değerlerinden daha yüksektir. 1. yapraklardaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriklerine ait sonuçlar içinde, en fazla artış 0.01 μ M SNP de iken, sadece 100 μ M SNP de klorofil b içerikleri 100 mM NaCl nin biraz altında kalmıştır.

Hoagland besin çözeltisinde yetiştirilen kontrol grubu soya fidelerine göre, 100 mM NaCl uygulanması sonucunda 1. yapraklarındaki total klorofil içeriği %39 oranında inhibe olurken, bu inhibisyon özellikle 0.01 μ M SNP de %20 oranında bir artış ile tersine çevrilmiştir (Şekil 4.5).

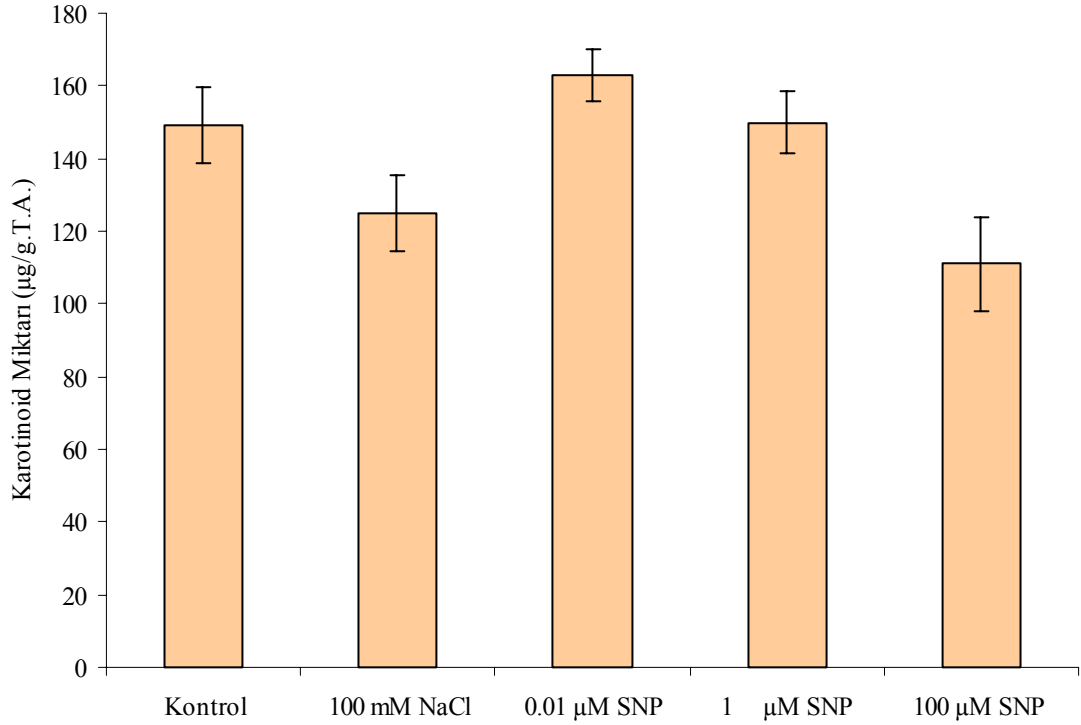
Kotiledon ve 1. yapraklarda meydana gelen klorofil miktarındaki inhibisyon kontrole oranla 100 mM NaCl serisinde 1. yapraklarda daha fazla bulunmuştur. Bu azalma kotiledonlarda %26, yapraklarda ise %39 oranındadır. Her iki bitki kısmında klorofil kaybını önlemede en etkin konsantrasyon 0.01 μ M SNP olmakla birlikte, 1. yapraklardaki klorofil miktarı uygulanan SNP konsantrasyonlarında kontrolün altındadır.

4.4. KAROTİNOİD MİKTARI

Bitkilerde, kotiledon ve yapraklara yeşil rengi veren klorofil pigmentinin yanı sıra koruyucu özellik taşıyan sarı-turuncu renklere sorumlu karotinoid pigmenti de yer almaktadır. Bu pigmentin içeriğindeki değişiklikler ile tuz stresi arasında bir ilişki de mevcuttur. Bu amaçla değişik SNP konsantrasyonları içeren besin çözeltisinde yetiştirilen ve sonra tuz stresine maruz bırakılan soya bitkisinin kotiledonlarındaki karotinoid miktarına ait değişim ölçülmüş ve elde edilen değerler Tablo 4.5, Şekil 4.6 da gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki karotinoid miktarlarının karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	Karotinoid miktarı (µg/g.T.A.)
Kontrol	149 ± 10.51
100 mM NaCl	125 ± 10.25
0.01 µM SNP	156 ± 5.77
1 µM SNP	150 ± 8.36
100 µM SNP	111 ± 13.05



Şekil. 4.6. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki karotinoid miktarlarının değişimi.

Tablo 4.5 ve Şekil 4.6 dan da anlaşılacağı gibi kontrol ile kıyaslandığında, 100 mM NaCl uygulanması sonucu karotinoid miktarı %16 oranında azalmaktadır. Buna karşın 0.01, 1 µM SNP muamelesi tuzun meydana getirdiği karotinoid miktarındaki

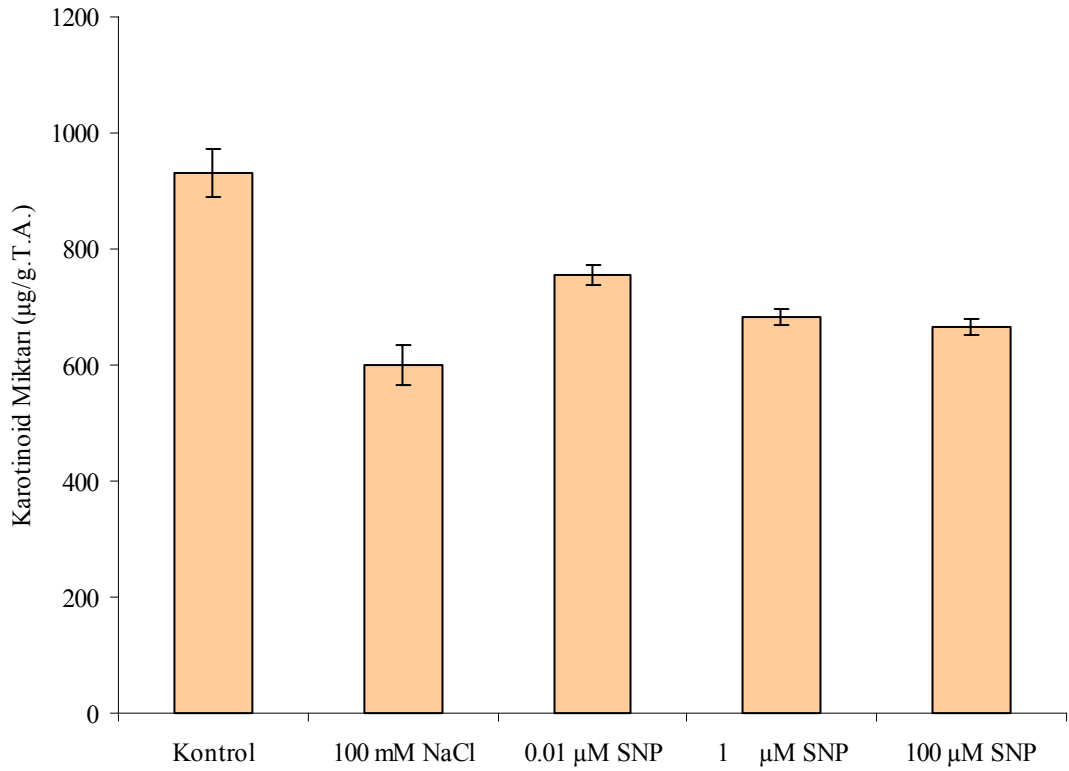
inhibisyonu sırası ile %25, %20 oranında geriletmiştir. 100 μ M SNP de ise hem kontrol hem de 100 mM NaCl deki bitkilerin kotiledonlarındaki karotinoid değerlerinin altında sonuçlar elde edilmiştir.

100 mM NaCl içeren besin ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki yapraklarda yardımcı pigment olarak görev alan karotinoid miktarı üzerine farklı konsantrasyonlardaki SNP in etkisi Tablo 4.6 da karşılaştırılıp, Şekil 4.7 de histogram halinde özetlenmiştir.

Tablo 4.6. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki karotinoid miktarlarının karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	Karotinoid Miktarı (μ g/g.T.A.)
Kontrol	931 $\pm$ 42,72
100 mM NaCl	600 $\pm$ 35,16
0.01 μ M SNP	754 $\pm$ 16,7
1 μ M SNP	683 $\pm$ 14,52
100 μ M SNP	664 $\pm$ 13,65

Tablo 4.6 ve Şekil 4.7 den de izlendiği gibi kontrole oranla 100 mM NaCl grubunda karotinoid miktarı 1. yapraklarda %36 oranında azalmıştır. 100 mM NaCl e oranla karotinoid miktarı 0.01, 1 ve 100 μ M SNP konsantrasyonlarında sırası ile %26, %14, %11 oranında artmaktadır. Kontrol ile kıyaslandığında ise her üç SNP konsantrasyonundaki karotinoid miktarında azalma gözlenmektedir.



Şekil. 4.7. Kontrol, 100 mM NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki karotinoid miktarlarının değişimi.

Kotiledon ve 1. yapraklardaki karotinoid miktarındaki inhibisyon kıyaslandığında kontrole oranla 100 mM NaCl serisinde 1. yapraklarda daha fazla azalma bulunmuştur. Bu azalma kotiledonlarda %16, 1. yapraklarda ise %36 oranındadır. Her iki bitki kısmında karotinoid kaybını önlemede en etkin konsantrasyonun 0.01 µM SNP olduğu saptanmıştır.

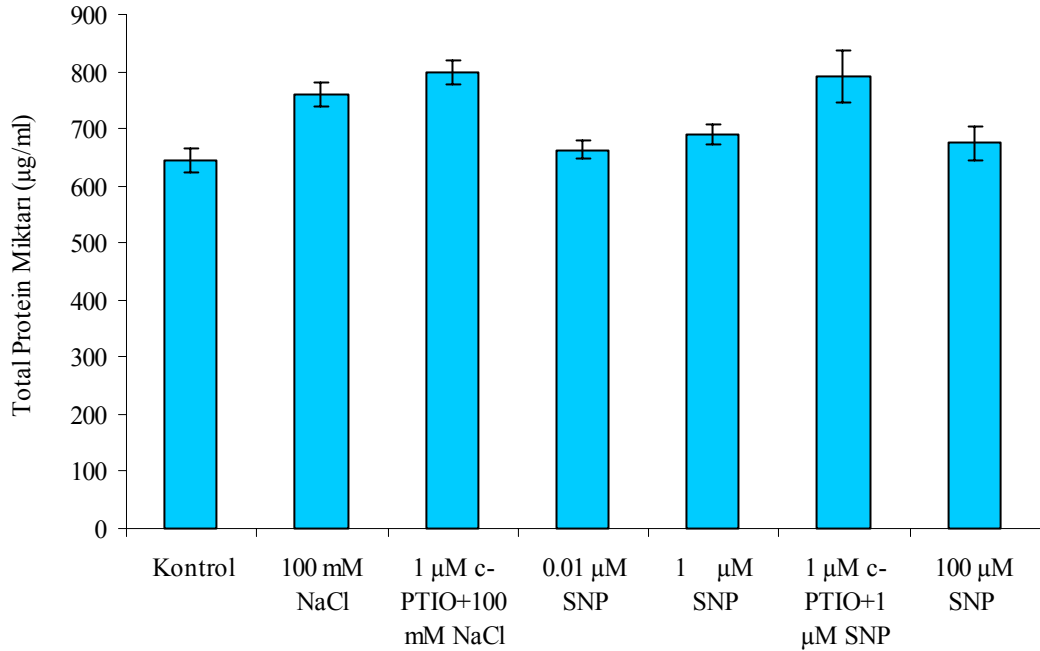
4.5. PROTEİN MİKTARI

Stres koşulları altında proteinlerin yıkıldığı bilinmekle beraber, son yıllarda bazı stres proteinlerinin sentezlendiği de bulunmuştur. Bu çalışmada da, tuz stresine maruz bırakılan soya bitkisinin kotiledon ve 1. yapraklarında total çözünebilir proteinlerin tayini Bio-Rad metoduna göre yapılmıştır. Kotiledonlara ait protein içeriği Tablo 4.7 ve Şekil 4.8 gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	TOTAL PROTEİN MİKTARI (μ g/ml)
Kontrol	644,70 $\pm$ 20,0
100 mM NaCl	761,28 $\pm$ 21,12
1 μ M c-PTIO+100 mM NaCl	798,19 $\pm$ 20,05
0.01 μ M SNP	662,72 $\pm$ 15,58
1 μ M SNP	689,82 $\pm$ 16,23
1 μ M c-PTIO+1 μ M SNP	789,88 $\pm$ 45,62
100 μ M SNP	674,42 $\pm$ 28,45

Tablo 4.7 den izlendiği gibi kontrol grubu kotiledonlarına oranla tuz uygulanmış tüm serilerde protein içeriğinde bir artış gözlenmiştir, ancak 100 mM NaCl, 100 mM NaCl + c-PTIO ve 1 μ M SNP+1 μ M c-PTIO uygulanmış serilerde bu artış kontrole oranla kaydadeğer şekilde daha fazla bulunmuştur.



Şekil 4.8. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki total protein miktarlarının değişimi.

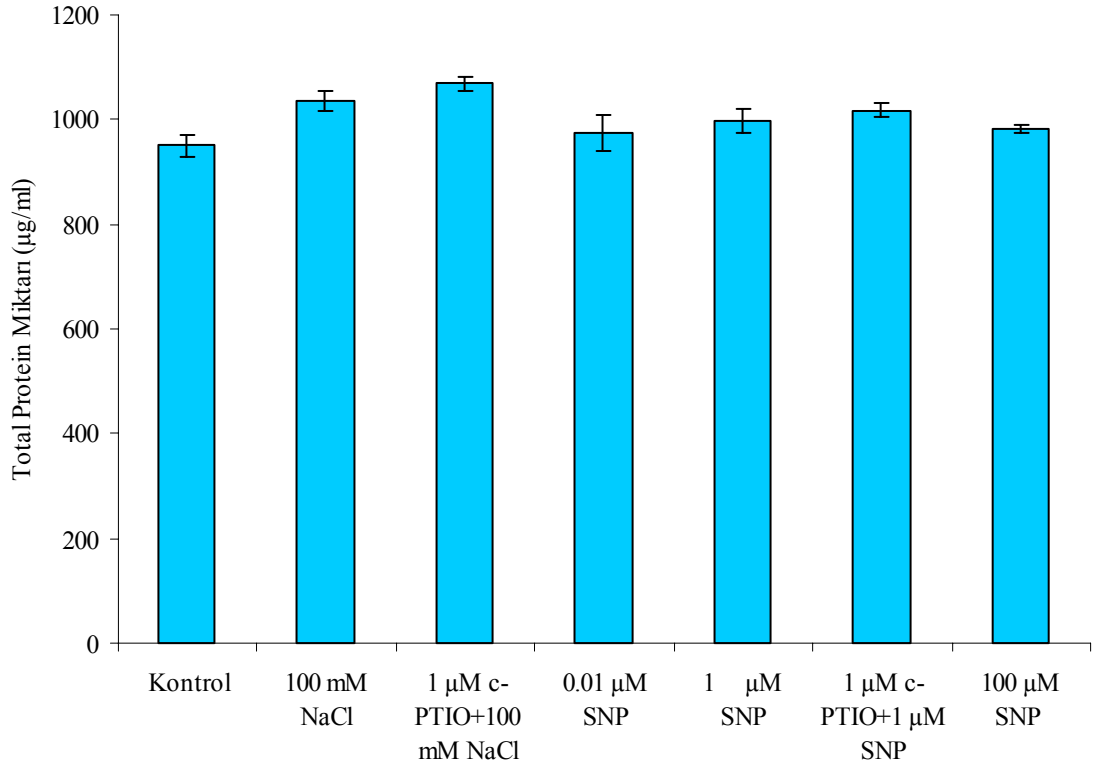
Şekil 4.8 deki 100 mM NaCl, 100 mM NaCl + 1 μ M c-PTIO ve 1 μ M SNP + 1 μ M c-PTIO serilerine ait protein miktarları sırası ile %18, %24 ve %23 oranında kontrole göre artmaktadır. 0,01, 1, 100 μ M SNP ile ön işlem görmüş ve tuz ortamında yetişen soya bitkilerinin kotiledonlarındaki protein miktarı 100 mM NaCl serisi ile kıyaslandığında sırası ile %13, %9 ve %11 oranında azalma göstermiştir.

Kotiledonlardaki protein miktarındaki artışa paralel şekilde tuz uygulanmış serilerdeki fidelerin 1. yapraklarında da protein miktarında artış bulunmuştur. 1. yapraklardaki protein miktarına ait veriler Tablo 4.8 ve Şekil 4.9 da belirtilmiştir.

1. yapraklardaki protein içeriği kotiledonlara oranla daha az miktarlarda seyretmektedir. Kontrole oranla 100 mM NaCl de %9, 100 mM NaCl + 1 μ M c-PTIO da %13 ve 1 μ M SNP + 1 μ M c-PTIO da %7 lik bir artış bulunmuştur (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki total protein miktarlarının karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	TOTAL PROTEİN MİKTARI(μ g/ml)
Kontrol	950,01 $\pm$ 22,00
100 mM NaCl	1036,44 $\pm$ 18,15
1 μ M c-PTIO+100 mM NaCl	1069,09 $\pm$ 13,44
0.01 μ M SNP	973,62 $\pm$ 34,45
1 μ M SNP	997,14 $\pm$ 22,2
1 μ M c-PTIO+1 μ M SNP	1018,47 $\pm$ 13,8
100 μ M SNP	981,85 $\pm$ 7,69



Şekil 4.9. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 µM c-PTIO+NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 1 µM c-PTIO +1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki total protein miktarlarının değişimi.

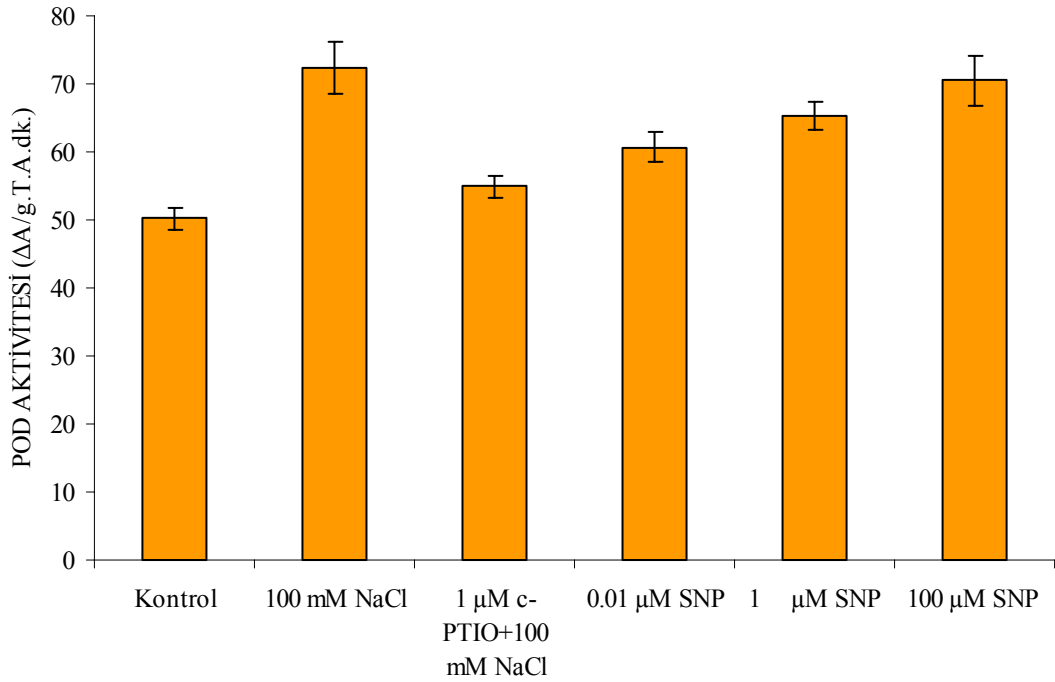
Şekil 4.9 dan da izlendiği gibi SNP ile ön işlem görmüş serilerde 100 mM NaCl e oranla protein içeriği 0,01 µM SNP de %6, 1 µM SNP de %4 ve 100 µM SNP de ise %5 oranında azalmıştır.

4.6. PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ

Çeşitli stres olayları sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak üzere hücrelerde bir takım enzimler sentezlenmektedir. Tuz stresi sırasında da oluşan serbest radikallerin ortadan kaldırılması amacıyla peroksidaz enziminin aktivitesinin arttığı bilinmektedir. Kotiledonlardaki bu enzime ait aktivite değişimleri Tablo 4.9 ve Şekil 4.10 da verilmiştir.

Tablo 4.9. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	POD AKTİVİTESİ ($\Delta A/g.T.A.dk.$)
Kontrol	50,194 $\pm$ 1,70
100 mM NaCl	72,279 $\pm$ 3,80
1 μ M c-PTIO+100 mM NaCl	54,944 $\pm$ 1,60
0.01 μ M SNP	60,734 $\pm$ 2,32
1 μ M SNP	65,327 $\pm$ 2,00
100 μ M SNP	70,531 $\pm$ 3,71



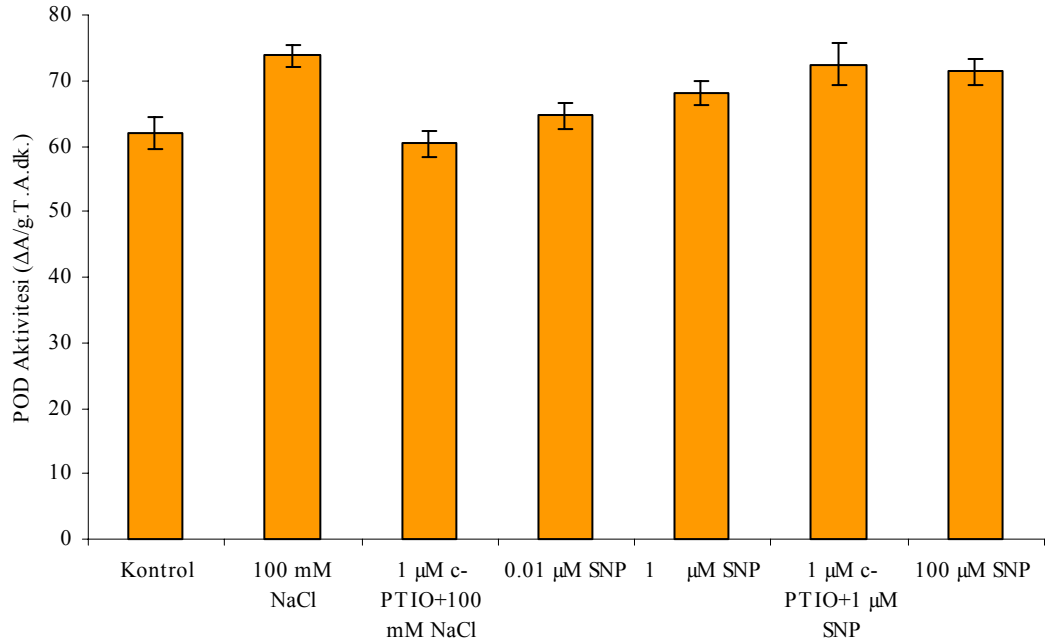
Şekil 4.10. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin kotiledonlarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi.

Tablo 4.9 ve Şekil 4.10 da görüldüğü gibi 100 mM NaCl uygulanmış seride kontrole göre POD aktivitesi %44 oranında artmaktadır. NO tutucusu olan c-PTIO 100 mM NaCl ile birlikte uygulandığında POD aktivitesi kontrole oranla %10 oranında artmakta, 100 mM NaCl e oranla ise %24 oranında azalmaktadır. SNP uygulanan serilerde POD aktivitesi konsantrasyon azaldıkça düşmektedir.

1. yapraklardaki peroksidaz aktivitesindeki değişim Tablo 4.10 ve Şekil 4.11 de gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 µM c-PTIO+NaCl ve 0.01µM SNP, 1 µM SNP, 1 µM c-PTIO +1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki peroksidaz aktivitesinin karşılaştırılması.

DENEY SERİLERİ	POD AKTİVİTESİ (ΔA/g.T.A.dk.)
Kontrol	61,971 ± 2,37
100 mM NaCl	73,76 ± 1,55
1 µM c-PTIO+100 mM NaCl	60,345 ± 1,20
0.01 µM SNP	64,626 ± 1,93
1 µM SNP	68,005 ± 1,89
1 µM c-PTIO+1 µM SNP	72,508 ± 3,25
100 µM SNP	71,3 ± 1,97



Şekil 4.11. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 µM c-PTIO+NaCl ve 0.01 µM SNP, 1 µM SNP, 1 µM c-PTIO +1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki peroksidaz aktivitesinin değişimi.

Kotiledonlardaki enzim aktivitesine benzer şekilde Tablo 4.10 ve Şekil 4.11 de izlendiği gibi 1. yapraklarda da peroksidaz enzim aktivitesi stres ortamında bir artış göstermiştir. 100 mM NaCl, 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M SNP + 1 μ M c-PTIO ve 100 μ M SNP kontrol ile kıyaslandığında sırası ile %19, %4, %10, %17, %15 oranında artış saptanmıştır. 1 μ M c-PTIO+100 mM NaCl uygulamasında ise kontrole yakın bir değer elde edilmiştir.

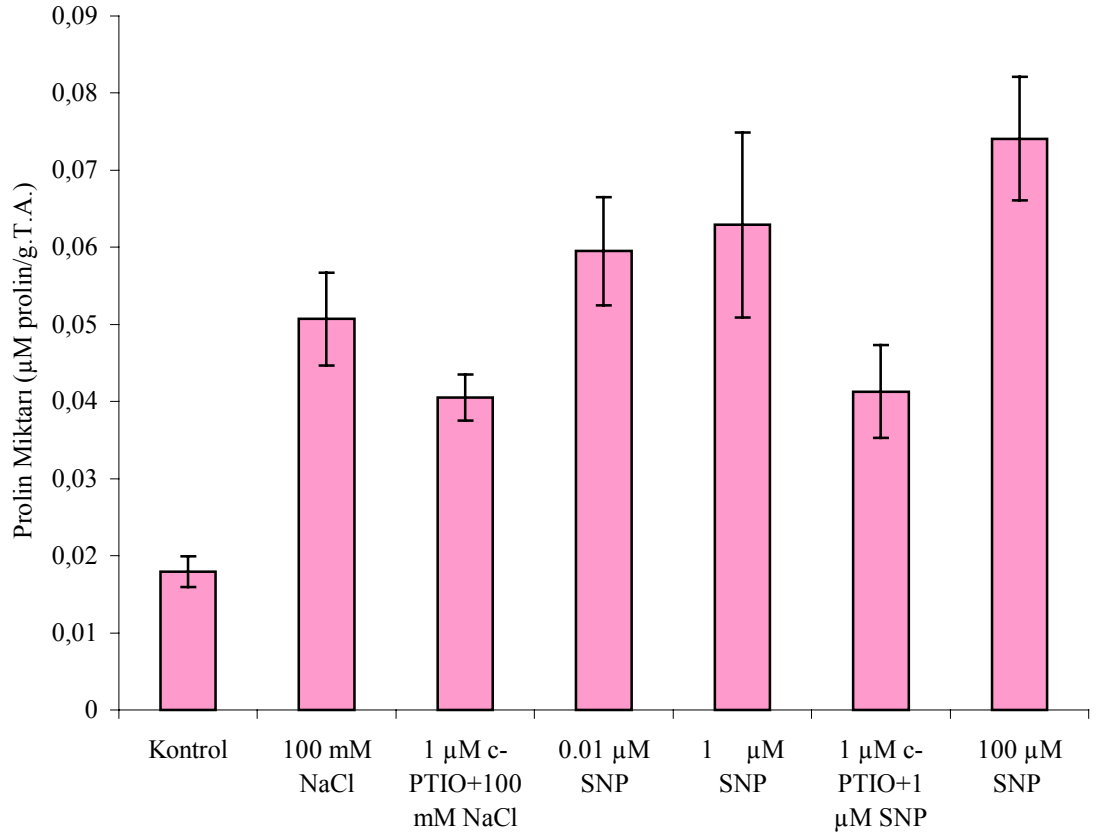
4.7. PROLİN MİKTARI

Araştırmanın bu kısmında kontrol, 100 mM NaCl, değişik SNP konsantrasyonları ve c-PTIO ile ön işlem görmüş, daha sonra tuz stresine maruz kalmış 19 günlük soya bitkisinin 1. yapraklarında prolin miktarı analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.11 ve Şekil 4.12 de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 μ M c-PTIO+NaCl ve 0.01 μ M SNP, 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO +1 μ M SNP, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön muamele edilmiş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki prolin birikimindeki değişim.

DENEY SERİLERİ	Prolin Miktarı (μ M prolin/g.T.A.)
Kontrol	0,0179 $\pm$ 0,002
100 mM NaCl	0,0507 $\pm$ 0,006
1 μ M c-PTIO+100 mM NaCl	0,0405 $\pm$ 0,003
0.01 μ M SNP	0,0595 $\pm$ 0,007
1 μ M SNP	0,0629 $\pm$ 0,012
1 μ M c-PTIO+1 μ M SNP	0,0413 $\pm$ 0,006
100 μ M SNP	0,0741 $\pm$ 0,008

Prolin amino asiti stres koşullarında toleransı arttırmak amacı ile hücrelerde birikmektedir. Tablo 4.11 den de gözlendiği gibi 100 mM NaCl uygulanan seride kontrole oranla yaklaşık 3 kat daha fazla prolin birikimi meydana gelmektedir. NO tutucusu c-PTIO ve 100 mM NaCl birlikte uygulandığında sadece tuz uygulamasına oranla prolin birikiminde %20 lik bir azalma gözlenmektedir.



Şekil 4.12. Kontrol, 100 mM NaCl, 1 µM c-PTIO+NaCl ve 0.01 µM SNP, 1 µM SNP, 1 µM c-PTIO +1 µM SNP, 100 µM SNP konsantrasyonları ile ön işlem görmüş 100 mM NaCl ortamında yetiştirilen soya fidelerinin 1. yapraklarındaki prolin birikimindeki değişim.

Şekil 4.12 de artan SNP konsantrasyonları ile 1. yapraklardaki prolin birikimi birbirine paralellik göstermektedir. Prolin birikimi 0.01, 1 ve 100 µM SNP konsantrasyonlarında sırası ile 100 mM NaCl e kıyasla %17, %24 ve %46 oranında artmaktadır. NO tutucusu olan c-PTIO ile SNP beraber uygulandığında ise prolin miktarında bir inhibisyon bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye topraklarının önemli bir bölümü kurak ve yarı kurak olduğundan tuzlanma giderek artan çevresel stres etmenlerinin başında gelmektedir. Tarımda verimi olumsuz yönde etkileyen ve üretimi sınırlayan tuz stresi bilindiği gibi bitkilerde büyüme ve gelişme sırasında meydana gelen birçok fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olmaktadır (Munns, 2002; Ashraf, 2004; Parida ve diğ., 2005). Tuzluluk hücresel su ve iyon dengesindeki bozulmalara, organellerin ve hücre zarının permeabilitesinde değişikliklere yol açmaktadır. Bunun sonucunda hücre düzeyinde yıkım olayları gerçekleşmekte ve oksidatif stres meydana gelmektedir (Spychalla ve Desborough, 1990; Mittova, 2002). Ayrıca NaCl tipi tuzluluk bitkilerin yaşam döngüsünde başlıca çimlenme, büyüme, fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması, yaprakta klorosis ve senesens gibi önemli olayları olumsuz yönde etkilemektedir (Ashraf, 2004; Parida, 2002, 2004a). Tuzun tüm bu etkilerine karşı hücreler kendi savunma mekanizmalarını oluştursalar bile çoğu zaman bu yeterli olamamaktadır. Uzun yıllardan beri üzerinde oldukça fazla çalışılan tuzluluk ve bitki gelişimi arasındaki ilişkiler ile ilgili kayda değer bilgiler elde edilmekle birlikte hala açıklığa kavuşturulmayı bekleyen bazı noktaları da mevcuttur.

NO düşük molekül ağırlıklı, renksiz, gaz yapıda bir molekül olup bitkilerde çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik olaylarda ikincil haberci olarak rol oynamaktadır (Neill ve diğ., 2003; Crawford ve Guo, 2005). NO molekülünün eksojen uygulamalarının bitkilerde büyüme ve gelişme, çimlenme, deetiyolasyon, klorosis, senesens gibi olayların yanında bazı stres koşullarında oluşturulan savunma mekanizmalarında da yer aldığı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Beligni ve Lamattina, 2001; Leshem, 2001; Neill ve diğ., 2002b). Bununla birlikte özellikle tuz stresi koşullarında NO in etkilerini ortaya koyan çok az sayıda literatür mevcuttur (Uchida ve diğ., 2002).

Bu çalışmada NO vericisi olan SNP ile muamele edilen 19 günlük soya fidelerinde tuza karşı verilen cevaplar çimlenme yüzdesi, oransal su içeriği, klorofil, karotinoid, total

çözünebilir protein miktarı, peroksidaz aktivitesi ve prolin birikimi gibi çeşitli parametrelere bakılarak değerlendirilmiştir.

Tuzun konsantrasyona bağlı olarak bitki büyümesi üzerinde meydana getirdiği inhibisyon etkisi bitki türleri arasında farklı düzeylerde ortaya çıkmaktadır (Cevahir, 1992; Ghoulam ve Fares, 2001; Eryılmaz, 2003). NaCl tipi tuzluluğun soya fidelerinin büyümesi üzerine etkisini araştırmak için çimlenmeyi ardışık 19 günlük fide evresine kadar yapılan gözlemlerin sonunda 100 mM NaCl stresine maruz kalan fidelerde kontrole göre çok belirgin farklılıklar saptanmamıştır. Bu nedenle bitkilerin gövde, kök ve yaprak boyutları ile ilgili uzunluk ve genişlik ölçümleri değerlendirilmeye alınmamıştır. Bununla birlikte kontrole oranla boyda çok az bir kısalma, 4. yaprakların bulunmayışı, 1. ve 2. yapraklarda klorosis, yaprak genişliğinde azalma gözle görülebilen değişimler olarak kaydedildi (Şekil 4.1). Ghoulam ve Fares (2001) çalışması ile paralel sonuçlar elde eden Eryılmaz (2003) tarafından orta derecede tuzluluğa dayanıklı 30 günlük domates bitkisinin 100 mM NaCl de büyümesinin gerilediği, dayanıklı olan kırmızı lahana bitkisinde ise aynı konsantrasyonda köklerinin aşırı zarara uğraması nedeniyle gelişiminin durduğu rapor edilmiştir. Bu sonuç yukarıda ifade ettiğimiz bulgu ile zıtlık içindedir. Buradan orta derecede tuzluluğa dayanıklı olduğu bilinen soya bitkisinin 100 mM tuz konsantrasyonunda domates ve kırmızı lahana bitkisine göre daha dayanıklı olduğu sonucu çıkmaktadır. Belki de soya fidelerinin kotiledonları hem besin depo özelliğinden hem de fotosentetik aktivitesinden dolayı 19 günlük oluncaya kadar tuzun meydana getirdiği osmotik ve toksik etkiden bitkinin korunmasına bir dereceye kadar katkı sağlamaktadır. Böylece farklı bitki türleri arasında olduğu kadar bitkilerin gelişim evrelerinde de tuza karşı toleransın değişik şekillerde olabileceği fikri doğrulanmaktadır.

Deneyssel bulgularımıza göre soya tohumlarının çimlenmesi kontrole göre 100 mM NaCl de %16 oranında inhibisyona uğramıştır. Bu inhibisyon uygulanan SNP konsantrasyonları tarafından azaltılsa bile kontrolün altında değerler elde edilmiştir. Bir gece 100 μ M SNP ile ön işlem gören soya tohumlarının NaCl ortamında 48 saat sonundaki çimlenme oranı sadece tuz uygulanmış seriye göre %16 artmıştır. Sonuç olarak önceden SNP ile ön işlem gören ve daha sonra 100 mM NaCl ortamında çimlendirilen soya tohumlarının tuza karşı bir miktar tolerans gösterdiği ve bu

toleransın en fazla 100 μ M SNP tarafından arttırılabileceği söylenebilir. Ayrıca soya bitkisinin büyüme evresine göre çimlenme aşamasında tuza biraz daha duyarlı olduğu da ileri sürülebilir.

Tohum çimlenmesi sırasında suyun emilmesi, çeşitli enzim sistemlerinin oluşması ve aktivasyonu, tohum depo maddelerinin yıkımı ve taşınması gibi bazı biyokimyasal olayların tuzluluk ile önemli ölçüde engellendiği bilinmektedir (Khan ve diğ., 2000). 100 mM NaCl uygulamalarının domateste çimlenme yüzdesini düşürürken, kırmızı lahana tohumlarında önemli değişikliklere yol açmadığı Eryılmaz (2003) tarafından saptanmıştır. Bu çalışmada da tuzun soya tohumlarının çimlenmesi üzerindeki inhibe edici etkisi literatür ile uyumluluk içindedir. Çimlenmesi ışığa bağımlılık gösteren *Lactuca sativa* ve *Stellaria media* tohumlarının karanlıkta SNP uygulanması ile çimlenmelerinin teşvik edildiği rapor edilmiştir (Giba ve diğ., 1992; Beligni ve Lamattina, 2000). NO in tuz stresinin çimlenme üzerindeki negatif etkilerini azaltması ile ilgili sınırlı sayıda literatür bulunmakla birlikte, Kopyra ve Gwozdz (2003) tarafından *Lupinus luteus* tohumlarının çimlenmesinin doza bağlı olarak 0,1 ve 800 μ M SNP arasındaki konsantrasyonlarda teşvik edildiği, sadece NaCl uygulamalarının neden olduğu inhibisyonun ise 100 μ M SNP ve 0.2 M NaCl ün birlikte uygulanması ile tersine çevrilmesinde oldukça etkili olduğu ortaya konmuştur. Böylece NO in çimlenme üzerindeki teşvik edici etkisi ile ilgili sonuçlarımız bu araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Köklerin yetiştirme ortamındaki tuzluluğun, bitkinin su durumunu etkilediği bilinmektedir. Şekil 4.3 incelendiğinde kontrol grubuna göre 100 mM NaCl ile muamele edilen soya fidelerinin 1. yapraklarında oransal su içeriğinin %14 oranında azaldığı görülmektedir. Kontrol grubu bitkilerde osmotik uyumdan dolayı, OSİ nin strese maruz kalmış bitkilerdeki OSİ'nden daha büyük olması beklenen bir sonuçtur. Stres koşullarına karşı orta derecede tuzluluğa dayanıklı olduğu bilinen soya fidelerinin 100 mM NaCl stresine iyi uyum sağlayabilmesi sonucu 1. yapraktaki OSİ değerleri çok düşük düzeylerde bulunmamıştır. 0.01, 1, 100 μ M SNP ile ön işlem görmüş ve daha sonra 11 gün 100 mM NaCl stresi uygulanmış soya fidelerinin 1. yapraklarındaki OSİ değerleri 100 mM NaCl ile kıyaslandığında azalan SNP konsantrasyonlarına bağlı olarak bir miktar artış göstermiştir. En fazla artış 0.01 μ M SNP de %5 oranında

olmasına rağmen OSİ değerleri yine de kontrol grubu değerinin altında seyretmektedir. Bu sonuç 100 mM NaCl stresi altında su alınınının kısıtlanması, turgorun azalması ile bitkilerde OSİ değerlerinde meydana gelen azalma SNP konsantrasyonları tarafından bir miktar geri döndürülebileceğini göstermektedir. 1 μ M SNP, 1 μ M c-PTIO ile birlikte uygulandığında 1 μ M SNP deki OSİ'nde sağlanan %4 lük artış, NO tutucusu olarak görev yapan 1 μ M c-PTIO tarafından ancak %2'lik bir azalma ile 100 mM NaCl deki OSİ değerine yaklaşmıştır. Bununla birlikte hücre osmotik değerinin düzenlenmesinde NO uygulanmasının çok etkili olmadığı görülmüştür. Johnsen ve diğ. (1984) kuraklık stresine maruz kalmış iki farklı genotipteki buğday bitkisinde OSİ değerlerinin Hoagland besin çözeltisinde yetişmiş olanlara oranla daha az olduğu bulgusu bu çalışmanın sonucu ile benzerdir. Aynı şekilde ciddi kuraklık stresinde yetiştirilmiş buğday bitkisinin koparılmış yaprakları üzerine 150 μ M SNP'in kontrol bitkilere göre yaklaşık %53 oranında su tutma kapasitesini arttırdığı rapor edilmiştir (Garcia ve Lamattina, 2001). Bu bulgu da tuz stresinde soya fidelerinin 1. yapraklarında azalan OSİ değerlerinin 0.01 μ M SNP tarafından geri kazanılacağı sonucumuz ile paralel olmakla birlikte konsantrasyon açısından bir farklılık arz etmektedir.

Yapılan çalışmalar tuz uygulamalarının bitkilerin pigment içeriklerinde de azalmaya neden olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada da soya fidelerinin kotiledon ve 1. yapraklarındaki klorofil ve karotinoid içerikleri üzerine 100 mM NaCl stresinin ve farklı konsantrasyonlardaki SNP uygulamalarının etkileri incelenmek istenmiştir. Fotosentezdeki görevinden dolayı yaşamsal öneme sahip klorofil molekülü çeşitli tarım bitkilerinin tuza toleransını gösteren parametrelerden biridir (Srivastava ve diğ., 1988). Bu çalışmada soya fidelerinin kotiledon ve 1. yapraklarında 100 mM NaCl ve SNP uygulamaları sonucunda elde edilen bulgular klorofil a, klorofil b toplamı olan total klorofil miktarı cinsinden değerlendirilmiştir. Kontrol bitkilere göre tuzun soya fidelerinin kotiledonlarında %26, 1. yapraklarında %39 oranında total klorofil miktarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Sonuçlardan da anlaşılabileceği gibi klorofil kaybı 1. yapraklarda kotiledonlara oranla çok daha fazladır. Muhtemelen bu sonuç 1. yaprakların tuz stresine karşı toleransının daha az olduğunu işaret etmektedir. Hernandez ve ark. (1995) tarafından bezelye bitkisinde klorofil yıkımının tuz stresi altında arttığını gösteren araştırmanın sonuçları bu çalışmadan elde edilen bulguları teyit eder niteliktedir. Ayrıca Wang ve Nill (2000) in *Amaranthus* bitkisinde tuzlu koşullarda

klorofil içeriğinin arttığını gösteren çalışması ile zıt iken , Kennedy ve De Fillippis (1999) in *Grevilea'de* protoklorofil, klorofil içeriğinin azaldığını ifade eden bulgusu ile paralellik göstermektedir. Benzer bulgular diğer bazı bitki türlerinden de elde edilmiştir (Agastian ve diğ, 2000; Parida ve diğ. 2002). Tuz stresi altında yetişen bitkilerde klorofil içeriği üzerine NO in etkilerini gösteren doğrudan bir çalışmanın olmaması bu çalışmada elde edilen verilerin önemini vurgulamaktadır. Tuz ile meydana gelen klorofil içeriğindeki inhibisyon uygulanan her üç SNP konsantrasyonu tarafından azaltılmıştır. Bu etki kotiledonlarda 1. yapraklarda olduğundan daha dikkat çekicidir. Kotiledonlardaki klorofil miktarında 0.01 μ M SNP de kontrole göre %9 oranında artış saptanırken, 1 μ M SNP de hemen hemen kontrole yakın, 100 μ M SNP de ise kontrolün altında değerler bulunmuştur. Muhtemelen 0.01 ve 1 μ M SNP konsantrasyonları kotiledonlara tuza karşı bir dayanıklılık kazandırmaktadır. 1. yapraklarda ise tüm SNP konsantrasyonları 100 mM NaCl değerinin üzerinde, ancak kontrolün altında saptanmıştır. Buradan da 1. yaprakların klorofil içeriği bakımından tuza daha duyarlı olduğu, ancak uygulanan SNP konsantrasyonlarından kotiledonlar kadar etkilenmediği sonucu çıkmaktadır. Uchida ve diğ. (2002) tarafından 100 mM NaCl stresinde pirinç bitkisinin yapraklarında fotosistem II (PS II) aktivitesinin dramatik bir şekilde azaldığı, ancak düşük konsantrasyondaki SNP ile ön işlem sonucu bu indirgenmenin büyük ölçüde engellendiği rapor edilmiştir. Tuzlu koşullarda azalan fotosentetik aktivitenin SNP tarafından arttırıldığını gösteren Uchida ve diğ. (2002) nin bulgusu bizim sonucumuz ile uyumluluk göstermektedir.

Bu çalışmada karotinoid miktarındaki farklılıklar da en az klorofil içeriğindeki değişiklikler kadar dikkat çekici bulunmuştur. Bununla birlikte klorofil yıkımı karotinoid yıkımına oranla tuzlu koşullarda daha fazla gerçekleşmektedir. Belki de tuzluluk klorofil sentez ve/veya yıkım olaylarında rol alan enzimler üzerine karotinoid sentezindeki enzimlerden daha fazla etki etmektedir ya da strese karşı toleransda karotinoidler miktarlarını arttırmaktadır. Bu sonuç karotinoidlerin oksidatif yıkıma karşı koruyucu rol oynadıklarını teyid eder niteliktedir. Tuz stresinin soya fidelerinin hem kotiledon hem de 1. yapraklardaki karotinoid içeriği üzerine inhibisyon etki gösterdiği, ancak bu gerilemenin SNP konsantrasyonları tarafından engellenebildiği sonucuna varılmıştır. Kotiledonlarda tuzun meydana getirdiği gerileme %16 oranında olup, 0.01 ve 1 μ M SNP de bu oran %25 ve %20 oranında arttırılıp, 100 μ M SNP ise sadece tuz

uygulanmış serinin altında sonuçlar elde edilmiştir. 1. yapraklarda ise her üç SNP konsantrasyonunda da 100 mM NaCl deki karotinoid değerinin üzerinde sonuçlar bulunmuştur. Bu durum klorofil içeriğindeki değişikliklere benzerlik göstermektedir. Tuzlu koşullar altında her iki pigmentte de meydana gelen azalmalar 0.01 μ M SNP konsantrasyonları tarafından etkin bir şekilde engellenmektedir. NO ve karotinoid miktarı arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sadece tuzluluk ve karotinoid arasındaki ilişki literatür ile desteklenmeye çalışılmıştır. Bu seride elde edilen bulgular tuz stresinde *Grevillea*'de protoklorofil, klorofil ve karotinoid miktarında azalmaların meydana geldiğini ifade eden Kenedy ve De fillipis (1999) in bulgusunu doğrular niteliktedir. Ayrıca Parida ve diğ. (2002) tarafından tuz stresinin *Bruguiera parviflora* bitkisinin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve karotinoid içeriğinin belirgin şekilde azaldığı rapor edilmiştir.

NaCl tipi tuzluluğun bitkilerde yol açtığı önemli biyokimyasal olaylardan biri olan total çözünebilir protein içeriğindeki değişiklikler de araştırmacılar tarafından incelenmiştir (O'Leary, 1999; Parida ve diğ. 2002; Parida ve Das, 2005). Agastian ve diğ. (2000) çözünebilir proteinlerin düşük tuz konsantrasyonunda arttığını, yüksek tuz konsantrasyonunda ise azaldığını bulmuşlardır. Bu çalışmada soya fidelerinin kotiledon ve 1. yapraklarındaki protein miktarlarında 100 mM NaCl uygulaması sonucu azalmadan ziyade literatüre zıt bir şekilde kotiledonlarda %18, 1. yapraklarda ise %9 oranında bir artış saptanmıştır. Bu sonuç stres koşulunda soya fasulyesinde depo organ olan kotiledonlarda ve 1. yapraklarda yapısal proteinlerin yanı sıra bazı stres proteinlerinin miktarının artışına bağlanabilir. Tuz uygulanmasının düşük molekül ağırlıklı proteinlerin sentezini teşvik ettiği literatürden bilinmektedir. Değişik bitki türlerinde tuz stresi ile teşvik edilmiş bazı stres proteinleri Singh ve diğ. (1987), Hurkman ve diğ. (1991), Lopez ve diğ. (1994) ve Ashraf ve Harris (2004) tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler yukarıdaki araştırmacıların bulgularını desteklemektedir. Muhtemelen soya fidelerinde de tuz stresinin protein yıkımından ziyade bitkinin korunma mekanizmasını harekete geçiren bazı enzim ya da enzim sistemlerinin aktivitesinde görev alan yeni proteinlerin sentezini teşvik etmektedir. Tuz stresinin total protein içeriğine etkisi çalışılmış olmakla beraber, NO ile ilişkilendirilmesine dair doğrudan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada bitkilerin iki gün 0.01, 1, 100 μ M SNP konsantrasyonları ile ön işleme ardışık 100 mM

tuz stresine maruz bırakılması sonucu NO in kotiledon ve 1. yapraklarda protein miktarlarında belirli oranlarda azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bunun nedeni önceden eksojen olarak uygulanan NO in bitkiye ilave bir adaptasyon kazandırarak tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltma yolunda farklı bir mekanizmayı çalıştırması olabilir. Ayrıca uygulanan NO soya bitkisinin savunma mekanizmasını önceden uyardığı için, bitki tuz ile karşılaştığında stres proteinlerinin sentezine ihtiyaç duymamaktadır. Bu düşüncüyü test etmek amacıyla yapılan deney serisinde soya fidelerinin 1 μ M SNP ve 1 μ M c-PTIO nun birlikte uygulanması sonucu bitkinin tuza karşı önceden tolerans kazanması engellenmiş ve protein miktarı 1 μ M SNP uygulamasına oranla artmıştır. Bu bulgu da düşüncemizi doğrulamaktadır. 1 μ M c-PTIO 100 mM NaCl ile birlikte uygulandığında ise bitkide protein miktarı sadece tuz uygulanması koşulunda meydana gelen artıştan bir miktar daha fazladır. Bu sonuç da tuz stresine karşı içsel olarak üretilen NO in tuza karşı gelişen toleransda protein miktarını etkilemekten ziyade farklı bir mekanizmayı devreye soktuğunu düşündürmektedir.

Biyotik ve abiyotik stres koşullarında meydana gelen total peroksidaz aktivitesindeki artış stres koşullarında yaygın olarak kullanılan bir parametredir (Gossett ve diğ., 1994; Hernandez ve diğ., 2000). Son yıllarda tuzluluğun yol açtığı biyokimyasal değişiklikler arasında süperoksit (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) gibi aktif oksijen türlerinin oluşumu dikkat çekmektedir. Böyle sitotoksik oksijen radikallerinin membranlara, fotosentetik pigmentlere ve lipid, protein, nukleik asit gibi makromoleküllere zarar verdiği ortaya konmuştur (Fadzilla ve diğ., 1997; Shalata ve Tal, 1998). Özellikle H_2O_2 in ortadan kaldırılmasında peroksidaz izozimlerinin etkili olduğu bilinmektedir. Bu araştırmada da 100 mM NaCl uygulamasının soya fidelerinin hem kotiledon hem de 1. yapraklarındaki peroksidaz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu bulgu Sanko ve diğ. (1996) ile Eryılmaz (2003) ın yaptıkları çalışmaların sonuçları ile uyumludur. NO tutucusu olan c-PTIO tuz ile beraber uygulandığında peroksidaz aktivitesinde böyle bir artış bulunmamıştır. Bunun nedeni tuz stresi sırasında içsel olarak üretilen NO in peroksidaz aktivitesini teşvik etmesi olabilir. Tuz uygulamasından önce artan SNP konsantrasyonları ile muamele edilen soya fidelerinin 1. yapraklarında peroksidaz aktivitesinin 100 mM NaCl uygulanan gruba göre konsantrasyona zıt olarak azaldığı bulunmuştur. Önceden uygulanmış NO in bitkinin dayanıklılığını arttırarak tuz ile muamelesi sırasında enzim

aktivitesinde bir fazlalığa neden olmadığı sonucuna varılabilir. Soya fasulyesi 1 μ M SNP ve 1 μ M c-PTIO ile beraber ön işlemiden sonra, tuza maruz kalan bu seride peroksidaz aktivitesinde artışın olduğu gözlemlenmiştir. 1. yapraklardaki bulgular kotiledonlardaki peroksidaz aktivitesi ile paralellik göstermektedir. Bu bulgu da yukarıdaki düşüncemizi desteklemektedir. Farklı bir stres koşulu yaratan kadmiyum uygulanmış ayçiçeği yapraklarında NO in koruyucu etkisi Laspine ve diğ. (2005) tarafından rapor edilmiştir. Bu yayında NO ile ön muamele yapılan ayçiçeği bitkilerinde kadmiyum uygulaması ile teşvik edilen diğer bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin NO tarafından engellendiği belirtilmiştir. Bununla beraber Clark ve diğ. (2000) nin yaptıkları çalışmada tütün bitkisinde askorbat peroksidaz ve katalaz aktivitesinin NO tarafından inhibe edildiği bulunmuştur. Soya fidelerinde de antioksidan enzim olarak stres koşulunda artış gösteren total peroksidaz aktivitesinin NO tarafından engellendiği bulgumuz yukarıdaki araştırmacının sonucu ile paralellik göstermektedir.

Bitkinin yetiştirme ortamında bulunan tuzluluk sonucu düşük su potansiyeli bitki büyümesi için gerekli olan su alınımlarını sınırlar. Bitkiler bu olayı yenmek için hücre içi osmotik bileşiklerin konsantrasyonunu arttırmaktadır. Özellikle bitkiler tuz stresi sırasında osmoregülasyonda görev alan başlıca prolin (amino asit), glisin betain (kuaterner amonyum bileşiği) gibi bazı organik maddeleri yapılarında biriktirirler (Ashraf, 1994a; Mansour, 2000; Ashraf ve Bashir, 2003; Parida ve Das, 2005). Ayrıca bitkilerin gliserol, şekerler (glukoz, fruktoz, sukroz), organik asitler ile amino asitler (glisin, alanin, arginin, serin, lösin, valin, sitrullin, ornitin), amidler (glutamin, asparagin), imino asitler, proteinler, dehidrinler gibi azot içeren bileşikleri ve poliaminleri biriktiği de saptanmıştır (Mansour, 2000; Ashraf, 2004). Tuza karşı toleransı fazla olan bitkilerde daha fazla miktarda prolin biriktiği bilinmektedir. Petrusa ve Winicov (1997) yaptıkları çalışmada tuza toleranslı yonca bitkisinin köklerinde hızlı ve iki kat fazla prolin birikimi olduğunu oysa tuza dayanıksız bitkilerde bu artışın oldukça yavaş olduğunu bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada ise Mattioni ve diğ. (1997) buğdayda tuz stresi uygulanması ile birçok amino asidin arttığını ancak diğer amino asitlere göre prolinin en fazla artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu bilgilere dayanarak yapılan bu çalışmada tuz stresine maruz bırakılan soya fidelerinde prolin içeriği incelenmiştir. ½ Hoagland içerisinde yetiştirilen kontrol serisinin 1. yapraklarına oranla

100 mM NaCl de 3 kat fazla miktarda prolinin biriktiği saptanmıştır. Buna karşın tuz ile beraber uygulanan 1 μ M c-PTIO serisinde ise 100 mM NaCl ye oranla prolin miktarında %20 lik bir azalma bulunmuştur. Bu değerlere göre tuza karşı üretilen prolinin içsel olarak sentezlenen NO tarafından teşvik edilebileceği düşünülebilir. SNP konsantrasyonları ile ön işlem yapılan tuz uygulanmış fidelerde ise artan konsantrasyona paralel olarak prolin birikiminin arttığı gözlenmektedir. c-PTIO ve SNP ile ön işlem görmüş serideki bitkilerin prolin birikimi 100 mM NaCl serisindeki değerlere yakın saptanmıştır. Bu verilere göre SNP ile ön işlem sonrasında tuz uygulanması osmotik düzenlemede görev alan prolin amino asidinin birikiminde bir artışa yol açmaktadır. Bu konu ile ilgili çalışmaların sayısı oldukça sınırlı olmakla birlikte Hai-Hua ve diğ. (2004) nin yaptıkları çalışmada NO vericisi olan SNP ile işlem görmüş buğday bitkisi tuz stresine maruz bırakıldığında prolin birikiminin teşvik olduğu bulunmuştur. Bu sonuç da burada elde ettiğimiz bulguyu destekler niteliktedir.

Bu çalışmada son yıllarda bitki fizyolojisinde çeşitli olaylarda rol aldığı bilinen NO molekülünün tuz stresi koşullarındaki etkileri çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, tuza maruz bırakılan soya bitkisinin oransal su içeriğinde büyük miktarda bir azalış meydana gelmemiştir, bu bulgu soya fidelerinin tuza orta dirençli bir tarım bitkisi olduğunu kanıtlar niteliktedir. Uygulanan SNP konsantrasyonlarının ise tuza direnç mekanizmasında OSİ ni az miktarda da olsa arttırabildiği bulunmuştur. SNP konsantrasyonlarına bağlı ön işlem sonucunda tuz stresinin meydana getirdiği klorofil ve karotinoid miktarındaki indirgenmenin azaltılması, orta dereceli tuzluluğa dayanıklı *G. max* bitkisinin tuza toleransının NO ile bir miktar daha arttırılabileceği düşünülmektedir. Literatüre zıt olarak tuz stresinde meydana gelen çözünebilir total protein miktarındaki artış ancak stres proteinlerinin artışından kaynaklanabilir. Uygulanan SNP serileri ile protein içeriğinin kontrole yaklaşması ise oksidatif stresin başka bir mekanizma kullanılarak azaltılması sonucu stres proteinlerine gerek duyulmaması şeklinde de yorumlanabilir. Bununla birlikte protein sonuçları ile ilgili daha ayrıntılı bir çalışmanın yapılması gerekmektedir. Bilindiği gibi tuz stresi ile artan serbest oksijen radikalleri peroksidaz enzim aktivitesini arttırmaktadır. Bulgularımıza göre SNP konsantrasyonlarına bağlı olarak peroksidaz aktivitesi düşmektedir. Bu durum ise NO in aktif oksijen türleri ile reaksiyona girmesi ve antioksidan etki göstermesi ile açıklanabilir. Bu durumda peroksidaz enzimine ihtiyaç bir dereceye kadar

azalabilmektedir. 100 mM NaCl uygulamasında fazla miktarda prolin birikmesi soya bitkisinde osmotik dengenin düzenlenebileceğini işaret etmektedir. Bu durumda OSI'nde çok yüksek bir artış beklenmeyebilir. Soya bitkisinde 100 mM NaCl uygulanması ile OSI değeri az miktarda düşmesi ve prolin birikiminin fazla olması orantılı bulunmuştur. Bu bulgularda soya fasulyesinin orta derecede tuza dirençli olduğunu desteklemektedir. SNP uygulanması ise 100 mM NaCl'deki prolin birikiminin üzerinde bir değerde artışa neden olmaktadır. Bu sonuç, NO'nun tuza direnç mekanizmasında osmoregülasyonda görev alan prolinin sentezi üzerine oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

NO vericisi olan SNP uygulanarak yapılan bu çalışmada konsantrasyonun çok önemli olduğu söylenebilir. Tuza karşı soya bitkisinde çimlenme aşamasında etkili konsantrasyonun 100 μ M SNP, buna karşın fide aşamasında 0.01 μ M SNP olduğu bulunmuştur. OSI, klorofil ve karotinoid içeriği, protein miktarı ve peroksidaz aktivitesi üzerine 0.01 μ M SNP, ancak prolin miktarına 100 μ M SNP'nin etkin olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık, çeşitli fizyolojik olaylarda NO konsantrasyonunun büyük önem taşıdığını bir kez daha vurgulamaktadır.

Bitkilerde NO'nun içsel olarak da sentezlendiği bilinmektedir. Bu bilgiye dayanarak soya fasulyesinde bir dereceye kadar gelişen tuza karşı direnç mekanizmasında, NO'nun görev alıp almadığını araştırmak amacıyla, bitkilere tuz ile beraber NO tutucusu olan c-PTIO birlikte uygulanmıştır. Yapılan bu uygulama sonucunda total protein miktarında sadece 100 mM NaCl uygulanmış seriye oranla bir miktar daha artış, peroksidaz aktivitesi ve prolin içeriklerinde ise bir miktar azalış meydana gelmiştir. Peroksidaz ve prolin içeriğindeki azalmalardan da görüldüğü üzere tuza karşı direnç mekanizmasında etkili olan bu parametrelerin miktarlarının NO tutucusu ile azalması soya fidelerinin 100 mM NaCl'e orta derecede direnç göstermesinde içsel NO'nun etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu fikri desteklemek amacıyla daha ayrıntılı bir çalışmanın yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular ışığında, konsantrasyona bağlı olarak, NO vericisi olan SNP ile ön işlemin *Glycine max* L. bitkisinde bir dereceye kadar tuza karşı toleransın arttırılabileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- ABRAHAM, E., RIGO, G., SZEKELY, G., NAGY, R., KONCZ, C. ve SZABADOS, L., 2003, Light-dependent Induction of Proline Biosynthesis by Abscissic Acid and Salt Stress is Inhibited by Brassinosteroid in *Arabidopsis*, *Plant Mol. Biol.*, 51, 363-372.
- AGASTIAN, P., KINGSLEY, S.J. ve VIVEKANANDAN, M., 2000, Effect of Salinity on Photosynthesis and Biochemical Characteristics in Mulberry Genotypes, *Photosynthetica*, 38, 287-290.
- AN, L., LIU, Y., ZHANG, M., CHEN, T. ve WANG, X., 2005, Effects of Nitric Oxide on Growth of Maize Seedling Leaves in the Presence or Absence of Ultraviolet-B Radition, *Journal of Plant Physiology*, 162, 317-326.
- ANDERSON, M.D., PRASAD, T.K. ve STEWART, C.R., 1995, Changes in Izoenymes Profiles of Catalase, Peroxidase and Glutathione Reductase during Accumulation to Chilling in Mesocotyls of Maize Seedlings, *Plant Physiol.* 109,1247-1257.
- ANDERSON, L. ve MANSFIELD, T:A., 1979, The Effects of Nitric Oxide Pollution on The Growth of Tomato. *Environmental Pollution*, 20, 113-121.
- ASHRAF, M., 1994a, Breeding for Salinity Tolerance in Plants, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 13, 17-42.
- ASHRAF, M., 2004, Some Important Physiological Selection Criteria for Salt Tolerance in Plants, *Flora*, 199, 361-376.
- ASHRAF, M. ve BASIR, A., 2003, Salt Stress Induced Changes in Some Organic Metabolites and Ionic Relations in Nodules and Other Plant Parts of Two Crop Legumes Differing in Salt Tolerance, *Flora*, 198, 486-498.
- ASHRAF, M. ve HARRIS, P.J.M., 2004, Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants, *Plant Science*, 166, 3-16.
- ASHRAF, M. ve O'LEARY, J.M., 1999, Changes in Soluble Proteins in Spring Wheat Stressed with Sodium Chloride, *Biol. Plant.*, 42, 113-117.
- ASHRAF, M. ve TUFAIL, M., 1995, Variation in Salinity Tolerance in Sunflower (*Helianthus annuus* L.), *J. Agron. Soil Sci.*, 174, 351-362.
- AUBERT, S., HENNION, F., BOUCHEREAU, A., GOUT, E., BLINGY, R. ve DOME, A.J., 1999, Subcellular Compartmentation of Proline in the Leaves of the Subantartic Kerguelen Cabbage *Pringlea antiscorbutica* R-Br. In vivo C-13 NMR Study, *Plant Cell Environ.*, 22, 255-259.

- BABAOĞLU, M., 2003, *Soya ve Tarımı*, Edirne, http://www.ttae.gov.tr/mak_alt.htm, [Ziyaret Tarihi: 31 Mayıs 2005]
- BARR, H.D. ve WEATHERLEY, P.E., 1962, A Re-examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficit in Leaves, *Aust. J. Biol. Sci.*, 15, 413-428.
- BARRETT-LENNARD, E.G., 2000, Salt of the Earth: Time to Take it Seriously. Australian Centre for International Agricultural Research: 135-145. In: Cadman, H. (ed.), *The Food and Environment Tightrope*, Canberra.
- BARROSO, J.B., CORPAS, F.J., CARRERAS, A., SANDALIO, L.M., VALDERRAMA, R., PALMA, J.M., LUPIANEZ, J.A. ve del RIO, L.A., 1999, Localization of Nitric Oxide Synthase in Plant Peroxisomes, *Journal of Biological Chemistry*, 274, 36729-36733.
- BATES, L.S., WALDREN, R.P. ve TEARE, I.D., 1973, Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies, *Plant Soil*, 39, 205-207.
- BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 1999, Is Nitric Oxide Toxic or Protective?, *Trends in Plant Sciences*, 4, 299.
- BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 1999a, Nitric Oxide Counteracts Cytotoxic Processes Mediated by Reactive Oxygen Species in Plant Tissues, *Planta*, 208, 337-344.
- BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 2000, Nitric Oxide Stimulates Seed Germination and De-etiolation and Inhibits Hypocotyl Elongation, Three Light-Inducible Responses in Plants, *Planta*, 210, 215-221.
- BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 2001, Nitric Oxide in Plants: The History is just Beginnings, *Plant, Cell and Environment*, 24, 267-278.
- BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 2001a, Nitric Oxide in Plants: The History is just Beginning, *Plant, Cell and Environment*, 24, 267-278.
- BELIGNI, M.V., LAXALT, A. ve LAMATTINA, L., 1997, Putative Role of Nitric Oxide in Plant-Pathogen Interactions, In: Moncada S. Toda N, Higgs EA (eds) *The Biology of Nitric Oxide*, part 6 (Proc Fifth Int Meeting on the Biology of Nitric Oxide, Kyoto, Japan). Portland Press, p 250.
- BIRECKA, H., BRIBER, K.A. ve CATALFAMO, J.L., 1973, Comparative Studies on Tobacco Pit and Sweet Potato Root Isoperoxidases in Relation to Injury, Indolacetic Acid, and Ethylene Effects, *Plant Physiol.*, 52, 43-49.
- BLISS, R.D., PLATT-ALOIA, K.A. ve THOMSON, W.W., 1986, The Inhibitory Effect of NaCl on Barley Germination. *Plant Cell Environ.*, 9, 727-733.

- BOGDAN, C., 2001, Nitric Oxide and the Regulation of Gene Expression, *Trends in Cell Biology*, 11, 66-75.
- BOVERIS, A.D., GALATRO, A. ve PUNTARULO, S., 2000, Effect of Nitric Oxide and Plant Antioxidants on Microsomal Content of Lipid Radicals, *Biological Research*, 33, 159-165.
- BOZCUK, S., 1978, *Domates (Lycopersicum esculentum Mil.), Arpa (Hordeum vulgare L.) ve Pamuk (Gossypium hirsutum L.) Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmesinde Tuz-Kinetin Etkileşimi Üzerinde Araştırmalar*. Doçentlik Tezi, H.Ü. Fen Fak., Ankara.
- BRADFORD, M., 1976, Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye-binding, *Anal. Biochem.*, 37, 403-412.
- BRUGNOLI, E. ve BJORKMAN, O., 1992, Growth of Cotton under Continuous Salinity Stress: Influence on Allocation Pattern, Stomatal and Non-stomatal Components of Photosynthesis and Dissipation of Excess Light Energy. *Planta*, 187, 335-347.
- BURMAN, U., GARG, B.K. ve KATHJU, S., 2003, Water Relations, Photosynthesis and Nitrogen Metabolism of Indian Mustard (*Brassica juncea* Czern. & Coss.) Grown under Salt and Water Stress, *J. Plant Biol.*, 30, 55-60.
- CARO, A. ve PUNTARULO, S., 1998, Nitric Oxide Decreases Superoxide Anion Generation by Microsomes from Soybean Embryonic Axes, *Physiologia Plantarum*, 104, 357-364.
- CEVAHİR, G., 1992, The Relationship between Salt Stress and Senescence in *Helianthus annuus* Seedlings, *İstanbul Üniv. Fen Fak. Biyoloji Der.*, 56, 35-36.
- CLARKE, A., DESIKAN, R., HURST, R.D., HANCOCK, J.T. ve NEILL, S.J., 2000, NO Way Back: Nitric Oxide and Programmed Cell Death in *Arabidopsis thaliana* Suspension Cultures, *Plant Journal*, 24: 667-677.
- CHANG, H., SIEGEL, B.Z. ve SIEGEL, S.M., 1984, Salinity Induced Changes in Isoperoxidase in taro, *Colocasia esculenta*, *Phytochemistry*, 23, 233-235.
- CHARTZOULAKIS, K. ve KLAPAKI, G., 2000, Response of Two Green House Pepper Hybrids to NaCl Salinity during Different Growth Stages. *Sci. Hortic.*, 86, 247-260.
- CRAMER, G.R. ve BOWMAN, D.C., 1991, Kinetics of Maize Leaf Elongation. Increased Yield Threshold Limits Short-Term, Steady-State Elongation Rates after Exposure to Salinity. *Journal of Experimental Botany*, 42, 1417-1426.
- CRAMER, G.R., EPSTEIN, E. ve LÄUCHLI, A., 1988, Kinetics of Root Elongation of Maize in Response to Short-Term Exposure to NaCl and Elevated Calcium Concentration. *Journal of Experimental Botany*, 39, 1513-1522.

- CRAWFORD, N.M. ve GUO, F.Q., 2005, New Insight into Nitric Oxide Metabolism and Regulatory Functions, *Trends in Plant Science*, 10, 195-200.
- COLMER, T.D., EPSTEIN, E. ve DVORAK, J., 1995, Differential Solute Regulation in Leaf Blades of Various Ages in Salt- Sensitive Wheat and A Salt-Tolerant Wheat x *Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love amphiploid. *Plant Physiology*, 108, 1715-1724.
- COLMER, T.D., FAN, T.W.-M., HIGASHI, R.M. ve LÄUCHLI, A., 1996, Interactive Effects of Ca^{2+} and NaCl Salinity on the Ionic Relations and Proline Accumulation in the Primary Root Tip of *Sorghum bicolor*. *Physiologia Plantarum*, 97, 421-424.
- COONEY, R.V., HARWOOD, P.J., CUSTER, L.J. ve FRANKE, A.A., 1994, Light-Mediated Conversion of Nitrogen Dioxide to Nitric Oxide by Carotenoids, *Environmental Health Perspective*, 102, 460-462.
- ÇAKIRLAR, H. ve BOZCUK, S., 1982, Klorür ve Sülfat Tipi Tuzluluğun Buğday, Mısır ve Ayçiçeği Bitkilerinde Meydana Getirdiği Morfolojik ve Fizyolojik Değişimler. *Atatürk Üniv., Fen Fak. Der.* Cilt 1, Özel Sayı, 1, 316-330.
- DATTA, K.K., de JONG, C. ve SINGH, O.P., 2000, Reclaiming Salt-affect Land through Drainage in Haryana, India: a Financial Analysis. *Agric. Water Manage.*, 46, 55-71.
- DEAN, J.V. ve HARPER, J.E., 1986, Nitric Oxide and Nitrous Oxide Production by Soybean and Winged Bean During the in vivo Nitrate Reductase Assay, *Plant Physiology*, 82, 718-723.
- DELLEDONNE, M., 2005, NO News is Good News for Plants, *Currunt Opinion in Plant Biology*, 8, 1-7.
- DELLEDONNE, M., ZEIER, J., MAROCCO, A. ve LAMB, C., 2001, Signal Interactions Between Nitric Oxide and Reactive Oxygen Intermediates in the Plant Hypersensitive Disease Resistance Response, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98,13454-13459.
- DELLEDONNE, M., XIA, Y., DIXON, R.A. ve LAMB, C., 1998, Nitric Oxide Functions as a Signal in Plant Disease Resistance, *Nature*, 394, 585-588.
- DESIKAN, R., GRIFFITHS, R., HANCOCK, J. ve NEILL, S., 2002, A New Role for an Old Enzyme: Nitrate Reductase-Mediated Nitric Oxide Generation is Required for Absciscic Acid-Induced Stomatal Closure in *Arabidopsis thaliana*, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 99, 16314-16318.

- DIETZ, K.J., TAVAKOLI, N., KLUGE, C., MIMURA, T., SHARMA, S.S., HARRIS, G.C., CHARDONNENS, A.N. ve GOLDACK, D., 2001, Significance of the V-type ATPase for the Adaptation to Stressful Growth Conditions and Its Regulation on the Molecular and Biochemical Level. *J. Exp. Bot.*, 52, 1969-1980.
- DRAPER, J., 1997, Salicylate, Superoxide Synthesis and Cell Suicide in Plant Defence, *Trends in Plant Science*, 2, 163-165.
- DURNER, J. ve KLESSIG, D.F., 1999, Nitric Oxide as a Signal in Plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 2, 369-374.
- DURNER, J., WENDEHEMME, D. ve KLESSIG, D.F., 1998, Defense Gene Induction in Tobacco by Nitric Oxide, Cyclic GMP and Cyclic ADP-Ribose, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95, 10328-10333.
- ERYILMAZ, F., 2003, *Yüksek Bitkilerde Tuz Stresi ile Antosiyanin İçeriği Arasındaki İlişkiler, Yüksek Lisans Tezi*, İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- FADZILLA, N.M., ROBERT, P., FINCH, R.P. ve BURDON, R.H., 1997, Salinity, Oxidative Stress and Antioxidant Response in Shoot Cultures of Rice, *J. Exp. Bot.*, 48: 325-331.
- GARCIA-MATA, C. ve LAMATTINA, L., 2001, Nitric Oxide Induces Stomatal Closure and Enhances the Adaptive Plant Responses Against Drought Stress, *Plant Physiology*, 126, 1196-1204.
- GHASSEMI, F. ve JAKEMAN, A.J., and NIX, H.A., 1995, *Salinization of Land and Water Resources: Human Causes, Extend, Management and Case Studies*. University of New South Wales Press Ltd., Sydney.
- GHOULAM, C. ve FARES, K., 2001, Effect of Salinity on seed Germination and Early Seedling Growth of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.), *Seed Sci. Tech.*, 29, 357-364.
- GIBA, Z., GRUBIŠIĆ, D., TODOROVIĆ, S., SAJC, L., STOJAKOVIĆ, D. ve KONJEVIĆ, R., 1998, Effect of Nitric Oxide-Releasing Compounds on Phytochrome-Contrelled Germination of Empress Tree Seeds, *Plant Growth Regulation*, 26, 175-181.
- GOLDSTEIN, G., DRAKE, D.R., ALPHA, C., MELCHER, P., HERAUX, J. ve AZOCAR, A., 1996, Growth and Photosynthetic Responses of *Scaevola sericea*, a Hawaiian Coastal Shrub, to Substrate Salinity and Salt Spray, *Int. J. Plant Sci.*, 157, 171-179.
- GOMES FILHO, E. ve SODEK, L., 1988, Effect of Salinity on Ribonuclease Activity of *Vigna unguiculata* Cotyledons During Germination, *J. Plant. Physiol.*, 132, 307-311.

- GORHAM, J., McDONNEL, E., BUDREWICZ, E. ve WYN JONES, R.G., 1985, Salt Tolerance in the *Triticeae*: Growth and Solutes Accumulation in Leaves of *Thinopyrum bessarabicum*. *J. Exp. Bot.*, 36, 1021-1031.
- GOULD, K.S., LAMOTTE, O., KLINGUER, A., PUGIN, A. ve WENDEHENNE, D., 2003, Nitric Oxide Production in Tobacco Leaf Cells: a Generalized Stress Response?, *Plant, Cell and Environment*, 26, 1851-1862.
- GRAZIANO, M., BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 2002, Nitric Oxide Improves Iron Availability in Plants, *Plant Physiology*, 130, 1852-1859.
- GREENWAY, H., ve MUNNS, R., 1980, Mechanism of Salt Tolerance in non-halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 31, 149-190.
- HAI-HUA, R., WEN-BIAO, S. ve LANG-LAI, X., 2004, Nitric Oxide Involved in the Absciscic Acid Induced Proline Accumulation in Wheat Seedling Under Salt Stress, *Acta Botanica Sinica*, 16 (11), 1307-1315.
- HARPER, J.E., 1981, Evolution of Nitrogen Oxide(s) during *in vivo* Nitrate Reductase Assay of Soybean Leaves, *Plant Physiology*, 68, 1488-1493.
- HAYASHI, H. ve MURATA, N., 1998, *Genetically Engineered Enhancement of Salt Tolerance in Higher Plants*, In: Sato, K., Murata, N., (Ed.), *Stress Response of Photosynthetic Organisms: Molecular Mechanisms and Molecular Regulation*, Elsevier, Amsterdam, pp., 133-148.
- HELLEBUST, J.A., 1976, Effect of Salinity on Photosynthesis and Mannitol Synthesis in the Green Flagellate *Platymonas suecica*, *Can. J. Bot.*, 54, 1735-1741.
- HERNANDEZ, J.A., JIMENEZ, A., MULLINEAUX, P. ve SEVILLA, F., 2000, Tolerance of Pea (*Pisum sativum* L.) to Long Term Salt Stress is Associated with Induction of Antioxidant Defences, *Plant Cell Environ.*, 23, 853-862.
- HERNANDEZ, J.A., OLMOS, E., CORPAS, F.J., SEVILLA, F. ve del RIO, L.A., 1995, Salt-Induced Oxidative Stress in Chloroplasts in Pea Plants, *Plant Sci.*, 105, 151-167.
- HILDA, P., GRACIELA, R., SERGIO, A., OTTO, M., INGRED, R., HUGO, P.C., EDITH, T., ESTELA, M.D. ve GUILLERMINA, A., 2003, Salt Tolerant Tomato Plants Show Increased Levels of Jasmonic Acid, *Plant Growth Regul.*, 41, 149-158.
- HONDA, A., ADAMS, S.R., SAWYER, C.L., LEV-RAM, V., TSIEN, R.Y. ve DOSTMANN, W.R., 2001, Spatiotemporal Dynamics of Guanosine 3', 5'-cyclic Monophosphate Revealed by a Genetically Encoded, Fluorescent Indicator, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98, 2437-2442.
- HUFTON, C.A., BESFORD, R.T. ve WELLBURN, A.R., 1996, Effects of NO (+ NO₂) Pollution on Growth, Nitrat Reductase Activities and Associated Protein Contents

- in Glasshouse Lettuce Grown Hydroponically in Winter CO₂ Enrichment, *New Phytologist*, 133, 495-501.
- HURKMAN, W.J., FORNARI, C.S. ve TANAKA, C.K., 1989, A Comparison of the Effect of Salt on Polypeptide and Translatable mRNA in Roots of a Salt Tolerant and Salt Sensitive Cultivar of Barley, *Plant Physiol.*, 90, 1444-1456.
- HURKMAN, W.J., RAO, H.P. ve TANAKA, C.K., 1991, Germin-like Polypeptides Increased in Barley Roots during Salt Stress, *Plant Physiol.*, 97, 366-374.
- JACKSON, M.B., 2002, Long Distance Signalling from Roots to Shoots Assessed: the Flooding Story, *Journal of Experimental Botany*, 53, 175-181.
- JOHNSON, R.C., NGUYEN, H.T. ve CROY, L.I., 1984, Osmotic Adjustment and Solute Accumulation in Two Wheat Genotypes Differing in Drought Resistance, *Crop Sci.*, 24, 957-962.
- JOVANOVIĆ, S.V., STEENKEN, S., SIMIĆ, M.G. ve HARA, Y., 1997, Antioxidant Properties of Flavonoids: Reduction Potentials and Electron Transfer Reactions of Flavonoid Radicals, In: Rice-Evans, C.A. and Packer, L. (eds.), *Flavonoids in Health and Disease*, Marcel Dekker, New York.
- KAKIMOTO, T., 1996, CK11, a Histidine Kinase Homolog Implicated in Cytokinin Signal Transduction *Science*, 274, 982-985.
- KENNEDY, B.F. ve De FILLIPPIS, L.F., 1999, Physiological and Oxidative Response to NaCl of the Salt Tolerant *Grevillea ilicifolia* and the Salt Sensitive *Grevillea arenaria*, *J. Plant Physiol.*, 155, 746-754.
- KHAN, M.A., GUL, B. ve WEBER, D.J., 2000, Germination Responses of *Salicornia rubra* to Temperature and Salinity, *Journal of Arid Environments*, 45, 207-214.
- KLEPPER, L.A., 1979, Nitric Oxide (NO) and Nitrogen Dioxide (NO₂) Emissions from Herbicide-Treated Soybean Plants. *Atmosphere and Environment*, 13, 537.
- KLESSIG, D.F., DURNER, J. ve NOAD, R., NAVARRE, D.A., WENDEHENNE, D., KUMAR, D., ZHOU, J., SHAH, J., ZHANG, S., KACHROO, P., TRIFA, Y., PONTIER, D., LAM, E. ve SILVA, H., 2000, Nitric Oxide and Salicylic Acid Signalling in Plant Defense, *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, 97, 8849-8855.
- KOCAÇALIŞKAN, İ. ve KABAR, K., 1990, Effect of Salinity on Polyphenol Oxidase During Seed Germination, *Doğa Tr. J. of Botany*, 15, 41-49.
- KOPYRA, M. ve GWÓŹDŹ, E.A., 2003, Nitric Oxide Stimulates Seed Germination and Counteracts the Inhibitory Effect of Heavy Metals and Salinity on Root Growth of *Lupinus luteus*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 1011-1017.

- KUIPER, P.J.C., 1984, Functioning of Plant Cell Membrane under Saline Conditions: Membrane Lipid Composition and ATPase, In: Staples, R.C., Toenniessen, G.H. (Eds.), *Salinity Tolerance in Plants*, Wiley, New York, pp. 77-91.
- KUO, W.N., KU, T.W., JONES, D.L. ve JN-BAPTISTE, J., 1995, Nitric Oxide Synthase Immunoreactivity in Baker's Yeast, Lobster and Wheat Germ, *Biochemical Archives*, 11, 73-78.
- LAMATTINA, L., BELIGNI, M.V., GARCIA-MATA, C. ve LAXALT, A.M., 2001, Method of Enhancing the Metabolic Function and the Growing Conditions of Plants and Seeds, *US Patent*. US 6242384 B1.
- LASPINA, N.V.GROPPA, M.D., TOMARO, M.L. ve BENAVIDES, M.P., 2005, Nitric Oxide Protects Sunflower Leaves Against Cd-Induced Oxidative Stress, *Plant Science*, 168, (7), 252-260.
- LAXALT, A.M., BELIGNI, M.V. ve LAMATTINA, L., 1997, Nitric Oxide Preserves the Level of Chlorophyll in Potato Leaves Infected by *Phytophthora infestans*. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 643-651.
- LEOPOLD, A.C. ve WILLING, R.P., 1984, Evidence for Toxicity Effects of Salts on Membranes. In: Staples, R.C., Toenniessen, G.H. (Eds.), *Salinity Tolerances in Plants*, Wiley, New York, pp. 67-76.
- LESHEM, Y.Y., 2001, *Nitric Oxide in Plants*, London, UK: Kluwer Academic Publishers.
- LESHEM, Y.Y. ve HARAMATY, E., 1996, The Characterisation and Contrasting Effects of the Nitric Oxide Free Radical in Vegetative Stress and Senescence of *Pisum sativum* Linn. Foliage, *Journal of Plant Physiology*, 148, 258-263.
- LESHEM, Y.Y., HARAMATY, E., ILUZ, D., MALIK Z., SOFER, Y., ROITMAN, L. ve LESHEM, Y., 1997, Effect of Stress Nitric Oxide (NO): Interaction Between Chlorophyll Fluorescence, Galactolipid Fluidity and Lipooxygenase Activity, *Plant Physiology and Biochemistry*, 35, 573-579.
- LESHEM, Y.Y., WILLS, R.B.H. ve VENG-VA KU, V., 1998, Evidence for the Function of the Free Radical Gas, Nitric Oxide (NO^{*}), as a Endogenous Maturation and Senescence Regulating Factor in Higher Plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 36, 825-833.
- LOPEZ, F., VANSUYT, G., FOURCROY, P. ve CASE-DELBART, F., 1994, Accumulation of a 22-kDa Protein and Its mRNA in the Leaves of *Raphanus sativus* in Response to Salt Stress or Water Stress, *Physiol. Plant.*, 91, 605-614.
- LUTTS, S., KINET, J.M. ve BOUHARMONT, J., 1996, Effects of Salt Stress on Growth, Mineral Nutrition and Proline Accumulation in Relation to Osmotic

- Adjustment in Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salinity Tolerance, *Plant Growth Regul.*, 19, 207-218.
- MAGALHAES, J.R., MONTE, D.C. ve DURZAN, D., 2000, Nitric Oxide and Ethylene Emission in *Arabidopsis thaliana*, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 6, 117-127.
- MANSOUR, M.M.F., 2000, Nitrogen Containing Compounds and Adaptation of Plants to Salinity Stress, *Biol. Plant.*, 43, 491-500.
- MARTÍNEZ, G.R., Di MASCIO, P., BONINI, M.G., AUGUSTO, O., BRIVIBA, K., SIES, H., MAUER, P., ROTHLSBERGER, U., HEROLD, S. ve KOPPENOL, W.H., 2000, Peroxynitrite doe not Descompose to Singlet Oxygen (ΔgO_2) and Nitroxyl (NO^-), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 10307-10312.
- MAYER, A.M. ve POLJAKOFF-MAYBER, A., 1975, *The Germination of Seeds*. Pergamon Press, Oxford.
- MATTIONI, C., LACERENZE, N.G., TROCCOLI, A., DeLEONARDIS, A.M. ve DIFONZA, N., 1997, Water and Salt Stress-Induced Alterations in Proline metabolism of *Triticum durum* Seedlings, *Physiol. Plant.*, 101, 787-792.
- MELONI, D.A., OLIVA, M.A., RUIZ, H.A. ve MARTINEZ, C. A., 2001, Contribution of Proline and Inorganic Solutes to Osmotic Adjustment in Cotton under Salt Stress. *J. Plant Nutr.*, 24, 599-612.
- MICKELBART, M.V. ve MARLER, T.E., 1996, Root-zone Sodium Chloride Influences Photosynthesis, Water Relations and Mineral Content of *Sapodilla* foliage, *Hort. Sci.*, 31, 230-233.
- MITCHELL, J.P., SHENNAN, C., GRATTAN, S.R. ve MAY, D.M., 1991, Tomato Fruit Yields and Quality under Water Deficit and Salinity. *J.Am. Soc. Hort. Sci.*, 116, 215-221.
- MITTOVA, V., GUY, M., TAL, M. ve VOLOKITA, M., 2002, Response of the Cultivated Tomato and its Wild Salt-Tolerant Relative *Lycopersicon pennellii* to Salt-Dependent Oxidative Stress: Increased Activities of Antioxidant Enzymes in Root Plastids, *Free Radic. Res.*, 36, 195-202.
- MUNNS, R., 2002, Comparative Physiology of Salt and Water Stress. *Plant Cell Environ.*, 25, 239-250.
- MUNNS, R. ve JAMES, R.A., 2003, Screening Methods for Salinty Tolerance: A Case Study with Tetraploid Wheat, *Plant Soil*, 253, 201-218.
- MUNNS, R. ve RAWSON, H.M., 1999. Effect of Salinity on Salt Accumulation and Reproductive Development in the Apical Meristem of Wheat and Barley, *Australian Journal of Plant Physiology*, 26, 459-464.

- NEILL, S.J., DESIKAN, R., CLARKE, A. ve HANCOCK, J.T., 2002a, Nitric Oxide is a Novel Component of Absciscic Acid Signalling in Stomatal Guard Cell, *Plant Physiology*, 128, 13-16.
- NEILL, S.J., DESIKAN, R., CLARKE, A., HURST, R.D. ve HANCOCK, J.T., 2002b, Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide as Signalling Molecules in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 53, 1237-1242.
- NEILL, S.J., DESIKAN, R. ve HANCOCK, J.T., 2002c, Hydrogen Peroxide Signalling, *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 388-395.
- NEILL, S.J., DESIKAN, R. ve HANCOCK, J.T., 2003, Nitric Oxide Signalling in Plants, *New Phytologist*, 159, 1469-1481.
- NEUMANN, P.M., 1993, Rapid and Reversible Modifications of Extension Capacity of Cell Walls in Elongating Maize Leaf Tissues Responding to Root Addition and Removal of NaCl, *Plant, Cell and Environment*, 16, 1107-1114.
- NINNEMANN, H. ve MAIER, J., 1996, Indication for the Occurrence of Nitric Oxide Synthase in Fungi and Plants and the Involvement in Photoconidiation of *Neurospora crassa*, *Photochemistry Photobiology*, 64, 393-398.
- NORITAKE, T., KAWAKITA, K. ve DOKE, N., 1996, Nitric Oxide Induces Phytoalexin Accumulation in Potato Tuber Tissues, *Plant and Cell Physiology*, 37, 113-116.
- PAGNUSSAT, G.C., SIMONTACCHI M., PUNTARULO, S. ve LAMATTINA, L., 2002, Nitric Oxide is Required for Root Organogenesis, *Plant Physiology*, 129, 954-956.
- 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.
- PARIDA, A.K. ve DAS, A.B., 2005, Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: A Review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- PARIDA, A.K., DAS, A.B. ve MITTRA, B., 2004a, Effects of Salt on Growth ion accumulation Photosynthesis and Leaf Anatomy of the Mangrove, *Bruguiera parviflora*, *Trees-Struct. Funct.*, 18, 167-174.
- PARSONS, T.R. ve STRICKLAND, J.D.H., 1963, Discussion of Spectrophotometric Determination of Marine Pigments, with Revised Equations for Ascertaining Chlorophylls and Carotenoids, *Journal of Marine Research*, 21, 115-163.
- PASSIOURA, J.B. ve MUNNS, R., 2000, Rapid Environmental Changes that Affect Leaf Water Status Induced Transient Surges or Pauses in Leaf Expansion Rate, *Australian Journal of Plant Physiology*, 27, 941-948.

- PEDROSO, M.C., MAGALHAES, J.R. ve DURZAN, D., 2000, A Nitric Oxide Burst Precedes Apoptosis in Angiosperm and Gymnosperm Callus Cells and Foliar Tissues, *Journal of Experimental Botany*, 51, 1027-1036.
- PETRUSA, L.M. ve WINICOC, I., 1997, Proline Status in Salt Tolerant and Salt Sensitive Alfalfa Cell Lines and Plants in Response to NaCl , *Plant Physiol. Biochem*, 35, 303-310.
- PLANT, A.L., COHEN, A., MOSES, M.S. ve BRAY, E.A., 1991, Nucleotide Sequence and Spatial Expression Pattern of a Drought and ABA-Induced Gene of Tomato, *Plant Physiol.*, 97, 900-906.
- PRISCO, J.T., ENEAS FILHO, J. ve GOMES FILHO, E., 1981, Effect of NaCl Salinity on Cotyledon Starch Mobilization During Germination of *Vigna unguiculata* L. Walp Seeds, *Rev. Brasil. Bot.*, 4, 63-71.
- QUINTERO, F.J., GARCIABLAS, B. ve RODRIGUEZ-NAVARRO, A., 1996, The SAL1 Gene of *Arabidopsis*, Encoding an Enzyme with 3'(2')-, 5'-Biosphere Nukleotidase and Inositol Polyphosphate 1-Phosphate Activities, Increases Salt Tolerance in Yeast, *Plant Cell*, 8, 529-537.
- REVIRON, M.P., VARTANIAN, N., SALLANTIN, M., HUET, J.C., PERNOLLET, J.C. ve de VIENNE, D., 1992, Characterization of a Novel Protein Induced by Progressive or Rapid Drought and Salinity in *Brassica napus* Leaves, *Plant Physiol.*, 100, 1486-1493.
- RIBEIRO, E.A., CUNHA, F.Q., TAMASHIRO, W.M.S.C. ve MARTINS, I.S., 1999, Growth Phase-Dependent Subcellular Localization of Nitric Oxide Synthase in Maize Cells, *FEBS Letters*, 445, 283-286.
- ROCKEL, P., STRUBE, F., ROCKEL, A., WILDT, J. ve KAISER, W.M., 2002, Regulation of Nitric Oxide (NO) Production by Plant Nitrate Reductase *in vivo* and *in vitro*, *Journal of Experimental Botany*, 53, 103-110.
- RODRÍGUEZ, H.G., ROBERTS, J.K.M., JORDAN, W.R. ve DREW, M.C., 1997, Growth, Water Relations, and Accumulation of Organic and Inorganic Solutes in Roots of Maize Seedlings during Salt Stress, *Plant Physiology*, 113, 881-893.
- SALAMA, S., TRIVEDI, S., BUSHEVA, M., ARAFA, A.A., GARAB, G. ve ERDEI, L., 1994, Effects of NaCl Salinity on Growth, Cation Accumulation, Chloroplast Structure and Function in Wheat Cultivars Differing in Salt Tolerance, *J. Plant Physiol.*, 144, 241-247.
- SALEKI, R., YOUNG, P.G. ve LEFEBVRE, D.D., 1993, Mutants of *Arabidopsis thaliana* Capable of Germination under Saline Condition, *Plant Physiol.*, 101, 655-660.

- SCHERER, G.F.E. ve HOLK, A., 2000, NO Donors Mimic and NO Inhibitors Inhibit Cytokinin Action in Betalaine Accumulation in *Amaranthus caudatus*, *Plant Growth Regulation*, 32, 345-350.
- SEN, S. ve CHEEMA, I.R., 1995, Nitric Oxide Synthase and Calmodulin Immunoreactivity in Plant Embryonic Tissue, *Biochemical Archives*, 11, 221-227.
- SHINOZAKI, K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K., MIZOGUCHI, T., URARO, T., KATAGIRI, T., NAKASHIMA, K., ABE, H., ICHIMURA, K., LIU, Q.A., NANJYO, T., UNO, Y., LUCHI, S., SRKI, M., LTO, T., HIRAYAMA, T. ve MIKAMI, K., 1998, Molecular Responses to Water Stress in *Arabidopsis thaliana*, *J. Plant Res.*, 111, 126-137.
- SHALATA, A. ve TAL, M., 1998, The Effect of Salt Stress on Lipid Peroxidation and Antioxidants in the Leaf of the Cultivated Tomato and Its Wild Salt-Tolerant Relative, *Physiologica Plantarum*, 104, 169-174.
- SINGH, N.K., BRACKER, C.A., HASEGAWA, P.M., HANDA, A.K., BUCKEL, S., HERMODSON, M.A., PFANKOCK, E., REGNIER, F.E. ve BRESSAN, R.A., 1987, Characterization of Osmotin. Athumatin-like Protein Associated with Osmotic Adaptation in Plant Cells, *Plant Physiol.*, 85 (79), 126-137.
- SORIA, T. ve CUARTERO, J., 1997, Tomato Fruit Yield and Water Consumption with Salty Water Irrigation, *Acta Horticulturae*, 458, 215-219.
- SPYCHALLA, J.P. ve DESBOROUGH, S.L., 1990, Superoxide dismutase, catalase, and alpha-tocopherol content of stored potato tubers, *Plant Physiol.*, 94, 1214-1218.
- SRIVASTAVA, L.M., 2002, *Plant Growth and Development, Hormones and Environment*, Academic Press, California, 0-12-660570-X.
- SRIVASTAVA, T.P., GUPTA, S.C., LAL, P., MURALIA, P.N. ve KUMAR, A., 1988, Effect of Salt Stress on Physiological and Biochemical Parameters of Wheat, *Ann. Arid. Zone*, 27, 197-204.
- STÖHR, C. ve ULLRICH, W.R., 2002, Generation and Possible Roles of NO in Plant Roots and Their Apoplastic Space, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, 379, 2293-2303.
- STROGONOV, B.P., 1964, *Physiological Basis of Salt Tolerance in Plants*, Acad. Sci. USSR., Davey and CO. New York.
- SZABOLES, I., 1994, Soils and Salinisation. In *Handbook of Plant and Crop Stress* (ed. M. Pessarakali), pp. 3-11. Marcel Dekker, New York.
- TAKAHASHI, S. ve YAMASAKI, H., 2002, Reversible Inhibition of Photophosphorylation in Chloroplasts by Nitric Oxide, *FEBS Letters*, 512, 145-148.

- TAMAS, L., HUTTOVA, J. ve MISTRIK, I., 2001, Impact of Aluminium, NaCl and Growth Retardant Tetacyclacis on Growth and Protein Composition of Maize Roots, *Biologia*, 56, 441-448.
- TEZARA, W., MITCHELL, V., DRISCOLL, S.P. ve LAWLOR, D.W., 2002, Effects of Water Deficit and Its Interaction with CO₂ Supply on the Biochemistry and Physiology of Photosynthesis in Sunflower, *J. Exp. Bot.*, 53: 1781-1791.
- TOPÇUOĞLU, Ş.F. ve ÇAKIRLAR, H., 1990, Tuz Stresinde Büyütülen Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Gövdesinde Tuz Konsantrasyonuna ve Yaşa Bağlı Olarak Absisik Asit (ABA) Miktarının Değişimi, *X. Ulusal Biyoloji Kongresi Botanik Bildirileri*, Cilt 1, 305-314.
- TREWAVAS, A.J., RODRIGUES, C., RATO, C. ve MALHO, R., 2002, Cyclic Nucleotides: the Current Dilemma!, *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 425–429.
- TUN, N.N., HOLK, A. ve SCHERER, G.F.E., 2001, Rapid Increase of NO Release in Plant Cell Cultures Induced by Cytokinin, *FEBS Letters*, 509, 174-176.
- UCHIDA, A., JAGENDORF, A.T., HIBINO, T., TAKABE, T. ve TAKABE, T., 2002 Effects of Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide on both Salt and Heat Stress Tolerance in Rice, *Plant Science*, 163, 515-523.
- VAIDYANATHAN, R., KURUVILLA, S. ve THOMAS, G., 1999, Characterization and Expression Pattern of an Absciscic Acid and Osmotic Stress Responsive Gene from Rice, *Plant Sci.*, 140, 21-30.
- VAN derVLIET, A., EISERICH, J.P., KAUR, H., CROSS, C.E. ve HALLIWELL, B., 1996, Nitrotyrosine as Biomarker for Reactive Nitrogen Species, In: Packer L, ed. Nitric Oxide, B. Physiological and Pathological Processes, *Methods in Enzymology*, 269, 175-184.
- VOETBERG, G. ve STEWARD, C.R., 1984, Steady State Proline Level in Salt Shocked Barley Leaves, *Plant Physiol.*, 76, 567-570.
- VRANOVA, E., INZE, D. ve VAN BREUSEGEM F., 2002, Signal Transduction during Oxidative Stress, *Journal of Experimental Botany*, 53, 1227-1236.
- 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.
- WATAD, A., REUVENI, M., BRESSON, R.A. ve HASEGAWA, P.M., 1991, Enhanced Net K⁺ Uptake Capacity of NaCl-Adapted Cells. *Plant Physiol.*, 95, 1265-1269.

- WEIMBERG, R., 1988, Modification of Foliar Solute Concentrations by Calcium in Two Species of wheat Stressed with Sodium Chloride and/or Potassium Chloride: *Physiol. Plant.*, 73, 418-425.
- WEITZBERG, E. ve LUNDBERG, J, 1998, Nonenzymatic Nitric Oxide Production in Humans, Nitric Oxide, *Biology and Chemistry*, 2, 1-7.
- WENDEHENNE, D., PUGIN, A., KLESSIG, D.F. ve DURNER, J., 2001, Nitric Oxide: Comparative Synthesis and Signalling in Animal and Plant Cells, *Trends in Plant Science*, 6, 177-183.
- WINK, D.A., HANBAUER, I., KRISHNA, M.C., DeGRAFF, W., GAMSON, J. ve MITCHELL J.B., 1993, Nitric Oxide Protects Against Cellular Damage and Cytotoxicity from Reactive Oxygen Species, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 90, 9813-9817.
- YAMASAKI, H. ve SAKIHAMA, Y., 2000, Simultaneous Production of Nitric Oxide and Peroxynitrite by Plant Nitrate Reductase: *in vitro* Evidence for the NR-Dependent Formation, *FEBS Letters*, 468, 89-92.
- YANG, W.-J., RICH, P.J., AXTELL, J.D., WOOD, K.V., BONHAM, C.C., EJETA, G., MICKELBART, M.V. ve RHODES, D., 2003, Genotypic Variation for Glycine-betaine in Sorghum, *Crop. Sci.*, 43, 162-169.
- YEO, A.R., LEE, K.-S., IZARD, P., BOURSIER, P.J. ve FLOWERS, T.J., 1991, Short- and Long-term Effects of Salinity on Leaf Growth in Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, 42, 881-889.
- ZHAO, L., ZHANG, F., GUO, J., YANG, Y., LI, B. ve ZHANG, L, 2004, Nitric Oxide Functions as a Signal in Salt Resistance in the Calluses from Two Ecotypes of Reed, *Plant Physiology*, 134, 849-857.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İstanbul da doğdum. Lise eğitimimi Kadir Has Lisesi'nde 1997 yılında tamamladım. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldum. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Botanik programında yüksek lisans eğitimime başladım. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi Botanik Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak atandım, halen görevime devam etmekteyim.