T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LOKAL ENDEMİK *THERMOPSIS TURCICA* KIT TAN, VURAL & KÜÇÜKÖDÜK'NIN BÜYÜME PARAMETRELERİ, LİPİD PEROKSİDASYONU, PROLİN VE KLOROFİL İÇERİKLERİ ÜZERİNE TUZ STRESİNİN ETKİLERİ

Fatma Betül KARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

OCAK 2013
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖNSÖZ

Çalışmalarımın her aşamasında yanımda olup yol gösteren, her konuda destek olan, bilgi, görüş ve önerilerini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof.Dr. Hüseyin Dural'a teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr. Mustafa Küçüködük'e teşekkürlerimi sunarım. Deneylerim süresince görüş ve önerilerini esirgemeyen ve her zaman yardımcı olan, sonuçlarımın değerlendirilmesinde emeği geçen Arş.Gör.Dr. Evren Yıldıztugay'a teşekkür ederim.

Tüm öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olarak sayısız fedakarlıklar yapan maddi ve manevi her konuda ilgi ve desteklerini benden esirgemeyip beni bugünlere taşıyan ve başarılarımda büyük katkıda bulunan canım aileme en içten sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

LOKAL ENDEMİK *THERMOPSIS TURCICA* KIT TAN, VURAL & KÜÇÜKÖDÜK'NIN BÜYÜME PARAMETRELERİ, LİPİD PEROKSİDASYONU, PROLİN VE KLOROFİL İÇERİKLERİ ÜZERİNE TUZ STRESİNİN ETKİLERİ

Fatma Betül KARA

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin DURAL

2013, 59

Jüri
Prof.Dr. Hüseyin DURAL
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Yrd. Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI

Bu çalışmanın amacı, lokal endemik *Thermopsis turcica*'nın büyüme parametreleri, lipid peroksidasyonu (MDA), prolin ve klorofil içerikleri üzerine tuz stresinin etkilerini belirlemektir. Fidelerin büyüme parametreleri, yaprak nisbi su içerikleri (RWC), fotosentetik verimleri, lipid peroksidasyon seviyeleri, prolin ve klorofil içerikleri araştırılmıştır. 50 günlük *T. turcica* fideleri 7 ve 14 gün süresince 0, 100 ve 200 mM NaCl'ye maruz bırakılmıştır. Fidelerin kök-gövde uzunlukları ve yaş-kuru ağırlıkları ile RWC, tuz stresi uygulamaları ile azalmıştır. 100 ve 200 mM NaCl, fidelerin fotosentetik verimleri üzerine önemli bir etki göstermemiştir. Sürgünlerin MDA içerikleri tuz konsantrasyonundaki artışa paralel olarak artış göstermiştir. En yüksek MDA artışı 14 gün süresince 200 mM NaCl uygulanan gruplarda kontrole göre % 46.5'lik artışla tespit edilmiştir. Tuz stresine bağlı olarak sürgünlerin prolin içerikleri önemli oranda artış gösteriştir. Hem 7 hemde 14 gün süresince 200 mM NaCl uygulanan gruplarda en yüksek prolin artışının olduğu belirlenmiştir. Fidelerin Kl-a, Kl-b ve karotenoid içerikleri 7 günlük tuz stresi uygulamalarında değişmezken 14 günlük süreçte önemli oranda azalmıştır. Bu sonuçlara bağlı olarak, *T. turcica*'nın kısa süreli (7 gün) tuz uygulamaları ile fidelerin klorofil içeriklerinin değişmemesi ve fotosentetik aygıtların iyi bir şekilde korunmasında prolin birikiminin ilişkili olabileceğini ileri sürebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Büyüme parametreleri, fotosentetik verim, klorofil, lipid peroksidasyonu, prolin, *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük, tuz stresi.

ABSTRACT
EFFECTS OF SALT STRESS ON GROWTH PARAMETERS, LIPID PEROXIDATION, PROLINE AND CHLOROPHYLL CONTENTS OF LOCAL ENDEMIC *THERMOPSIS TURCICA* KIT TAN, VURAL & KÜÇÜKÖDÜK

Fatma Betül KARA

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCEOF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Hüseyin DURAL
2013, 59

The Jury
Prof.Dr. Hüseyin DURAL
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Yrd. Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI

The aim of this study is to determine effects of the salt stress on growth parameters, lipid peroxidation(MDA), proline and chlorophyll contents of local endemic *Thermopsis turcica*. Growth parameters, relative water content(RWC) of the leaves, photosynthetic efficiency, lipid peroxidation levels, proline and chlorophyll contents of the seedlings were investigated. 50 day old *T.turcica* seedlings were exposed to 0,100 and 200mM NaCl for 7 and 14 days. Root-stem lengths and fresh-dry weights of the seedlings and RWC decreased by salt stress applications. 100 and 200mM didn't show any significant effect on photosynthetic yield of the seedlings. MDA contents of the shoots increased in parallel to the increase in salt concentration. The highest MDA increase was detected by an increase of 46.5% in the groups where 200mM was applied for 14 days when compared with the control. Proline content of the shoots significantly increased depending on the salt stress. The highest proline increase was detected in the groups where 200mM was applied both for 7 and 14 days. While Kl-a, Kl-b and carotenoid contents of the seedlings didn't change at salt stress applications for 7 days, they decreased significantly at 14 days period. Therefore, we may suggest that stable chlorophyll contents of the seedlings and well protection of photosynthetic tools by short term salt applications onto *T.turcica* may be associated with proline accumulation.

Key Words: Growth paremeters, photosynthetic yield, chlorophyll, lipid peroxidation, proline, *Thermopsis turcica*, Kit Tan, Vural&Küçüködük, salt stress.

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ ..... **i**

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**

ÖNSÖZ ..... **iii**

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

İÇİNDEKİLER ..... **vi**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **3**

2.1. Tuz Stresi 3

2.1.1. Halofit ve glikofit bitkilerin karşılaştırılması 7

2.1.2. Bitkilerin tuz stresine karşı gösterdikleri adaptasyon mekanizmaları 8

2.1.3. Bitkilerde tuz stresi üzerine yapılan bazı çalışmalar ve özetleri 10

2.1.4. *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük ile yapılan diğer çalışmalar 14

3. MATERYAL VE YÖNTEM **16**

3.1. *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük 16

3.2. Materyalin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi 18

3.3. Deneme Serilerinin Hazırlanması 19

3.4. Tohum Ekimi 19

3.5. Analiz Yöntemleri 20

3.5.1. Büyüme parametrelerinin ölçülmesi 21

3.5.2. Bağıl su içeriklerinin belirlenmesi 21

3.5.3. Fotosentetik verimlerinin (klorofil floresans) ölçülmesi 21

3.5.4. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü 22

3.5.4.1. Lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi 22

3.5.4.2. Yapraklardaki prolin miktarının ölçülmesi 22

3.5.4.3. Klorofil içeriklerinin belirlenmesi 23

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 24

4.1. Büyüme Parametreleri 24

4.1.1. *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük kök ve gövde uzunlukları 24

4.1.2. *Thermopsis turcica* fidelerinin kök yaş ve kuru ağırlıkları 26

4.1.3. *Thermopsis turcica* fidelerinin gövde yaş ve kuru ağırlıkları 28

4.2. Yaprakların Bağıl Su İçerikleri (RWC) 30

4.3. Yapraklardaki Klorofil Floresans Ölçümleri 31

4.4. Biyokimyasal Parametreler 33

4.4.1. Yapraklardaki lipid peroksidasyon seviyeleri 33

4.4.2. Yapraklardaki prolin seviyeleri 35

4.4.3. Klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid içeriği ölçümleri 37

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 41

5.1. Sonuçlar 41

5.2. Öneriler 42

6. KAYNAKLAR 43

ÖZGEÇMİŞ 50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Cl^-	: Klorür
dI-H_2O	: Deiyonize su
dk	: Dakika
Fm	: Maksimum floresans indüksiyonu
Fo	: Değişken olmayan bazal klorofil floresansı
Fv	: Değişken bazal klorofil floresansı
Fv/Fm	: Maksimum kuantum verimi
H_2SO_4	: Sülfirik asit
KA	: Kuru ağırlık
MDA	: Malondialdehit
mg/l	: Miligram/Litre
mM	: Milimolar
Na^+	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
nm	: Nanometre
RWC	: Bağıl su içeriği
TA	: Turgorlu ağırlık
TBA	: Tiobarbitürik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
YA	: Yaş ağırlık

1. GİRİŞ

Stres, çevresel ve biyolojik faktörlerin, ayrı ayrı ya da birlikte, bitkilerin fizyolojik olaylarında belirgin değişimler meydana getirmesidir (Kadıoğlu, 1999). Abiyotik (tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklıklar, besin elementlerinin eksiklik veya fazlalıkları, ağır metaller, hava kirliliği, radyasyon gibi) ve biyotik (hastalık oluşturan mantar, bakteri, virüs vb. ve zararlılar) stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde fizyolojik, morfolojik, anatomik olarak çeşitli tepkiler oluşmaktadır.

Dünyada tarımsal üretimi sınırlandıran en önemli abiyotik stres faktörleri arasında kuraklık ve tuzluluk karşımıza çıkmaktadır. Dünya tarım alanlarının yaklaşık olarak % 45'i sürekli olarak kuraklık stresine maruz kalırken, dünya yüzeyinde bulunan alanların yaklaşık % 6'sı tuzluluk sorunu ile karşı karşıya bulunmaktadır (Asraf ve Foolad, 2007).

Tuzluluk, türlerin dağılışını ve yaşamını etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biridir (Shannon, 1985). Tuzluluk; özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanarak yeraltı suyuna karışan çözünebilir tuzların, yüksek taban suyuyla birlikte kapilarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun uçmasıyla toprak yüzeyinde birikmesi olayıdır. Tuzluluğun artışına bağlı olarak sürdürülebilir tarım alanlarının önümüzdeki 25 yıl içerisinde % 30'unun, 21. yüzyılın ortalarında ise % 50'sinin tahrip olabileceği bildirilmektedir (Munns, 2002; Bonilla ve ark., 2004; Ahmadi ve ark., 2009).

Tuz stresi; artan solunum oranı, iyon toksisitesi, bitki büyümesindeki değişimler, mineral bozukluklar, kalsiyum iyonlarının yerine sodyum iyonlarının geçmesiyle sonuçlanan membran kararsızlığı (Marschner, 1986), membran geçirgenliği (Gupta ve ark., 2002) ve azalan fotosentez etkinliği (Hasegawa ve ark., 2000; Munns, 2002) gibi fizyolojik işlevleri etkilemektedir. Diğer taraftan tuzluluk, azot metabolizmasını da olumsuz etkilemektedir (Mansour, 2000).

Dünyada son yıllardaki iklim değişikliklerinin sonucu olarak ortaya çıkan kuraklık, ekosistemler üzerinde ciddi tehditler içermektedir. Özellikle bu kuraklık tehdidi en fazla Konya ovasında hissedilmektedir. Bu bölge farklı ekosistemlerde yayılış gösteren çok sayıda endemik bitki türünü bulundurmakta olup, bu endemik bitki türleri değişen yeni şartlara adaptasyon da zorlanmakta ve yok olma tehdidi ile karşı karşıya kalmaktadırlar. Özellikle Akşehir Gölü ve çevresinde çok nadide endemik bitki

türleri bulunmaktadır. Yaşanan kuraklık, dışarıdan göle ulaşan tatlı su girişinin azalmasına neden olmuş ve göl çevresinde yaşayan bitki türlerinin ihtiyaç duydukları su ve minerallerin topraktan alımını güçleştirmiştir. Ayrıca göl sularının çekildiği alanlarda tuzluluk problemi de ortaya çıkmaktadır. Artan tuzlulukla birlikte topraktaki serbest su potansiyeli de düşmekte ve bitkilerin su alımı gittikçe zorlaşmaktadır.

Tüm bu olumsuz etkilere karşı birçok bitki türünün de tuzluluğa karşı direnci sağlayan genetik bir mekanizmaya sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bugün bütün bitki yetiştiricileri yüksek tuz konsantrasyonlarına genetik olarak adapte olabilen daha iyi çeşitleri seçmeye ve ortaya çıkarmaya çalışmaktadır. Tüm bu çalışmalar, özellikle tuzluluk sorunu olan arazilerin ıslah edilmesi ve bu tip topraklardan daha verimli ürün eldesi açısından önem taşımaktadır. Bunun için de bitkilerin toprak tuzluluğuna karşı gösterdikleri fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal adaptasyon mekanizmalarının anlaşılması, tuzluluğa toleranslı zirai türlerin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Tez projesi için seçmiş olduğumuz "*Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük", Akşehir Gölü'nün (Konya) batısı ve güneyi ile Eber Gölü'nün güneyinde yayılış gösteren ve diğer çoğu bitkinin yaşayamadığı tuzlu topraklarda yetişen lokal endemik bir bitki türüdür. *T. turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük, çok dar bir alanda yayılış göstermektedir. Dolayısı ile 2000 yılında basılan Türkiye bitkileri kırmızı kitabına göre (Ekim ve ark., 2000) Konya endemiği olarak görünmektedir. Bitkinin yaşadığı habitat, diğer birçok bitkinin büyüyüp neslini devam ettirmesine imkan vermeyen gölün çekilmesiyle ortaya çıkan killi ve tuzlu topraklar şeklindedir. Yüksek tuz oranına sahip topraklarda neslini devam ettirebilmesi için çeşitli fizyolojik, morfolojik, biyokimyasal ve ekolojik adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir. Bitki günümüzde yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olmakla birlikte CR (Criticaly endangered: Çok tehlikede), IUCN tehlike kategorisi içerisinde bulunmaktadır (Ekim ve ark., 2000).

Bu tez projesi kapsamında amacımız; Akşehir Gölü (Konya) çevresinde yayılış gösteren, tuz stresine dayanıklılığı ve tuza adaptasyon mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük (tuza dirençli)'nın büyüme parametreleri, lipid peroksidasyon, prolin ve klorofil içerikleri üzerine tuz stresinin etkilerini fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal düzeyde incelemek ve bilim dünyasına katkıda bulunmaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Stres faktörleri bitkilerin yaşamının herhangi bir anında ortaya çıkabilirler. Bu stresler, bitkilerde pek çok değişime sebep verir. Bu değişimlerden bazıları; bitkilerde büyüme ve gelişmeyi engelleyebilir, ürünün kalitesini düşürebilir, hatta bitkinin ölümüne sebep olabilir. Her bitkinin çevreye genetik adaptasyonu farklıdır. Bu adaptasyona bağlı olarak, stresin oluşturduğu zararlar farklılık göstermektedir. Hangi bitkinin hangi bölgede en iyi şekilde yetişeceğini belirleyen faktör, genetik adaptasyondur. Biyoteknolojik uygulamalarla strese dayanıklı bitki çeşitlerinin üretilmesi ve muhtemel beslenme sorunlarının ortaya çıkması önlenmeye çalışılmaktadır. Strese dayanıklı bitkiler ya sahip oldukları gelişmiş savunma mekanizmalarıyla stres faktörlerinden olumsuz etkilenmekten kendilerini korumakta ya da stres faktörlerinden çeşitli yollarla kaçınarak hayatta kalmaktadırlar. Bitkilerin karşı karşıya bulundukları başlıca abiyotik stres çeşitleri şunlardır; tuz stresi, kuraklık stresi, sıcaklık stresi, soğuk stresi, don stresi, oksidatif stres, ışık stresi, ağır metal stresi ve fazla su stresidir.

2.1. Tuz Stresi

Tuzluluk, bitkilerin büyümesini, gelişmesini ve üremesini sınırlayan en önemli çevresel etmenlerden birisidir (Allakhverdiev ve ark., 2000). Aşırı tuzluluk bitkilerde ölüme yol açabilmekte ya da verimliliklerini düşürebilmektedir. Bitkilerin büyük bir bölümü ya tuzu hücrelerinden uzak tutan ya da hücredeki tuzu tolere eden mekanizmalar geliştirmişlerdir. Toprak tuzlanmasına karşı kültür bitkilerinin çoğunluğunun duyarlı olmasından dolayı toprak tuzluluğu ürün verimliliğini sınırlandıran en önemli abiyotik stresler arasındadır (Hu, 2007). Toprak tuzlanması jeolojik yapıdan kaynaklanabilir veya insan kaynaklı olabilir. Yapılan çalışmalarda dünyanın her yerinde özellikle de kurak ve yarı kurak bölgelerin bitkilerinde tuz stresinin görüldüğü bildirilmektedir. Yağışlı bölgelerde tuz stresinin görülmemesinin temel sebebi yağışın tuzları yıkayarak yeraltı sularına karıştırmasıdır (Ekmekçi ve ark., 2005). Kurak ve yarı kurak bölgelerde yağış azlığı nedeniyle tuzların yıkanması yok

denecek kadar az olmaktadır. Toprakların deniz suyundan etkilendiği bölgelerde ve denize yakın alçak arazilerde tuzlanmaya çok sık rastlanmaktadır.

Dünya genelinde tuzdan etkilenmiş alanların çoğunluğu yağışlarla kayalardaki sodyum klorür ve kalsiyum klorür gibi çözülebilir tuzların serbest kalması sonucunda oluşmaktadır (Rengasamy, 2002). Okyanuslar üzerinden gelen yağmur suları 6-50 mg/l NaCl içermekte ve kıyılardan uzaklaştıkça tuz konsantrasyonu azalmaktadır. 10 mg/l NaCl içeren yağmur suları, her yıl 100 mm'lik yağışla 10 kg/h tuz bırakır (Munns ve Tester, 2008). İnsan kaynaklı olarak tuzlanan topraklar, çoğunlukla kurak ve yarı kurak alanlarda görülmekte olup, aşırı zirai sulamadan ve yer altı suyunun yükselmesinden kaynaklanmaktadır.

Bu bölgelerde yıkanarak yer altı suyuna karışan çözünebilir tuzlar, yüksek taban suyu ile kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkmakta ve buharlaşma sonucu suyun uçmasıyla toprak yüzeyinde birikmektedir. Bu durum zirai alanlardaki tuzluluk artışının temel nedenidir (Munns, 2002).

Tuz stresi bitkilerde iki nedenle ortaya çıkmaktadır. Kök bölgesinde çözünmüş tuzların fazlalığı sonucunda yoğunluğun artması nedeniyle bitkinin suyu almakta güçlük çekmesi ve bazı iyonların miktarındaki artışa bağlı olarak toksik etkiler göstermesiyle ortaya çıkmaktadır. Aşırı tuz stresi bitkilerde bodurluğa ve kök büyümesinde gerilemeye neden olur.

Toprak tuzluluğuna neden olan bileşikler; Klorürler (NaCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$), Sülfatlar (Na_2SO_4, $MgSO_4$), Nitratlar ($NaNO_3$, KNO_3), Karbonatlar ve bikarbonatlar (Na_2CO_3, $NaHCO_3$)'dır. Ancak genelde toprak tuzluluğu ve tuz stresi denildiğinde NaCl'ün varlığından söz edilmektedir. Toprak çözeltisinde NaCl oranı % 0.5'ten daha fazla ise bu topraklar tuzlu topraklar olarak nitelendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda dünyada sulanan alanların %20'sinin tuzluluktan etkilendiği tespit edilmiştir (Şekil 2.1).

Dünya Genelinde Tarımda Kullanılabilir Alan	Stres Faktörü
% 10	Sorunsuz
% 20	Tuz stresi
% 26	Kuraklık stresi
% 15	Don stresi

Şekil 2.1. Stres faktörünün kullanılabilir alandaki dağılımı

Tuz stresi toprağın gözeneklerini azaltıp hidroelektrik iletkenliğini bozarak toprağın fiziksel yapısını bozmakta, toprakta düşük su potansiyeli yaratarak bitkinin besin, su ve mineral alınımını güçleştirmekte, neden olduğu iyon toksisitesiyle de bitkilerde metabolik bozukluklara yol açarak bitkinin büyüme ve gelişmesini baskılamaktadır. Ayrıca tuz stresi, proteinlere, lipidlere ve nükleik asitlere saldıran reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına da neden olmaktadır (Mittler, 2002).

Tuz stresi bitkilerde fotosentez etkinliğinde de azalmaya neden olmakta ve bitki yapraklarında klorofil içeriğini olumsuz yönde etkilemektedir (Sayed, 2003). Tuzluluğun artışına bağlı olarak fotosentezdeki azalma;

a. hücre içi CO_2 basıncının azalmasına neden olan stoma kapanması (Sibole ve ark., 1998),

b. protein konsantrasyonundaki azalma (Sibole ve ark., 1998),

c. fotosentetik pigmentlerin miktarındaki azalma (Sultana ve ark., 1999),

d. iyon konsantrasyonlarındaki değişimler (Khan ve Ungar, 1997) ile ilişkilidir.

Bitkilerin yaprak dokusundaki toplam klorofil ve karotenoid içeriği tuz stresi altında genellikle azalmaktadır (Agastian ve ark., 2000). Klorofil içeriğindeki azalma tuzun membran kararlılığı üzerine olumsuz etkilerinden kaynaklanmaktadır (Ashraf ve Bhatti, 2000).

Toprak tuzluluğu dünya çapında sürekli artan bir sorundur ve dünyadaki toprakların yaklaşık % 7'sini (930 milyon hektar) tuzlu toprakların oluşturduğu tahmin edilmektedir (Szabolcs, 1994). Yaklaşık 230 milyon hektar sulanabilen alanın 1/3'ünde

toprak tuzluluğundan dolayı ekim yapılamamaktadır (Oldeman ve ark., 1991; Ghassemi ve ark., 1995). Bu alanların % 15.57'si Afrika'da, % 5.07'si Avustralya'da, % 0.57'si Meksika ve Orta Amerika'da, % 1.8'i Kuzey Amerika'da, % 20.21'i Güney Amerika'da, % 26.70'si Kuzey ve Orta Asya'da, % 24.25'i Güney Asya'da ve % 5.82'si Güney Doğu Asya'da bulunmaktadır (Massoud, 1974). Bu alanlar üzerinde yayılış gösteren çok sayıda tür tespit edilmiştir. Bu türlerin tolerans durumları sadece türler arasında değil, tür içerisinde de büyük değişiklikler göstermektedir. Monokotil kültür bitkileri arasında çeltik en hassas, ekmeklik buğday hoşgörülü, arpa ise en toleranslı türlerdendir (Yıldıztugay, 2011). Dikotillerde tuza tolerans daha fazla çeşitlilik gösterir. Örneğin bazı baklagiller çeltikten daha duyarlıdır. Yonca nispeten tuza toleranslıdır ve bazı Atriplex türleri aşırı tuzlu topraklarda gelişebilir (Flowers ve ark., 1977).

Ülkemizdeki toprakların % 1.7'sinde (1518722 hektar) tuzluluk ve alkalilik (çoraklık) sorunu tespit edilmiştir. Bu tuzlu ve alkali alanların, 614.617 hektarı hafif tuzlu, 504.603 hektarı tuzlu, 8.641 hektarı alkali, 125.863 hektarı hafif tuzlu-alkali ve 264.958 hektarı tuzlu-alkali topraklar şeklindedir (Sönmez, 2003; Yıldıztugay, 2011).

Dünya üzerinde birçok kurak ve yarı kurak bölgedeki zirai verim, sulama suyunun artan tuzluluğu ve tarım toprakların yavaş yavaş gelişen tuzluluğu nedeniyle azalmaktadır. Bu problem deniz kıyısına yakın alanlarda, deniz suyunun yer altı sızıntısıyla iç karadaki tatlı su kaynaklarının tuzlanmasına neden olduğu düşük rakımlı bölgelerde de mevcuttur. Bu bölgelerde her yıl yaklaşık 10 milyon hektara yakın verimli tarımsal arazi, toprak tuzluluğundan dolayı kaybedilmektedir (Ashraf, 1994; Szabolcs, 1994; Yıldıztugay, 2011). Ülkemizde de var olan bu problem son yıllarda tarımsal üretimi kısıtlayan önemli bir çevresel faktör haline gelmiştir. Her yıl giderek büyüyen verim kayıplarına neden olan toprak tuzluluğundaki bu artış, ülkemiz için ciddi anlamda dikkate alınması ve üzerinde çalışılması gereken öncelikli konulardan birisidir. Bitkiler karşı karşıya kaldıkları yüksek orandaki tuzluluk açısından halofit bitkiler ve glikofit bitkiler olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar.

2.1.1. Halofit ve glikofit bitkilerin karşılaştırılması

Yüksek tuz konsantrasyonuna sahip topraklar üzerinde yaşamlarını sürdürebilen bitkilere halofitler adı verilir. Halofitler (*Halo*; tuz) topraktaki tuzluluğa alışık olup yaşam döngülerini bu ortamda sürdüren bitkilerdir. Glikofitler ise (tatlı bitkiler) halofit olmayan bitkiler olarak bilinirler ve tuzlu ortamlara halofitler kadar dayanıklı olmayan bitkilerdir. Glikofit bitkiler 200 mM'ın altındaki tuz konsantrasyonunda zarar görür. Glikofitler bu stres altında bile ölürken, halofitler 300 mM NaCl'den daha yüksek konsantrasyondaki tuzlulukta bile yaşayabilirler (Zhu, 2007). Halofit olmayan bazı bitkiler de 200 mM NaCl konsantrasyonunda büyümeye devam edebilir. Bu bitkiler tuza toleranslı olarak kabul edilirler.

Glikofitler için topraktaki tuz konsantrasyonu eşiği geçildiğinde büyümede duraklama, yaprakta renksizlik ve bitki kuru ağırlığında bir azalma meydana gelir. Aralarında mısır, soğan, limon, portakal, marul ve fasulyenin olduğu bitkiler tuza oldukça yüksek oranda hassas olup, pamuk ve arpa orta dereceli, şeker pancarı ve hurma ise tuzluluğa kaşı yüksek oranda direnç gösteren bitkilerdir.

Halofitler tuzlu toprakların doğal bitkileridir ve yaşam döngülerini bu çevrede tamamlamaktadırlar. Halofitlerin büyük bir çoğunluğu, topraktaki tuz oranının % 2-6 olduğu alanlarda başarılı bir şekilde gelişebilir ve hatta bazıları % 20 tuz oranına bile dayanabilirler (Strogonov, 1964). Glikofitler, tuzsuz topraklarda başarı ile gelişebilen ve tuzlu alanlarda yaşamlarını sürdüremeyen bitkilerdir (Yıldıztugay, 2011). Bu bitkiler topraktaki tuz oranının % 0.01 oranından yüksek olduğu topraklarda, ya sınırlı bir gelişim gösterir ya da ölürler. Glikofit bitkiler, bünyelerine tuz alımını sınırlandırırlar ve prolin, glisinbetain, çözünür şekerler gibi uyumlu çözünenlerin senteziyle ozmotik basınçlarını ayarlarlar (Greenway ve Munns, 1980). Halofitler sitoplazmadaki toksik iyonları, enerjili taşıma ile vakuollerinde bölmelendirerek tuzlu şartlarda gelişip yaşamlarını devam ettirebilirler. Bazı halofitler Na^+ ve Cl^- iyonlarını, salgı bezleri ve keseler yardımıyla dışarı bırakırlar (Hasegawa ve ark., 2000; Yeo, 1998). Hem halofitlerin hem de glikofitlerin ozmotik düzenlemeleri, sitoplazmada ve organellerin lümen, matriks ve stromalarında organik çözünenlerin birikimi ile gerçekleştirilir. Halofitik bitkiler tuzları vakuollerinde depolayarak sitoplazmadaki tuz konsantrasyonlarını kontrol ederler ve hücrelerinde yüksek K^+/Na^+ oranını devam ettirirler (Glenn ve ark., 1999). Hem halofitik hem de glikofitik türlerin tuz stresine

tolerans seviyeleri, duyarlı, ılımlı toleranslı ve çok toleranslı şeklinde sınıflandırılabilir (Waisel, 1972; Flowers ve ark., 1977; Greenway ve Munns, 1980). Glikofitler 100-200 mM NaCl içeren topraklarda yetiştirildiklerinde büyümeleri şiddetle engellenip ölürken, halofitler 300 mM NaCl'den daha yüksek konsantrasyondaki tuzlulukta bile yaşayabilirler (Zhu, 2007; Yıldıztugay, 2011). *Suaeda maritima* (L.) Dumort., 200 mM tuzlulukta optimum gelişme göstermekte ve 1000 mM tuzluluğa kadar kök bölgesi tuzu tolere edebilmektedir (Clipson ve ark., 1985). *Salicornia europaea* L. türüne ait bitkiler, 1020 mM NaCl'de bile yaşamlarını devam ettirebilirken, *Atriplex vesicaria* Heward ex Benth. 700 mM NaCl'de bile yüksek verimlilik gösterebilir (Zhu, 2007). Buna karşılık kültür bitkilerinin büyük bir çoğunluğu tuzu tolere edememektedir. Kültür bitkileri arasında soğan, limon, marul ve fasulye tuza çok duyarlı, pamuk ve mısır orta derecede toleranslı, şeker pancarı ve palmiyeler çok toleranslıdır (Greenway ve Munns, 1980). Fasulye verimi, 50 mM tuzlulukta tamamıyla engellenmektedir (Maas ve Grieve, 1987).

2.1.2. Bitkilerin tuz stresine karşı gösterdikleri adaptasyon mekanizmaları

Bitkiler doğada maruz kaldıkları stres faktörlerine karşı çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar sayesinde bitkiler stres faktörlerine karşı direnç gösterebilmekte ve yaşamlarını devam ettirebilmektedirler. Stres tipi ve stres faktörünün bitki üzerindeki yoğunluğuna göre, bitkilerin direnç seviyeleri farklılıklar gösterebilmektedir. Buna bağlı olarak bitkiler ya yaşamlarını sürdürüp verimli bir şekilde ürün verebilmekte, ya kısmi zararlara uğramakta ya da büyük ölçüde zarar görüp ölmektedirler.

Bazı bitkiler genetik yapılarına bağlı olarak tuz stresine karşı dirençlidirler. Bitkilerin geliştirdikleri bu direncin boyutu maruz kalınan tuzun konsantrasyonu, uygulama süresi, iklim koşulları, gelişimin hangi evresinde tuz stresine maruz kaldığı gibi birçok farklı faktöre bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Tuzun neden olduğu strese karşı dayanıklılık, tuzdan sakınma ve tuza tolerans mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir (Levitt, 1980). Levitt'in bu görüşünü Tal (1983) ve Lauchli (1986) de benimsemiş, tuzdan sakınım mekanizmasında bitkilerin tuzu bünyesinden uzak tutabilmek için, kök hücrelerindeki tuz geçirgenliğinin düşük olduğunu belirtmişlerdir. Tuza dayanıklı bitkiler bu dayanıklılıklarını kök hücrelerinin maksimum düzeyde

geçirimsiz olmasına ya da bünyelerine giren Na^+ iyonunu hücrenin dışına atabilme yeteneklerine borçludurlar. Na pompaları yardımıyla Na^+ iyonlarının sitoplazmadan dışarıya atılması, bitkideki Na miktarının tolere edilebilir sınırlar içerisinde kalmasını sağlamaktadır (Yang ve ark., 1990). Kök hücredeki geçirimsizlik "pasif uzak tutma" olarak adlandırılmaktadır. Bir başka yöntem ise hızlı büyüme ile birim hacimde akümüle olan tuz miktarını azaltmak, diğer bir deyişle tuzu bünyede seyreltmektir. Hücrede biriken tuz iyonlarının vakuoller içerisine hapsedilerek plazmadan uzaklaştırılması da bitkiyi tuzun zararlı etkisinden koruyan bir başka mekanizmadır (Tattini ve ark., 1994).

Bitkiler, Na^+ ve Cl^- iyonlarını köklerden, gövde ve yapraklara taşınımını kısıtlayarak tuza tolerans gösterirler. Arpa tuza toleransı oldukça yüksek olarak bilinen bir bitki türü olup, bu türde tuzun köklerden yeşil aksama gidiş aşamasında engellemeler bulunmakta, köklerdeki bariyerler sayesinde pasif alım ile bünyeye giren Na^+ ve Cl^- iyonları yeşil aksama iletilmemektedir (Poljakoff –Mayber ve Gale, 1975). Bir başka tuz toleransı yönteminde ise Na^+ ve Cl^- iyonlarının yaşlı yapraklarda tutularak genç yaprakları ilerlemesinin olabildiğince engellenmesidir Bu bitkilerde genç yapraklarda, yaşlı yapraklara göre daha yüksek K^+ bulunmakta; yaşlı yapraklardaki potasyumun genç yapraklara taşınması sonucunda bu dengenin sağlandığı rapor edilmektedir (Wolf ve ark., 1991).

"Ozmotik uyum" olarak adlandırılan, strese maruz kalan bitkilerde çözünebilir madde biriktirme kapasitesi sayesinde bitkilerde su potansiyeli azalmakta, böylelikle bitkiye su girebilmesi sonucu tuz stresine karşı direnç artmaktadır (Turner ve Jones, 1980). Ozmotik uyum, tuz stresi ile karşılaşan bitkilerde, dışarıdan tuz iyonlarının bünyeye alınması veya bünye tarafından çözünebilir organik maddelerin sentezlenmesi ve bunların hücre içinde biriktirilmesi yoluyla sağlanabilmektedir (Marschner, 1995). Ozmotik uyum aynı zamanda, bazı inorganik iyonların (Na, K vb.) veya bazı organik maddelerin (sükroz, prolin, betain vb.) biriktirme yeteneğidir (Hellebust, 1976).

Tuz iyonlarının toksik etkilerine karşı düşük duyarlılık gösteren bitki genotiplerinde turgor basıncının dengelenmesi iyon birikimi yoluyla sağlanmaktadır. Meneguzzo ve ark. (2000), üzerinde çalıştıkları Ofanto ve Adamello isimli iki değişik buğday çeşidinde iyon birikimi yoluyla tuza dayanımın gerçekleştiğini, yüksek tuz konsantrasyonu nedeniyle bitkide ozmotik potansiyelin azaldığını, fakat Na^+, Cl^- ve K^+ iyonlarının bünyeye alınarak hücre içinde biriktirilmesi sonucunda yeniden turgorun

sağlanabildiğini ifade etmektedirler. Glikofitlerde tuz zararı fazla iyon birikmesine bağlıdır ve bu birikim bitkinin büyümesini engeller (Greenway ve Munns, 1980; Weimberg, 1986). Ancak halofitlerde ve yarı dayanıklı glikofitlerde inorganik iyon biriktirme mekanizması iyi çalışabilmektedir ve bu mekanizma sayesinde tuzlu koşullarda dış ortamdaki su potansiyeli düşük olduğu zaman turgor aynı düzeyde tutulabilmektedir (Flowers ve ark., 1977).

Strese maruz kalan bitkilerde, hücre içindeki sitoplazma ve organellerde prolin ve glisinbetain gibi bazı çözünebilir maddeler birikmektedir. Bu maddelerin birikimi embriyoların gelişimine katkı sağlamaktadır. Özellikle kurak ve tuzlu ortamlarda biriken prolin ozmoregülatör olarak görev yapmaktadır (WynJones ve Storey, 1978). Bunun yanı sıra, prolinin stres sonrası dönemde azot miktarı ve enerjinin korunmasında rol oynadığı da rapor edilmiştir (Barnett ve Naylor, 1966).

2.1.3. Bitkilerde tuz stresi üzerine yapılan bazı çalışmalar ve özetleri

Shannon ve Grieve (1999), tuz stresinin bitkilerin besin maddesi alımlarını azaltırken bitkilerde bazı organik bileşiklerin birikimine, membran stabilitesinin bozulmasına, fotosentezin engellenmesine, toksik radikallerin birikmesine yol açarak bitkinin ürün ve kalitesini olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir.

Bor ve ark. (2003), tuza toleranslı yabani Beta maritima TR 51196 ve kültür bitkisi olan *Beta vulgaris* L. cv. *ansa*'da tuz stresine toleranstaki antioksidan sistemler arasındaki benzerlik ve lipit peroksidasyonundaki değişiklikleri araştırmışlardır.

Özdemir ve ark. (2004), yapmış oldukları "Effects of 24-Epibrassinolide on Seed Germination, Seedling Growth, Lipid Peroxidation, Proline Content and Antioxidative System of Rice (*Oryza sativa* L.) Under Salinity Stress" isimli çalışmalarında tuza duyarlı pirinç (*Oryza sativa* L.) ırkı IR28 fidelerinde 24-epibrassinolit'i araştırmışlardır. Bu bitkinin fide gelişimi, antioksidatif sistem, lipit peroksidasyonu, prolin ve çözünür protein içerikleri üzerine etkilerini gözlemlemişlerdir. Tuz stresi şartlarında pirinç fidelerinin gelişimleri 24-epibrassinolit uygulamasıyla artmıştır.

Wang ve ark. (2004), normal ve 7 günlük K^+ eksikliği olan şartlara maruz bırakılan Suaeda salsa L. bitkisini farklı NaCl konsantrasyonlarına (100 ve 400 mmol/l) ve polietilen glikol (izoosmatik seviyeden 100 mmol/l NaCl'ye kadar) içeren ortamlarda bırakmışlardır. Bu çalışmada klorofil içerikleri, klorofil floresan karakteristikleri, malondialdehit (MDA) içerikleri ve süperoksit dismutaz (SOD) izoform aktiviteleri üzerine tuzluluk ve ozmotik stresin etkilerini araştırmışlardır.

Koca ve ark. (2006), yapmış oldukları çalışmada tuza duyarlı kültür domatesi (*Lycopersicon esculentum*) ve yabani tuza toleranslı domates (*Lycopersicon pennellii*)'te lipit peroksidasyonlar arasındaki benzerlik, antioksidan savunma sistemleri ve tuz stresini araştırmışlardır.

Ertürk ve ark. (2007), kiraz bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada in vitro koşullarda MS besiyerinde artan NaCl konsantrasyonlarına kiraz ırkı olan Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*) köklerinin vermiş olduğu tepkileri incelemişlerdir. Tuz uygulaması sonucunda sürgünlerin, gelişimlerini ve klorofil içeriklerini azalttıkları tespit edilmiştir. Ancak su içeriklerinde herhangi bir etkiye rastlanmadığı görülmüştür.(Koca ve ark., 2007)

"The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars" isimli çalışmalarında iki farklı susam (*Sesamum indicum*) ırkı olan Orhangazi ve Cumhuriyet ırkları üzerinde artan NaCl konsantrasyonlarının etkilerini araştırmışlardır. Fideler 40 gün boyunca yarım konsantrasyonda hazırlanan Hoagland solüsyonu ile büyütülmüş ve ardından farklı tuz konsantrasyonları (0, 50, 100 mM NaCl) uygulanmıştır. Bu iki ırk arasındaki farklı büyüme parametreleri, lipit peroksidasyonu, antioksidatif enzim aktiviteleri ve prolin birikimi incelenmiştir.

Sekmen ve ark. (2007), yapmış oldukları "Differential Responses of Antioxidative Enzymes and Lipid Peroxidation to Salt Stress in Salt-Tolerant *Plantago maritima* and Salt-Sensitive *Plantago media*" isimli çalışmalarında tuza toleranslı *Plantago maritima* ve tuza duyarlı *Plantago media*'da tuz stresine toleransta antioksidan sistemdeki benzerlikler, lipid peroksidasyonu ve bitki gelişimindeki değişiklikleri araştırmışlardır (Yazıcı ve ark., 2007).

Yıldıztugay (2011), yaptığı araştırmada endemik halofit *Centaurea tuzgoluensis*'in tuz stresine verdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkileri araştırmıştır.

Gövde büyümesi, lipid peroksidasyonu, prolin içeriğini belirlenmiştir. 60 günlük *C. tuzgoluensis* fidelerine 0, 150 ve 300 mM NaCl, 7 ve 14 gün olarak uygulanmıştır. 150 ve 300 mM tuz stresindeki yaprakların 7. gün MDA içeriği kontrol grubuna yakın olmuştur. Bu durum SOD, CAT, APX ve GR enzimlerinin aktivitelerindeki artış ve onların izoenzimleri ile özellikle de Fe-SOD ile ilişkilidir. *C. tuzgoluensis*'in 7. ve 14. gün hasatlarındaki kontrol gruplarının prolin seviyeleri değişmezken, *C. lycaonica*'nın kontrol gruplarında artış meydana gelmiştir. *C. tuzgoluensis*'e 7 gün süreyle 150 ve 300 mM tuz uygulanan gruplarda prolin seviyeleri kontrole göre sırasıyla 3.14 ve 8 kat, *C. lycaonica*'da ise 4.70 ve 7.48 kat artmıştır. 14 gün süreyle 150 ve 300 mM tuz uygulanan *C. tuzgoluensis*'in prolin seviyeleri kontrole göre sırasıyla 4.76 ve 10.03 kat, *C. lycaonica*'da ise 4.49 ve 11.60 kat artmıştır. Çalışmalarında her iki *Centaurea* türünde de uygulanan tuz konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak prolin seviyelerinde artış meydana gelmiştir.

Çeltikte yapılan bir çalışmada, farklı tuz dozları (0, 30, 50 mM NaCl) altında yetiştirilen bitkilerde yapraklar genç ve yaşlı yaprak olarak ayrılmış ve bu organlarda protein, klorofil içeriği ile hücre zararlanması (membrane injury index) ve malondialdehit üretimi incelenmiştir. Sonuçta stres sonucu kontrol bitkilerine oranla yaprak sayısında bir farklılık meydana gelmemekle birlikte, stres koşullarında yetiştirilen bitkilerin daha küçük yaprak alanına sahip oldukları belirlenmiştir. Klorofil miktarı çalışmada kullanılan tüm çeşitlerde azalmış, ancak genç ve yaşlı yapraklar arasında bir fark bulunamamıştır. Tuz stresine hassas olan çeşitlerde hücre zararlanması ve malondialdehit üretimi yaşlı yapraklarda daha yüksek oranda gerçekleşmiştir (Lutts ve ark., 1996).

Poustini ve ark. (2007), Otuz ekmeklik buğday çeşidinde yapmış oldukları çalışmada, yaprak dokularındaki tuz stresinin prolin birikiminde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Çakırlar ve Topçuoğlu (1987), Tuz gölü halofitlerinden *Frankenia hirsuta* L. (86.63 nmol prolin g^{-1} taze ağırlık), *Artemisia herba-alba* Asso (40.19 nmol prolin g^{-1} taze ağırlık) ve *Zygophyllum fabago* L. (37.29 nmol prolin g^{-1} taze ağırlık)'da yüksek miktarlarda prolin tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, NaCl (50 ve 150 mM) ve Na_2SO_4 (33.50 ve 100 mM) tuzları ilave edilerek hazırlanmış izoozmotik kültür çözeltilerinde yetiştirdikleri ayçiçeği bitkisinin yaprak dokularındaki prolin birikiminin artan NaCl ve Na_2SO_4 konsantrasyonları ile artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Cassia angustifolia (sinameki), fidelerine 0, 20, 50, 100 mM NaCl uygulaması 7 gün süreyle uygulanmış ve tuz stresinin büyüme parametreleri, lipid peroksidasyon, hidrojen ve prolin içeriği üzerine etkileri araştırılmıştır. Tuz tüm bu parametreleri etkilemiş ve bitki biyokütlesinde büyük bir azalmaya neden olmuştur. Enzim aktivitesinde artış gözlenirken prolin içeriği azalmıştır (Agarwal ve Pandley, 2004).

Azevedo Neto ve ark. (2006), tuza tolerant BR5033 ve tuza hassas BR5011 mısır çeşitlerinin tuz stresinin sebep olduğu lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Bitkiler tuz stresi karşısında dokularda oluşan zararın bir göstergesi olan MDA miktarları bakımından da incelenmiştir. BR5033 çeşidinde yapraklarda MDA içerikleri bakımından herhangi bir değişim olmazken, köklerde % 11 oranında bir artış meydana gelmiştir. Hassas olan BR5011 çeşidinde ise yapraklarda MDA miktarında oluşan artış, kontrol bitkilerine oranla % 24 düzeyinde gerçekleşmiştir.

Tuz stresinin bitkilerin pigment içeriğini azalttığını Ashrafuzzaman ve ark. (2000) bildirmişlerdir. Tuzlu şartlarda potasyum uygulamasının ise bitki yapraklarında klorofil pigmentini arttırdığı, bu artışın ise pigment sentezinin artmasından veya potasyumun klorofil içeriğindeki azalmayı yavaşlatmasından kaynaklanabileceğini (Yeo ve Flowers, 1983) bildirmektedirler.

Tuz stresine hassas (Jinchum No.2) ve toleranslı (Zaoduojia) iki hıyar çeşidinin kullanıldığı bir araştırmada, NaCl nedeniyle meydana gelen tuz stresi sonucunda her iki çeşitte de büyümede azalma meydana gelmiş, bu azalma Jinchum No.2 çeşidinde daha belirgin gerçekleşmiştir. Stres sonucunda her iki çeşitte de MDA, SOD ve POX aktivitelerinde artış meydana gelmesine rağmen, MDA miktarındaki artış Jinchum No.2 çeşidinde daha yüksek gerçekleşmiştir. Artan NaCl konsantrasyonu ile birlikte Zaoduojia çeşidinde serbest prolin miktarı ve POX enzim aktivitesindeki artış Jinchum No.2 çeşidine göre daha yüksek olmuştur. Çalışma sonucunda, toleranslı olan Zaoduojia çeşidinin, stres koşullarında artan prolin ve POX aktivitesi ile kendisini oksidatif zarardan ve lipid peroksidasyonundan koruduğu bildirilmiştir (Zhu ve ark., 2008).

Kanola bitkisinde 200 mM NaCl uygulamasının gerçekleştirildiği bir çalışmada, yaprak ve köklerde lipid peroksidasyonu, prolin birikimi, klorofil içeriği, incelenmiştir. Tuz stresi süresince reaktif oksijen türevlerinin oluşturduğu zarara bağlı olarak MDA miktarı kök ve yapraklarda artış gösterirken klorofil içeriği de tuz stresi sonucundan

etkilenmiş ve kontrol bitkilerine oranla kayıplar meydana gelmiştir. (Dolatabadian ve ark., 2008).

İki kültür mısır bitkisi (*Z. mays* L. cv. *saccharata* ve *Z. mays* L. cv. *ceratina*) fidelerine 0, 100, 200, 300 ve 400 mM NaCl uygulanmıştır. Klorofil yıkımı tuz uygulanmış fidelerde ozmotik potansiyel ile pozitif ilişki göstermiştir. Klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil konsantrasyonu yapraklarda önemli derecede azalmıştır. Özellikle 400 mM NaCl uygulanmış şeker mısır yapraklarında prolin birikimi çok yüksek tespit edilmiştir (Cha-Um ve Kirdmanee, 2009).

2.1.4. *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük ile yapılan diğer çalışmalar

Cenkci ve ark. (2007), "Endangered Status and Propagation of an Endemic Plant species, *Thermopsis turcica* (Fabaceae)" isimli makalelerinde türün tehlike durumunu ve çoğaltım tekniklerini araştırmışlardır. Araziden toplanan tohumların çimlendirilmesi üzerine 30, 60, 90 ve 120 dakika üç farklı asit (H_2SO_4, HCl ve HNO_3) ön uygulamasının çimlenme üzerine etkileri incelenmiştir. En iyi çimlenmenin 120 dakika sülfürik asit ön uygulaması olduğu bildirilmiştir.

Cenkci ve ark. (2008a), tehlike altındaki *T. turcica*'nın rizom çelikleri ve epikotil eksplantları kullanılarak klonal çoğaltması yöntemlerini bildirmişlerdir. Rizom çelikler dikilmeden önce vejetatif çoğaltma için α-naftalenasetik asit (NAA) veya indol-3-butrik asit (IBA) ile ön muameleye tutulmuştur. NAA (10 mg/l) ile ön muamele edilmiş rizom çelikler 100 gün sonunda hem köklenmiş hem de filizlenmiştir (% 66.60). Epikotil eksplantlarında, NAA uygulaması kallus ve adventif kök oluşumunu ve 6-benziladenin (BA) uygulaması mikro-fide üretimini teşvik etmiştir. BA ile birlikte düşük NAA değerleri (0.50-1 µM) fidelenmeye uyarımı ve fide gelişimini arttırmıştır. En yüksek rejenerasyon oranı (% 86.60), eksplant başına ortalama fide sayısı (3.05) ve ortalama fide uzunluğu (2.30 cm) 10 µM BA ve 0.50 µM NAA ile başarılmıştır. In vitro rejenere fidelerin yaklaşık % 83'ü 0.30 µM NAA ile desteklenmiş ½ Murashige ve Skoog (MS) besininde köklenmiştir. In vitro bitkicikler morfolojik olarak normal ve kök uçlarındaki sabit kromozom sayısı 2n = 18 olarak tespit edilmiştir. Çalışma, hem geleneksel hem de in vitro tekniklerin tehlike altındaki bu bitki türünün seri üretilmesinde ve çoğaltılmasında kullanışlı olabileceğini göstermiştir.

Cenkci ve ark. (2008b), "In vitro propagation of an endangered plant species, *Thermopsis turcica* (Fabaceae)" isimli çalışmalarında türün kök, kallus ve kotiledon eksplantlarını kullanarak mikro çoğaltımını araştırmışlardır. Kallus kültürleri 0.50–20 μM NAA veya 2,4-D içeren MS besin ortamlarına kök ve kotiledon eksplantlarının aktarılmasıyla başlanmıştır. Kök eksplantlarının kotiledon eksplantlarından daha iyi kallus oluşturucu özelliğe sahip oldukları bildirilmiştir. En iyi sürgün rejenerasyonunun hormonsuz MS ortamına aktarılan kök eksplantlarında gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Korcan ve arkadaşları, *Thermopsis turcica*'nın yaprak, gövde rizomları ve kallusların n-heksan, etilasetat, metanol ve dietileterli ekstraktlarının 8 bakteri ve 1 mantar suşu üzerine antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon ve biyootografi denemeleri ile araştırmışlardır. En fazla ham ekstrakt metanol ektraksiyonu ile sağlanmıştır. Disk difüzyon sonuçlarına göre 100 µg/ml, n-hekzan'lı kallus, metanol ve dietileter ekstraktları tüm test edilen mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmiştir (Korcan ve ark., 2009).

Özdemir ve arkadaşları *Thermopsis turcica*'nın çeşitli dokularından kesitler alarak anatomik ve morfolojik özelliklerini araştırmışlardır. Bitki çok yıllık olup dik bir gövdeye ve 3 yaprakçıktan oluşan bileşik bir yaprağa sahiptir (Özdemir ve ark., 2008).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük

1982 yılında Türk botanikçiler tarafından keşfedilen *Thermopsis turcica* Dünya üzerinde sadece Akşehir ve Eber göllerinin güney kıyılarında parçalı populasyonlar şeklinde yayılış göstermektedir. Yerel isimleri ise Eber Sarısı veya Piyam'dır. Türkiye endemiği olan bu tür günümüzde yok olma tehlikesiyle karşı karşıdır (CR (Criticaly endangered: Çok tehlikede), IUCN tehlike kategori) (Ekim ve ark., 2000).

Bitkinin yaşadığı habitat, diğer birçok bitkinin büyüyüp neslini devam ettirmesine imkan vermeyen gölün çekilmesiyle ortaya çıkan killi ve tuzlu topraklar şeklindedir.

Akşehir ve Eber göllerinin kuruması ve geri çekilmesi sonucu kıyı bölgelerinde de taban suyu düşmüş ve Eber Sarısının habitatı zarar görmüştür. Ayrıca bölgede yapılan bahçe tarımı yüzünden Eber Sarısı tarlalarda istenmeyen ot konumundadır ve çiftçiler tarafından da yok edilmek istenmektedir. Bununla birlikte Piyan tohumları alandaki böcekler (özellikle Coleoptera üyeleri) tarafından meyve kabukları delinerek yenildiği için meyvelerin içinde yeteri kadar tohuma rastlamak güçtür. Böcek istilasına uğramış populasyonlardan tohum elde etmek zordur. Bu da bitkinin tohum ile yayılmasını ve üremesini ileri derecede sınırlandırmaktadır. Bitki, neslini tehlikeye atan bu ana etmenlerin yanında bazı avantajlara da sahiptir. Hayvanlar tarafından otlanmaz ve tıbbi ya da başka bir kullanıma sahip olmadığı için doğadan toplanma tehlikesi yoktur. Ayrıca rizomları ile üreyebilmesi sayesinde arsız ot şeklinde çoğalabilmektedir.

Bitkinin yetiştiği yer birçok kültür bitkisi ve diğer doğal glikofitik bitkinin yaşaması için uygun değildir. Bu gibi topraklarda ancak özel fizyolojik ve ekolojik adaptasyon mekanizmaları geliştirmiş bitkiler yaşayabilir. Bitkinin yaşadığı toprak içerisindeki sodyum miktarının 656 mg/kg olması, diğer bitkiler üzerinde toksik etki göstermekte olup *Thermopsis turcica*'nın gelişimi üzerine zararlı bir etki göstermemektedir.

İnsanlığın besin kaynağının önemli bir kısmını oluşturan baklagiller familyasının bir üyesi olan Eber Sarısı (*Thermopsis turcica*) sahip olduğu meyve özellikleri nedeniyle önemli bir gen kaynağı niteliğindedir. Eber Sarısı (*Thermopsis turcica*) yörenin "Ekolojik Simgesi"dir.

Thermopsis turcica'nın yaşadığı habitatlar büyük ölçüde daralmış veya vasfını yitirmiştir. Eber Sarısı için özel önlemler alınmazsa yakın gelecekte yok olması kaçınılmaz olacaktır.

Thermopsis turcica Kit Tan, Vural & Küçüködük bitkisi; yoğun beyaz villos tüylere ve uzun bir rizoma sahip çok yıllık otsu bir bitkidir. Gövdeleri dik ve 35-80 cm uzunluktadır. Yaprak kınları skarios, yaprağa benzeyen stipulları aşmaktadır. Yaprakların dallanması alternat şeklinde olup, elsi trifoliat şekilli, beyaz seriseus tüylü, grimsi yeşil renktedir. Stipullar yaprak benzeri, ana gövdeden çok daha geniş, serbest, 15-50 x 6-15 mm boyutlarındadır. Yaprak sapları uzunluğu ± 2.50 cm'dir. Yaprakçıklar eliptik ovat şekilde, akut, 15-35 x 4-15 cm, her iki yüzü yoğun beyaz villos tüylerle kaplıdır. İnfloresens terminal, 12-35 cm uzunluğunda ve rasemozdur. Çiçekler büyük, zigomorf, brakteli ve hermafrodit özelliğe sahiptir. Brakteler yaprak benzeri, 7-15 x 3-11 mm, ovat, kenarları uzun sillerle kaplı, beyaz villos tüylüdür. Pediseller meyvada 13 mm uzunluğa kadar çıkabilmektedir. Kaliks 13 mm, birbirine eşit olmayan 5 dişli, yoğun beyaz villos tüylü, bilabiat; üstteki 2 diş 6x8 mm uzunlukta obtus loplu, kimi zaman yarık boyutu 1.40 mm'ye kadar olabilmekte; alttaki 3 diş ± eşit uzunlukta, 4.50-5.50 x 3 mm uzunlukta, üçgenimsi akuttur. Petaller imbrikat şekilde, altın sarısıdır. Standart tüysüz, 25 mm, 5 mm uzunlukta suborbikular ve klavlı, lamina 20-25 mm; kanatlar tüysüz, 8 mm klav dahil 25 x 9 mm; kayıkcık 22 x 8 mm (7 mm'lik klav dahil), sırt tarafı yapışıktır. Stamenler serbest, 10 adettir. Filamentler filiform 18-20 mm, genişlememiş, tüysüzdür. Anterler tek tip, dorsifiksit, 1.80 mm, sarı renktedir. Ovaryum 3 karpelli ve karpeller serbest, 1 odacıklı, beyaz villos türlerle kaplı, septasız ve sapsızdır. Adaksiyal yapının üzerinde 10 ovule sahiptir. Stilus 12-13 mm, uç kısmı geriye kıvrık, tüysüz, meyvede dökülücü olmamaktadır. Stigma terminal, küçük ve de baş şeklindedir. Legümen 2-3 tohumlu, eliptik veya oblong-ovoid şekilde, 22-25 x 8 mm, ± olgunlukta düzleşmekte, hafifçe falkat, yoğun seriseus villos tüylü, açılımsızdır. Tohumlar subreniform, exarillate, 4-5 x 3 mm, düz yüzeyli ve solgun mor renktedir. Endosperm yağlı, ince; embriyosu büyük; kotiledonlar etli ve 2-7 mm'dir. Radikula hafifçe içe kıvrık, 1.10 mm uzunluğa sahiptir. Çiçeklenme Mayıs ayında, meyvalanma ise Haziran-Ağustos ayları arasında gerçekleşmektedir (Şekil 3.1) (Davis ve ark., 1988).



Şekil 3.1. *Thermopsis turcica* Kit Tan Kit Tan, Vural & Küçüködük bitkisinin genel görünümü

3.2. Materyalin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi

Thermopsis turcica Kit Tan, Vural & Küçüködük tohumları, Akşehir Gölü civarındaki Çamözü Beldesinin doğusundaki gölün çekildiği kıyı bölgelerinden, Temmuz – Ağustos aylarında arazi çalışması yapılarak toplanıp içerisinde silikajel bulunan tohum zarfların içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra bu tohumlar laboratuvarda buzdolabı içerisinde +4 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir. Tohum toplama esnasında bitki örnekleri de toplanıp yaygın herbaryum tekniklerine uygun olarak preslenip kurutulmuştur. Toplanmış numunelerin teşhisinde *Flora of Turkey* (Davis, 1988) adlı kaynak kitaptan faydalanılmıştır. Arazi çalışması sırasında bitki örneklerinin ve habitatlarında fotoğrafları çekilmiştir ve tohum toplama sırasında toprak ve bitki örnekleri de alınıp element analizleri yapılmıştır.

3.3. Deneme Serilerinin Hazırlanması

Araştırma materyali bitkiler iklim odasında kontrollü koşullarda perlit ortamında yetiştirilmişlerdir. Gerekli ısı, nem, ışık ve ayrıca sterilizasyon kontrolleri yapılmıştır.

İklim odasında; araştırma bitkilerinin tohum çimlenmesi ve çimlenme sonrası genç fidecikleri, büyüme ve gelişme süresince % 50-60 nem, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık fotoperiyod, 24±1 ^{o}C sıcaklık ile 10000 Lüx ışık intensitesi olacak şekilde yetiştirilmişlerdir.

3.4. Tohum Ekimi

Thermopsis turcica'ya ait dolgun görünüşlü, sağlam ve az çok birbirine benzer büyüklükte olan tohumlar seçilmiştir. Bu türe ait tohumlar son derece sert ve suya geçirimsiz bir tohum kabuğuna sahiptir. Tohumların çimlendirilmesine geçilmeden önce 120 dakika konsantre H_2SO_4 içerinde tutularak tohum kabuğunun inceltilmesi sağlanmıştır. Ardından tohumların yüzey sterilizasyonu yapışmıştır.

Tohumlar % 0.5'lik sodyum hipoklorid ile 5'er dakika muamele edildikten sonra steril su ile 3 kez yıkanarak sterilize edilmişlerdir. Yüzey sterilizasyonu yapılan ***Thermopsis turcica*** Kit Tan, Vural & Küçüködük tohumları petrilerde (petri başına 20 tohum gelmek üzere) çimlendirilmiştir. Bu petriler 24 ^{o}C'de 7 gün inkübatörde tutulup, 7 günlük fideler saksılar içerisinde yer alan perlite transfer edilmiştir. Hazırlanan saksılar 12 saat ışık 12 saat karanlıkta ve 24^{o}C sıcaklığa sahip olan iklim kabinine aktarılmıştır. Saksılar tuz uygulamasına başlayıncaya kadar yarım kuvvet Hoagland solüsyonu ile sulanmış, üç farklı tuz uygulamasına (0, 100 ve 200 mM NaCl) 7. haftanın sonunda başlanılarak 7 ve 14 gün boyunca devam edilmiştir (Şekil 3.2) 7 ve 14 gün sonunda bitkilerin tamamen olgunlaşmış yapraklarından örnekler alınarak hızlı bir şekilde sıvı azotta dondurulmuş ve analiz gününe kadar -80 ^{o}C'de saklanmıştır.



Şekil 3.2. 50 günlük *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük fidelerinin genel görünümü

3.5. Analiz Yöntemleri

Tuzun bitki türlerindeki fizyolojik etkileşimini belirlemek ve amaçta belirtilen hedeflere ulaşabilmek için bitkilerde aşağıda belirtilen çalışmalar yapılmıştır;

3.5.1. Büyüme parametrelerinin ölçülmesi,

3.5.2. Bağıl su içeriklerinin belirlenmesi,

3.5.3. Fotosentetik verimlerinin (Klorofil floresansı) ölçümü,

3.5.4. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümleri

3.5.1. Büyüme parametrelerinin ölçülmesi

Kontrol, 100 ve 200 mM NaCl uygulanmış gruplardan; tuz uygulamasının 7. gününde ve 14. gününde bitki örnekleri alınarak kökleri ve gövdeleri birbirinden ayrılmıştır. Kök ve gövdenin uzunlukları ölçülmüş, yaş ve kuru ağırlıkları tartılmıştır. Örnekler 70 °C de 72 saat etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

3.5.2. Bağıl su içeriklerinin belirlenmesi

Kontrol ve tuz uygulanmış gruplardan; tuz uygulamasının 7. gününde ve 14. gününde her bir gruptaki bitkilerden en genç sürgünlerden sonra gelen lateral yaprakların uç kısımlarından seçilen 6 adet yaprak örneği alınarak (rastgele seçilen 6 ayrı bitki örneğinden) yaş ağırlıkları ölçülmüştür. 6 saat boyunca dI-H_2O içinde petri kaplarında bekletilerek turgor haline gelmeleri sağlanmıştır. 70 °C'de 72 saat etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıklar saptanmıştır. Her bir gruba ait yaprak örneklerinin bağıl su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır;

Bağıl Su İçeriği (%) = [(YA – KA) / (TA – KA)]x100

YA=Yaş Ağırlık, KA=Kuru Ağırlık, TA=Turgorlu Ağırlık

3.5.3. Fotosentetik verimlerinin (klorofil floresans) ölçülmesi

Kontrol, 100 ve 200 mM NaCl uygulanmış gruplardan; tuz uygulamasının 7. gününde ve 14. gününde her grup için klorofil floresansı ölçümleri yapılmıştır. Ölçümlerden önce yaprakların üst yüzeyleri 10 dk boyunca kapatılmıştır. Bitki verim analiz cihazı "Plant Efficiency Analyser" (PEA) (Hansatech Instruments Ltd.) flüometresi ile; Değişken olmayan bazal klorofil floresansı (Fo), Değişken floresans (Fv), Maksimum floresans indüksiyonu (Fm), Değişken floresans / Maksimum floresans indüksiyonu (Fv/Fm) oranları belirlenmiştir. Türün gösterdiği direncin araştırılmasında; özellikle fotosistem-II'nin (PS-II) Fotokimyasal verimi ve Maksimum kuantum verimi (Fv/Fm) dikkate alınarak yapılmıştır.

3.5.4. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü

Amaç kısmında yer verilen hedeflere ulaşabilmek için bitkilerde aşağıda belirtilen fizyolojik çalışmalar yapılmıştır.

3.5.4.1. Lipit peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi

3.5.4.2. Yapraklardaki prolin miktarının belirlenmesi

3.5.4.3. Klorofil içeriklerinin belirlenmesi

3.5.4.1. Lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi

Yapraklarda meydana gelen lipid peroksidasyon derecesinin belirlenmesi için, lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesi ölçülmüştür. MDA miktarı, Madhava-Rao ve Sresty (2000)'e göre belirlenmiştir. Bunun için 0.50 g yaprak örneği, trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Santrifüjden sonra tüplere aktarılan süpernatanta, tiobarbitürik asit (TBA) ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlenmiş ve tüm deney tüpleri 95 °C'de 30 dk ısıtılmıştır. Karışım 10.000g x 15 dk santrifüjlenip, oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri bulunmuştur. MDA konsantrasyonu, ekstinksiyon katsayısı (ϵ=155 mM^{-1} cm^{-1}) kullanılarak hesaplanmış ve nmol g^{-1} YA olarak ifade edilmiştir.

3.5.4.2. Yapraklardaki prolin miktarının ölçülmesi

Bitkilerin prolin miktarının belirlenmesi Bates ve ark. (1973)'nın metoduna göre yapılmıştır. Her gruptan 0.50 g yaprak örnekleri alınarak % 3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilip, filtre edilen homojenata asit ninhidrin ve glasiyel asetik asit eklenerek 100 °C'de 1 saat süre ile su banyosunda bekletilmiştir. Reaksiyonun durdurulması amacıyla karışım buz banyosuna aktarılmıştır. Soğutma işleminden sonra karışıma toluen ekstrakte edilerek, sıvı fazdan aspire edilen toluen fraksiyonunun 520 nm'deki absorbansı spektrofotometrede okunmuştur. Prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanıp ve µmol prolin g^{-1} YA olarak belirtilmiştir.

3.5.4.3. Klorofil içeriklerinin belirlenmesi

Her gruptan alınan 0.5 g yaprak örneği % 80'lik (v/v) aseton ile homojenize edildikten sonra homojenant filtre kağıdından süzdürülmüş daha sonra klorofil-a için 663 nm'de, klorofil-b için 645 nm'de ve karotenoid için 480 nm'de absorbans alınmıştır. Fotosentetik pigmentlerin miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

Klorofil-a = ΔA663 x 12.70 – ΔA645 x 2.69

Klorofil-b = ΔA645 x 22.90 – cA663 x 4.68

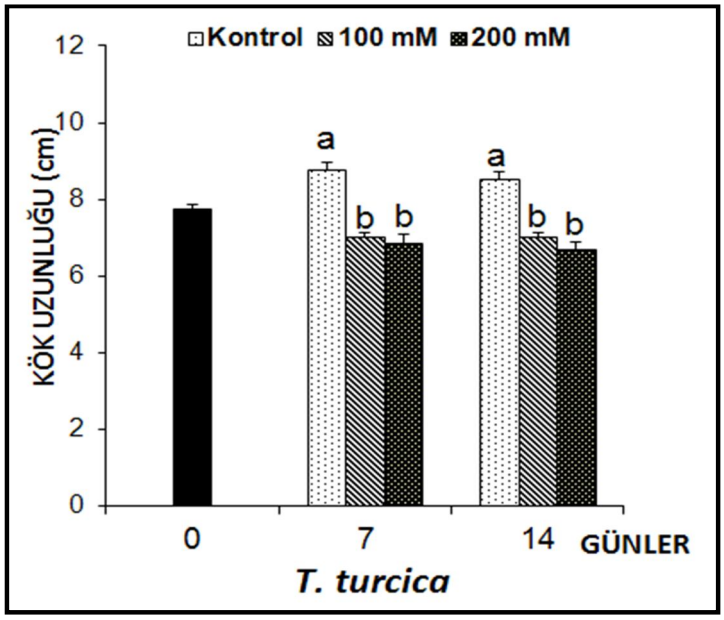
Karotenoid = ΔA480 +ΔA663 x 0.114 – ΔA645 x 0.638/112.50

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Büyüme Parametreleri

4.1.1. *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük kök ve gövde uzunlukları

Thermopsis turcica fidelerine tuz uygulamasının 0., 7. ve 14. günlerinde örnekler alınarak, kök ve gövde uzunlukları ölçülmüştür. Fidelerin tuz uygulamalarına bağlı olarak kök uzunluğunda ortaya çıkan değişimler Şekil 4.1'de verilmiştir.



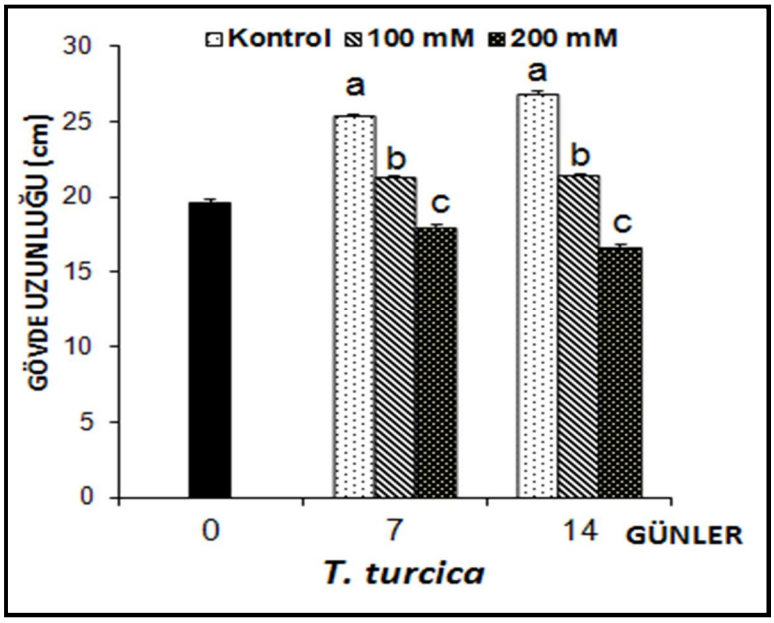
Şekil 4.1. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresi maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin kök uzunluklarında (cm) gözlenen ortalama değişimler (n=10). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir. (P> 0.05)

Thermopsis turcica'nın tuz stresi uygulamasının 7. gününde 100 mM NaCl, kök uzunluğunda % 20, 200 mM uygulaması ise % 21.60 azalmaya neden olmuştur. 14. gününde ise 100 mM NaCl kök uzunluğunda % 17.65, 200 mM NaCl ise % 21.53 azalmıştır.

Halofitik bitkilerdeki kök uzunluklarındaki azalma oranları glikofitlere oranla daha az olmaktadır. Yıldıztugay ve ark. (2011)'nın *C. tuzgoluensis'*de yapmış oldukları tuz stresi çalışmalarında da tuz uygulamalarına bağlı olarak kök uzunluklarında azalmaların olduğu belirtilmiştir. Bunun yanı sıra elde edilen bu sonuçlar benzer

çalışmalar ile büyük bir uyum göstermektedir (Sekmen ve ark., 2007; Seçkin ve ark., 2010; Koca ve ark., 2007).

Thermopsis turcica fidelerinin tuz stresi uygulamalarına bağlı olarak gövde uzunluklarında ortaya çıkan değişimler Şekil 4.2'de verilmiştir.

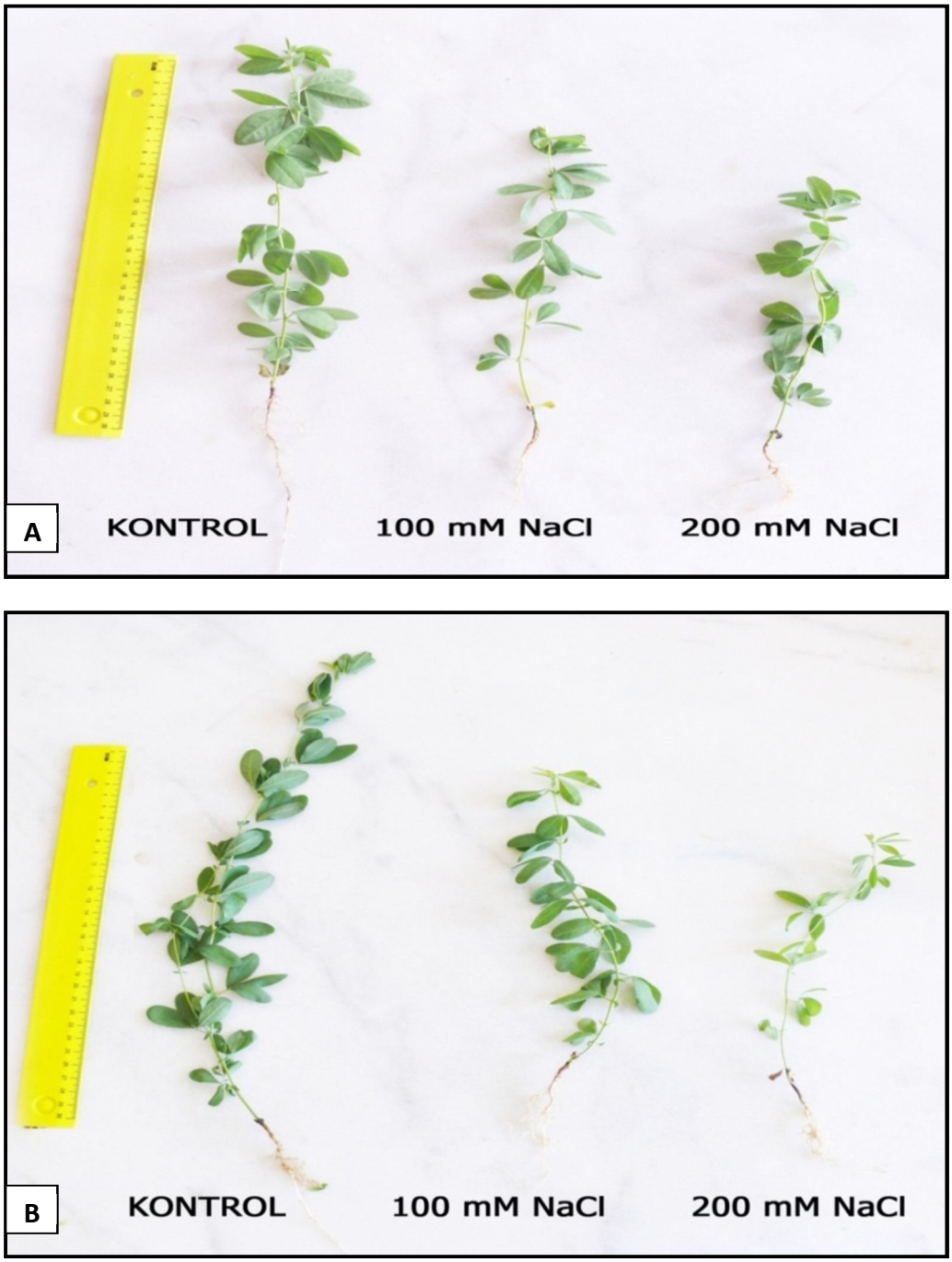


Şekil 4.2. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin gövde uzunluklarında (cm) ortaya çıkan ortalama değişimler (n=10). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

Thermopsis turcica fidelerinin gövde büyümesi, 7. günde kontrol grubuna göre 100 mM NaCl'de % 16.11, 200 mM'da % 28.94 oranında azaldığı gözlenmiştir. Tuz stresi uygulamasının 14. gününe gelindiğinde ise gövde büyümesindeki azalma, 100 mM NaCl'de % 20.39 oranındayken, 200 mM NaCl'de % 38.24 olarak bulunmuştur.

Topraktaki artan tuzluluğun bitki kökleri çevresindeki ozmotik etkileri, yaprak büyüme oranlarında azalışa neden olmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Bulgularımıza benzer olarak Sekmen ve ark. (2007), Yazıcı ve ark., (2007), Koca ve ark. (2007)'nın yapmış oldukları çalışmalarda da, tuz stresine maruz kalan türlerin sürgün gelişimlerinin azalmış olduğu ve tuza duyarlı türlerde toleranslı türlerden daha fazla azalmanın gözlendiğini bildirilmiştir.

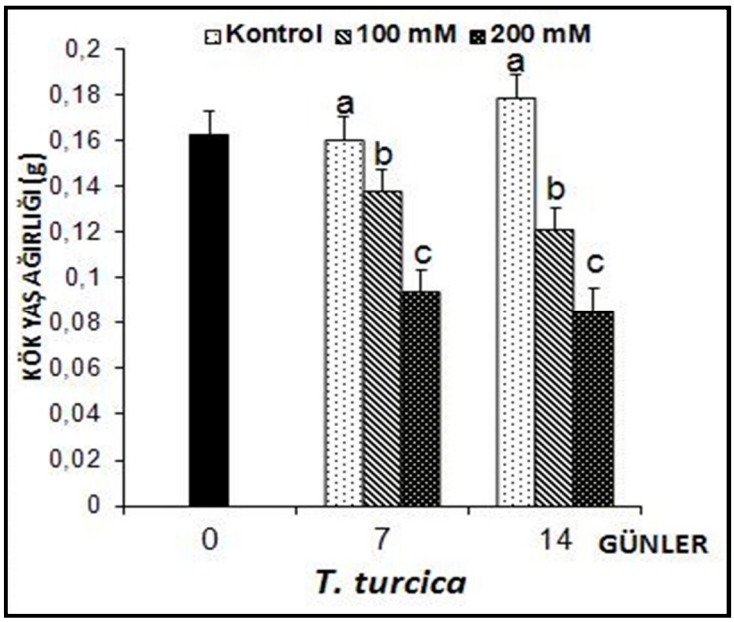
Tuz stresinin 7. ve 14. gününde, fidelerin gelişimlerinde ortaya çıkan indirgenme oranlarının görünümleri Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3. 7 (A) ve 14 gün (B) süresince tuz stresine bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin görünümü

4.1.2. *Thermopsis turcica* fidelerinin kök yaş ve kuru ağırlıkları

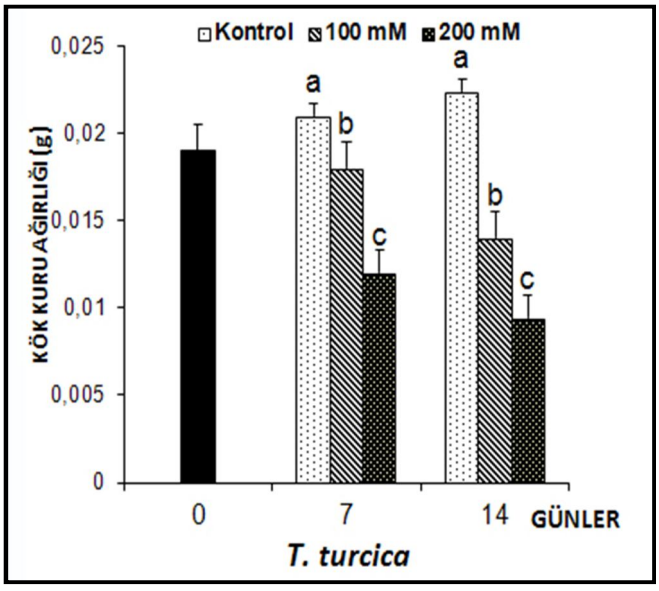
Thermopsis turcica fidelerinde tuz stresinin konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak bitki köklerinin yaş ağırlıklarında azalmaların meydana geldiği gözlenmiş ve bu değişimler Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılan bitkilerin kök yaş ağırlıklarında (g) gözlenen ortalama farklılıklar (n=10). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05).

Thermopsis turcica'nın kök yaş ağırlığı, 7. gününde 100 mM NaCl'de % 14.26, 200 mM NaCl'de % 41.66 azalmıştır. Tuz stresi uygulamasının 14. gününde kök yaş ağırlığındaki azalma, 100 mM NaCl'de % 32.36 iken, 200 mM NaCl'de % 52.26 olarak ölçülmüştür.

Thermopsis turcica fidelerinin kök kuru ağırlıklarındaki değişimler Şekil 4.5'de verilmiştir.



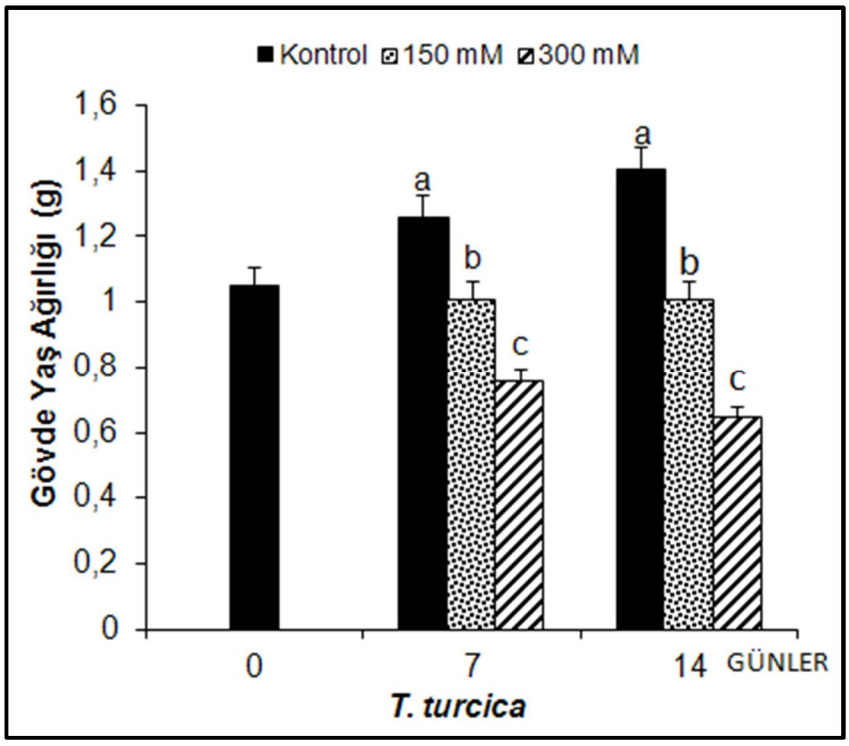
Şekil 4.5. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin kök kuru ağırlıklarında (g) gözlenen ortalama değişimler (n=10). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

Thermopsis turcica fidelerinin kök kuru ağırlıklarında 7. günde 100 mM NaCl'de % 14.29, 200 mM NaCl'de % 42.86 azalma meydana gelmiştir. Tuz stresi uygulamasının 14. günündeki azalma, 100 mM NaCl'de % 37.50, 200 mM NaCl'de % 58.04 olarak bulunmuştur.

Kök büyümesindeki azalma, tuzluluk stresine karşı bitkilerin göstermiş olduğu ortak tepkilerden birisidir (Munns, 2002). Hernandez ve ark. (1995), Dinar ve ark. (1999), Chartzoulakis ve Klapaki (2000); Naseer ve ark. (2001)'nın yapmış oldukları tuz stresi çalışmalarındaki kök yaş ve kuru ağırlıklarında azalma oranlarıyla ilgili veriler, bulgularımızı destekler niteliktedir.

4.1.3. *Thermopsis turcica* fidelerinin gövde yaş ve kuru ağırlıkları

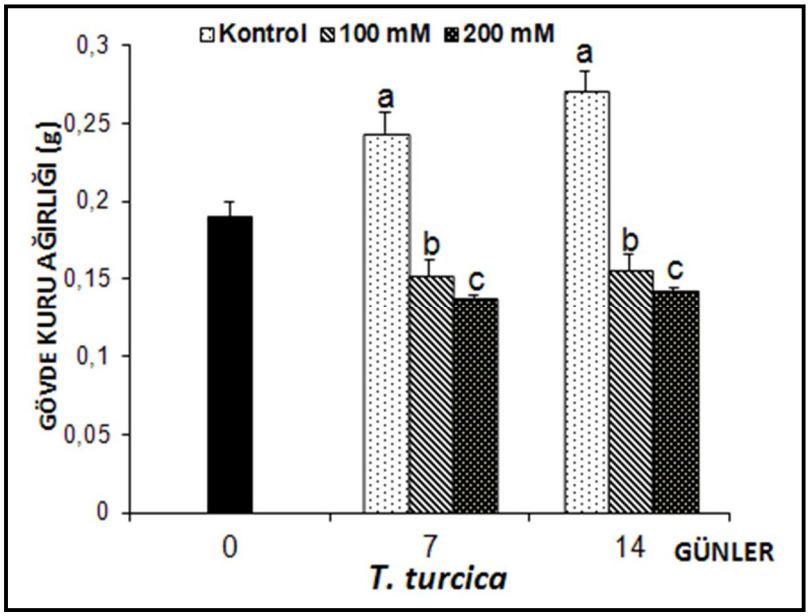
Thermopsis turcica'nın tuz uygulamalarına bağlı olarak gövde yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresi etkisi altındaki fidelerinin gövde yaş ağırlıklarında (g) gözlenen ortalama değişimler (n=10). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

Thermopsis turcica'nın tuz uygulamasının 7. gününde gövde yaş ağırlığının 100 mM NaCl'de % 20.95, 200 mM NaCl'de ise % 33.04 oranında azaldığı gözlenmiştir. Tuz stresi uygulamasının 14. gününde ise gövde yaş ağırlığında, 100 mM NaCl uygulanan fidelerde kontrole göre % 21.32, 200 mM NaCl'de ise % 38.97 oranında azalma olduğu görülmüştür.

Thermopsis turcica'nın tuz uygulamalarına bağlı olarak gövde kuru ağırlıklarında ortaya çıkan değişimler Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılan *T. turcica* fidelerinin gövde kuru ağırlıklarında (g) gözlenen ortalama değişimler (n=10). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

7 gün 100 mM NaCl stresine maruz kalan *Thermopsis turcica* fidelerinin gövde kuru ağırlıkları üzerinde meydana gelen azalma, kontrol grubuna göre % 37.6, 200 mM'da ise % 43.35 oranında olduğu gözlenmiştir. Tuz stresi uygulamasının 14. gününde *Thermopsis turcica* fidelerinin gövde kuru ağırlıkları kontrol grubuna göre 100 mM NaCl, % 42.24, 200 mM tuz stresi uygulamasında ise % 47.24 oranında azalmıştır.

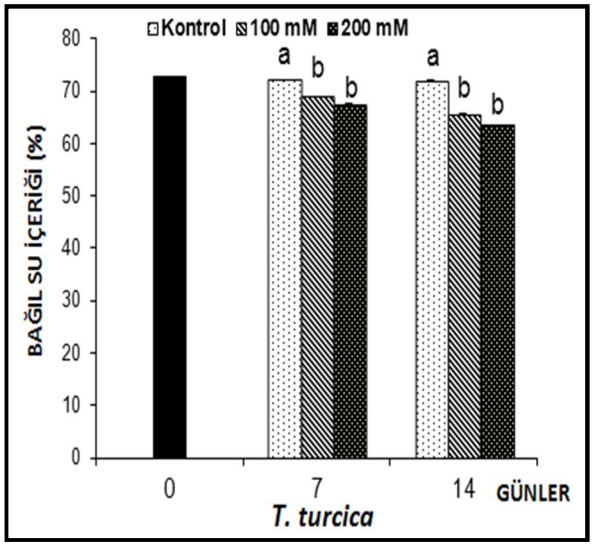
Gövde büyümesindeki azalma, tuzluluk stresine karşı bitkilerin göstermiş olduğu ortak bir tepkidir (Munns, 2002). Gövde yaş ve kuru ağırlıklarıyla ilgili bulgularımız, Seçkin ve ark. (2010)'nın *Hordeum* türlerinde yapmış oldukları tuz stresi uygulamalarından elde edilen gövde yaş ve kuru ağırlığı ile ilgili verilerle uyumluluk

göstermektedir. Tuz stresi, büyüme parametrelerinde (Kök-gövde uzunluk, yaş-kuru ağırlık) azalmaya sebep olmuştur. Hossain ve ark. (2004), tuz stresinin, hücrelerde mitotik inhibisyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu verilere göre; *Thermopsis turcica*'nın büyüme parametrelerindeki azalmalar, tuz stresi uygulama süresi ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak artan mitotik inhibisyon ile ilişkili olabilir.

Benzer bulgulara Agarwal ve Pandley (2004)'in *Cassia angustifolia* (sinameki) üzerine yaptığı çalışmalarında da ulaşmıştır. *Cassia angustifolia* fidelerine 0, 20, 50 ve 100 mM NaCl 7 gün süreyle uygulanmış ve tuz stresinin büyüme parametreleri, hücre içi Na^+ ve Cl^- iyon konsantrasyonları, antioksidan sistem, lipid peroksidasyon, hidrojen ve prolin içeriği üzerine etkileri araştırılmıştır. Tuz stresi yukarıdaki tüm parametreleri etkilemiş ve bitki biyokütlesinde büyük bir azalmaya neden olmuştur. Kök ve gövde boyu, yaş ve kuru ağırlık, çimlenme yüzdesi, NaCl uygulaması ile inhibe edilmiştir. Bu değişiklikler Na^+ ve Cl^- artışından kaynaklanmaktadır.

4.2. Yaprakların Bağıl Su İçerikleri (RWC)

Tuz uygulamalarına bağlı olarak *Thermopsis turcica* yapraklarının bağıl su içeriklerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin yaprak bağıl su içeriklerinde (RWC) gözlenen ortalama değişimler (%), (n=6). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

Fidelerinin bağıl su içerikleri, tuz stresinin uygulama süresine ve konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Kontrol grubu fideleri ile karşılaştırıldığında bu azalma oranları, 7. günde 100 mM'da % 4.41, 200 mM NaCl'de ise % 6.29 olduğu tespit edilmiştir. 14. günde ise azalma oranı 100 mM'da % 8.93, 200 mM'da % 11.82 olduğu gözlenmiştir.

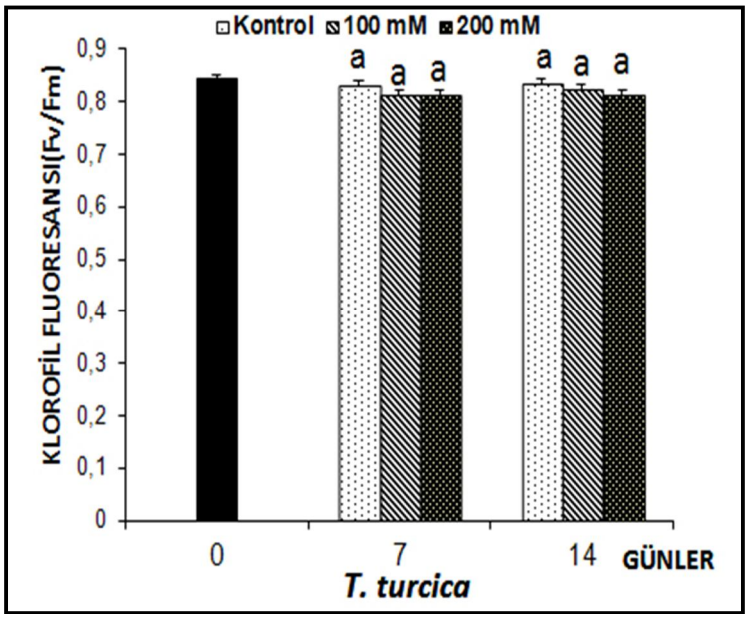
Buradan tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica* fidelerinin su içeriklerini koruyabilme yeteneğine sahip oldukları anlaşılmaktadır. Bu yetenek, yapraklardaki RWC ile yakından ilişki olduğu bilinen prolin birikimi (Claussen, 2005) ile bağlantılı olabilir. *Thermopsis turcica*'ya 100 ve 200 mM'lık tuz uygulamalarının 7. ve 14. gününde, RWC oranlarındaki azalmayla ters orantılı olarak prolin birikimleri artmaktadır. Bu sonuçlar ışığında, prolin birikiminin, *Thermopsis turcica* hücrelerinin ozmotik potansiyelinin devam ettirilmesine yardımcı olabileceğini görmüş oluruz.

Özetle, *Thermopsis turcica*'nın bağıl su içeriklerinin düzenlenmesi, stres şartları altında prolin birikiminden dolayı ozmotik düzenlemenin sonucu olabilir. Bulgularımızı tuza toleranslı domates (Claussen, 2005) ve arpa (Veselov ve ark., 2008) çeşitlerinde yapılan tuz stresi çalışmalarından elde edilen bağıl su içeriği ile ilgili veriler desteklemektedir. Katerji ve ark. (1997), şeker pancarında; Srivastava ve ark. (1998), buğdayda; Kaya ve Higgs (2003), biber bitkisinde olmak üzere tuz stresi altındaki bitkilerde % RWC değerlerinin azaldığını ve ilave besin elementi takviyesiyle % RWC değerlerinde düzelme olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmadan elde edilen veriler bulgularımızı doğrulamaktadır.

4.3. Yapraklardaki Klorofil Floresans Ölçümleri

Fotosentetik aygıtlar ve özellikle de PSII'nin, çeşitli çevresel streslere karşı duyarlı oldukları bilinmektedir. Bu aygıtlarda, herhangi bir yapısal zarar oluşmadan önce çevresel stresler, PSII'yi geçici olarak etkileyebilir (Force ve ark., 2003). Bu yüzden, çevresel faktörlere karşı bitkilerin tolerans derecelerinin ölçülmesinde bir indikatör olarak, PSII (Fv/Fm)'nin fotokimyasal etkinliğinin ölçülmesi kullanılabilir (Demiral ve Türkan, 2006; Sekmen ve ark., 2007).

Tuz stresinin *Thermopsis turcica*'nın fotosentetik verimi üzerine etkilerini, uygulamanın 0., 7. ve 14. gününde ölçülen Fv/Fm değerlerine göre belirleyip, sonuçlar şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine bırakılan *Thermopsis turcica*'nın fotosentetik veriminde gözlenen ortalama değişimler (n=6). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

Yaptığımız çalışmada, tuz stresinin PSII üzerindeki etkisini anlayabilmek için klorofil floresans değeri (Fv/Fm) ölçülmüştür. 7. ve 14. gündeki tuz stresi uygulamalarının *Thermopsis turcica*'nın klorofil floresans değerlerinin 0.800'ün üzerinde çıkması PSII aygıtının etkinliklerinin optimal düzeyde olduğunu göstermektedir. Bu elde edilen sonuçlar tuz stresi etkisindeki *Thermopsis turcica* fidelerinin PSII'nin fotosentetik etkinliğinin iyi olarak korunduğunu işaret etmektedir. Seçkin "Tuzluluk Stresinin Bazı Arpa (*Hordeum* sp.) Türleri Üzerinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkilerinin Araştırılması" (2010) adlı çalışmasında tuz stresinin fotosentez üzerinde etkisini aydınlatmak için klorofil floresans parametrelerinden biri olan PS-II etkinliğini (Fv/Fm) ölçmüştür. Bu çalışma sonucunda PS-II'nin fotosentetik etkinliğinin tuz stresi ile her iki türde değişmediği gözlenmiştir. Bu sonuçlar iki tür içinde yaprak fotokimyasının stres altında çok iyi korunduğunu göstermiştir. Benzer şekilde tuz stresi ile arpa(Chen ve ark., 2007), pamuk (Meloni ve ark., 2003) ve mısır

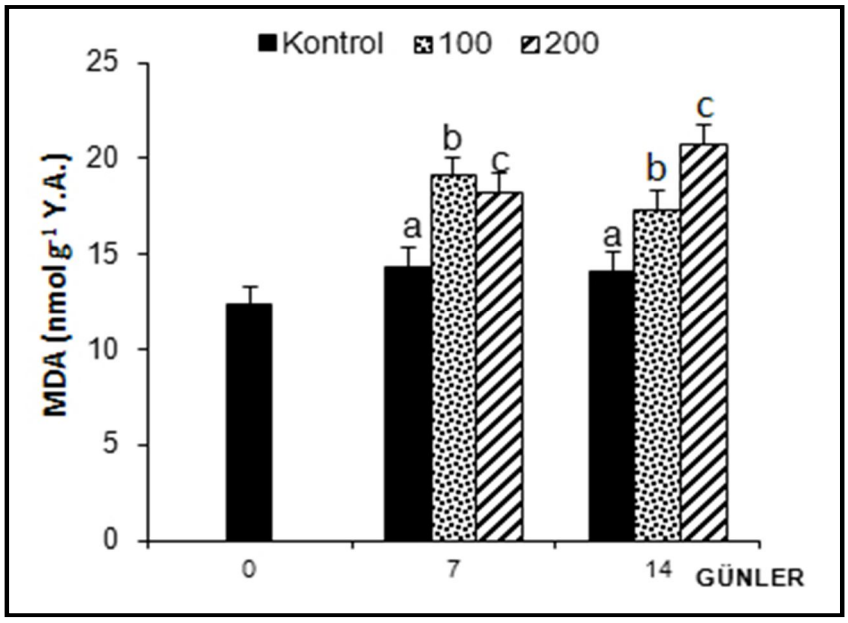
çeşitlerinde (Shabala ve ark., 1998) PS-II etkinliğinin tuz stresinden etkilenmediği rapor edilmiştir.

Aynı şekilde salatalık fidelerinde (Zhu ve Bie, 2007), semizotu genotiplerinde (Yazıcı, 2005) ve mısır çeşitlerinde (Shabala ve ark., 1998) tuz stresi uygulamalarının PSII'nin etkinliği üzerine olumsuz etkilerinin bulunmadığı belirtilmiştir.

4.4. Biyokimyasal Parametreler

4.4.1. Yapraklardaki lipid peroksidasyon seviyeleri

Lipid peroksidasyonu, hücre düzeyinde tuz stresinin neden olduğu hasarın bir göstergesidir (Hernandez ve Almansa, 2002). Malondialdehit (MDA) içeriklerinin belirlenmesi ve membran lipidlerinin peroksidasyon düzeyleri, tuzla indüklenen oksidatif stresin şiddetinin ve bitki duyarlılık derecelerinin değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir (Bor ve ark., 2003; Perez-Lopez ve ark., 2009). *Thermopsis turcica* türünün, malondialdehit (MDA) miktarında ortaya çıkan değişimler Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. *Thermopsis turcica*'nın malondialdehit miktarında (nmol g^{-1} YA) ortaya çıkan ortalama değişimler (n=6). Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir(P>0.05).

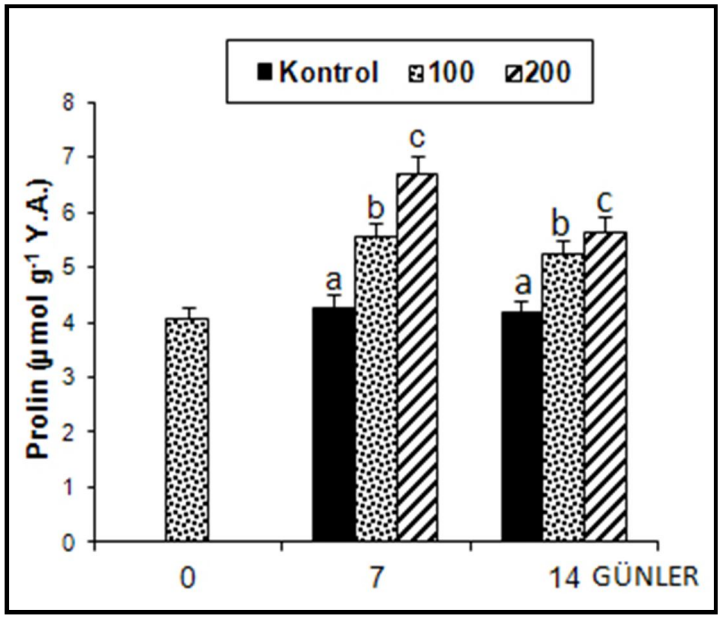
7 ve 14 gün süresince 100 ve 200 mM tuz stresi uygulamaları, *Thermopsis turcica*'nın lipid peroksidasyon düzeylerinde önemli oranda artış meydana getirmiştir. 7 gün boyunca tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica* fidelerindeki MDA düzeyleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 100 mM NaCl uygulanan gruplarda % 32.98 oranında, 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise % 26.99 oranında artış gözlenmiştir. 14 gün boyunca 100 mM NaCl uygulanan gruplarda % 22.33, 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise % 46.50 oranında artış gözlenmiştir.

Lipid peroksidasyonunun ürünü olan malondialdehit'in miktarının belirlenmesi, oksidatif zararın en basit göstergesi olarak kullanılmaktadır (Zhang ve Kirkham, 1996). Gossett ve ark. (1994), tuz stresine duyarlı bir pamuk çeşidinde 150 mM tuz uygulamasının ardından ölçülen lipid peroksidasyonunun, dayanıklı çeşitten %51 oranında daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Hernandez ve ark. (1995) bezelye bitkisinde; Shalata ve Tal (1998) domates genotiplerinde; Karanlık (2001) buğdayda, Aktaş (2002) biberde ve Yaşar (2003) patlıcanda tuza toleransı yüksek genotiplerin düşük MDA miktarı ve daha az lipid peroksidasyonuna sahip olduğunu, lipid peroksidasyonu fazla olan genotiplerin ise tuza daha fazla duyarlılık gösterdiklerini belirlemişlerdir. Bu araştırmada da bitkinin tuzdan etkilenme düzeyi ile yapraklarda ölçülen MDA miktarı arasında ilişki bulunduğu görülmüş, MDA miktarındaki artış ve azalışlara göre yapılan sıralama ile tuza tolerans özelliğinin bağlantılı olduğu anlaşılmıştır.

Aynı zamanda tuzluluk, yapraklarda erken yaşlanmaya neden olmaktadır (Sahu ve Mishra, 1987; Yeo ve ark., 1991). Yaprak yaşlanması genellikle protein veya klorofil konsantrasyonundaki azalma (Chen ve Kao, 1991) ve hücre zarı geçirgenliğindeki artışla (Dhindsa ve Mathowe, 1981) ifade edilmektedir. Tuz stresinin neden olduğu yapraklardaki erken yaşlanma ile lipid peroksidasyonu ürünü olan malondialdehit (MDA) arasındaki bir bağlantıdan bahsedilmektedir. MDA birikimi, iyon sızması (relative leakage ratio=RLR) ile paralellik göstermektedir. Lutts ve ark. (1996)'nın çeltik bitkisinde yaptıkları bir araştırmada tuza dayanıklı çeşitte MDA miktarı en düşük değerleri verdiği halde, tuza duyarlı çeşitte en yüksek MDA ölçümleri yapılmıştır. Benzer biçimde değişik patlıcan genotipleri ile tuz stresi konusunda çalışan Yaşar (2003), tuza toleransı yüksek patlıcan genotiplerinin yaprak dokularında MDA miktarının; duyarlı genotiplere nazaran daha düşük olduğunu belirlemiştir.

4.4.2. Yapraklardaki prolin seviyeleri

Stres altında bitkilerde biriken en yaygın ozmolitlerden birisi prolindir. Prolin sadece bir ozmotik düzenleyici değil bunun yanı sıra fotosentetik aygıtın koruyucusu ve bir antioksidan olarak görev yapmaktadır (Verbruggen ve Hermans, 2008). Prolin birikimi, birçok bitkide, biyotik ve abiyotik streslere karşı yaygın bir fizyolojik tepkidir (Verbruggen ve Hermans, 2008). Tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica*'nın prolin konsantrasyonlarında ortaya çıkan değişimler Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. 7 ve 14 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılan *Thermopsis turcica*'nın prolin miktarlarında (µmol g-1 YA) gözlenen ortalama değişimler. Sütunlar üzerindeki aynı harfler, aynı tür içinde istatistiksel bakımdan farklı olmayan değerleri göstermektedir (P> 0.05)

Thermopsis turcica'nın 7. ve 14. gün hasatlarındaki kontrol gruplarının prolin düzeyleri değişmemiştir. 7 gün süreyle *Thermopsis turcica*'nın 100 ve 200 mM tuz uygulanan gruplarda prolin düzeyleri kontrole göre sırasıyla % 29.81 ve % 57.04 oranında artış göstermiştir. 14 gün süreyle 100 ve 200 mM tuz uygulanan *Thermopsis turcica*'nın prolin düzeyleri kontrole göre sırasıyla % 24.94 ve % 35.25 oranında artış göstermiştir.

Thermopsis turcica fidelerinin uygulanan tuz konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak prolin düzeylerinde artış meydana gelmiştir. Prolin düzeylerindeki artışların

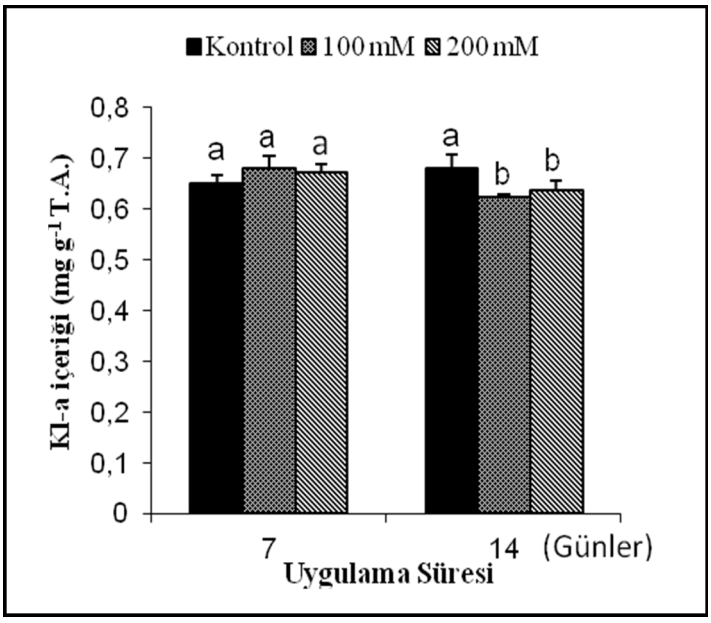
tuz stresinin ozmotik etkilerini azaltmada yardımcı olabileceği sonucuna varılabilir. Tuza toleranslı bitkilerin büyük bir çoğunluğunun prolin seviyeleri tuza duyarlı türlere kıyasla daha yüksektir. Yaptığımız çalışmalarda elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde Poustini ve ark. (2007), otuz ekmeklik buğday çeşidinde yapmış oldukları çalışmada, yaprak dokularındaki tuz stresinin prolin birikiminde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Prolin birikimi tuza toleranslı 19 buğday çeşidinde 5.20 kat artarken, tuza hassas çeşitlerde 13.80 kat artmıştır. Üstelik tuz stresine en duyarlı çeşit olan *Ghods*'ta prolin birikimi 27.40 kat artmıştır. Aynı şekilde tuza toleranslı çeltik genotipine göre hassas çeşitlerde prolin daha fazla miktarda biriktiği rapor edilmiştir (Lutts ve ark., 1999).

Benzer sonuçlara arpa, buğday, fasulye ve mung fasulyesinde 200 mM NaCl uygulamasının prolin içeriğini arttırdığı bildirilmiştir (Saffan, 2008).

Yakıt ve Tuna (2006) "Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkisinde (*Zea mays* L.) Stres Parametreleri Üzerine Ca, Mg, ve K'un Etkileri" adlı çalışmalarında prolin oranının NaCl uygulamasında arttığını, bunun nedeninin bitkinin tuz stresine olan tepkisi olduğunu belirtmişlerdir. *Arabidopsis* bitkisinde antisens prolin dehidrogenaz cDNA transferinin aşırı miktarda prolin birikimine neden olduğu ve 600 mM NaCl uygulamasına tolerans gösterdiğini bildirmiştir. Tuza toleransta farklılık gösteren iki arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidinde (toleranslı Afzal ve hassas EMB82–12) prolin birikiminin özellikle yüksek tuz uygulamalarında (300 ve 400 mM NaCl) önemli düzeyde arttığı ve bu artışın EMB82–12 çeşidine göre Afzal çeşidinde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Khosravinejad ve ark., 2009). Tuza ilave olarak besin çözeltisine eklenen Ca, Mg ve K'lı bileşikler, NaCl verilen grupla karşılaştırıldığında prolin miktarlarında azalmalara neden olarak stresi hafifletici etki yapmışlardır. Prolin miktarlarında saptanan azalma, membran geçirgenliğindeki azalma ve nispi su içeriğindeki artışlarla doğru orantılıdır. Bu da bitkinin strese karşı bir tolerans veya kendi kendini koruyucu bir etki geliştirdiğinin bir kanıtı olabilir. Ozmotik olarak oldukça aktif olan prolin, membran kararlılığına katkıda bulunmakta ve NaCl'ün hücre membranlarına olan olumsuz etkisini azaltmaktadır (Mansour, 1998). Bu da bitkinin strese karşı bir tolerans veya kendi kendini koruyucu bir etki geliştirdiğinin bir kanıtı olabilir.

4.4.3. Klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid içeriği ölçümleri

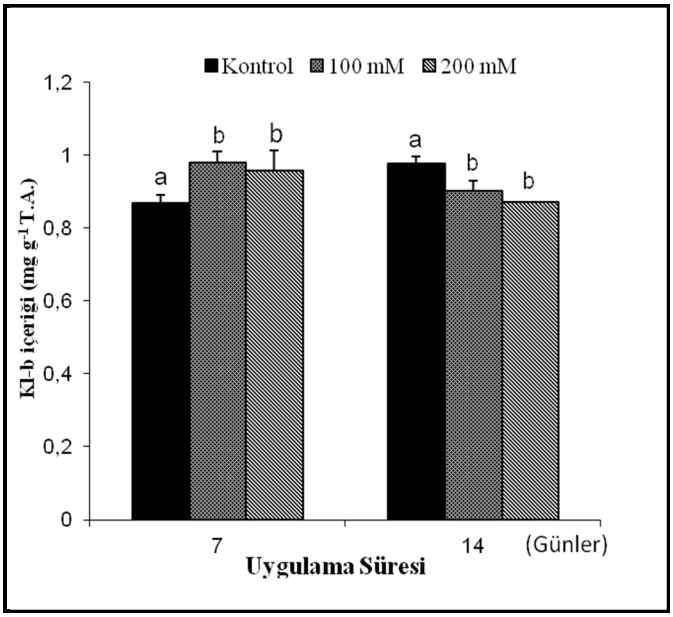
7 ve 14 gün süresince 100 ve 200 mM tuz stresi uygulamaları, *Thermopsis turcica*'nın klorofil-a düzeyinde farklılık meydana getirmiştir. 7 gün boyunca tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica*'nın klorofil-a içerikleri önemli oranda değişim göstermemiştir. Bu durum *Thermopsis turcica*'nın klorofil-a açısından kısa süreli uygulamalarda tuzdan etkilenmediğinin göstergesidir. 14 günlük tuz uygulamalarında ise klorofil-a içerikleri önemli oranda azaldığı görülmektedir. 14 gündeki azalma oranları 100 mM NaCl uygulanan gruplarda klorofil-a düzeyinde % 8.40 azalma, 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise % 6.19 oranında azalma gözlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. 7 ve 14 gün süresince 100 ve 200 mM NaCl'ye maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin klorofil-a içeriklerinde gözlenen değişimler

7 ve 14 gün boyunca 100 ve 200 mM NaCl uygulamaları, *Thermopsis turcica*'nın klorofil-b içeriklerinde de farklılıklar meydana getirmiştir. 7 gün boyunca tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica*'nın klorofil-b içeriklerinde klorofil-a içeriklerinin tersine önemli oranda artış meydana getirmiştir. 7 gün süresince 100 mM NaCl uygulanan gruplarda % 12.42 oranında, 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise % 9.89 oranında artış gözlenmiştir. 14 gün boyunca 100 mM NaCl uygulanan gruplarda

ise klorofil-b düzeyinde % 7.68 azalma, 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise % 10.96 oranında azalma gözlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. 7 ve 14 gün süresince 100 ve 200 mM NaCl'ye maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin klorofil-b içeriklerinde gözlenen değişimler

Öncel ve Keleş (2003) çalışmalarında tuz stresi altında büyütülen mısır fidelerinde toplam klorofil, klorofil-a ve klorofil-b içeriği önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Araştırıcılar tuzun olası zararlarını ışık toplama kompleksinin ve tilakoid membranların azalmasına ve fotosistemler arasındaki koordinasyonun bozulmasına bağlamışlardır.

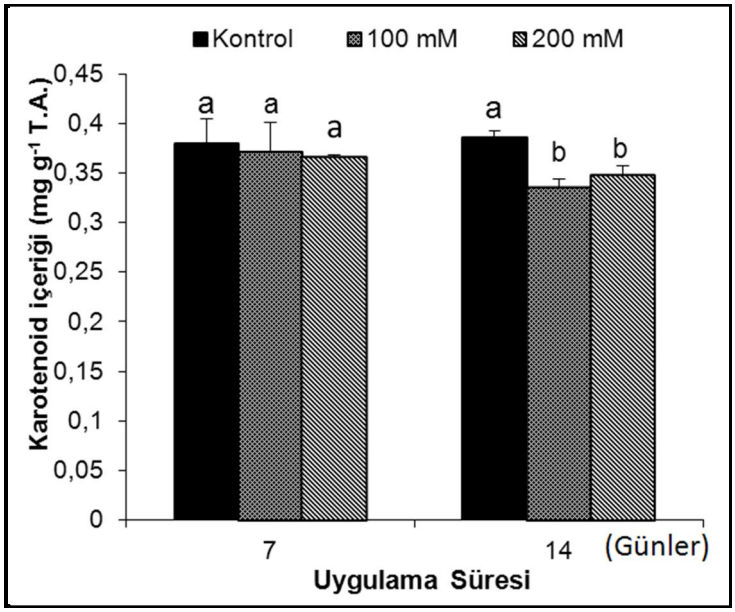
Tablo 4.1.'de görüldüğü üzere klorofil-a ve klorofil-b düzeylerinde 14. gün hasatın da azalma gözlenmiştir. Azalma sebebi olarak da tuz stresinin bitkilerde klorofil içeriğini olumsuz etkilemesi söylenebilir.

Tablo 4.1. 7 ve 14 gün süresince 100 ve 200 mM NaCl'ye maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin klorofil-a, klorofil-b, toplam klorofil ve toplam karotenoid içeriklerinde gözlenen değişimler

	Gruplar	Kl-a (mg g^{-1} YA)	Kl-b (mg g^{-1} YA)	Toplam Kl (mg g^{-1} YA)	Toplam Karotenoid (mg g^{-1} YA)
7. Gün Hasat	**Kontrol**	0.649±0.016a	0.869±0.020a	1.518±0.036a	0.38±0.025a
	100 mM	0.678±0.026a	0.977±0.033b	1.655±0.059b	0.372±0.029a
	200 mM	0.671±0.016a	0.955±0.058b	1.626±0.074b	0.366±0.002a
14. Gün Hasat	**Kontrol**	0.678±0.028a	0.976±0.019a	1.654±0.047a	0.386±0.006a
	100 mM	0.621±0.005b	0.901±0.028b	1.522±0.033b	0.336±0.008b
	200 mM	0.636±0.018b	0.869±0.001b	1.505±0.019b	0.348±0.009b

Toplam klorofil içeriğinde de farklılıklar meydana gelmiştir. 7. Gün hasatında elde edilen bulgulara bakıldığında 100 mM NaCl uygulanan gruplarda % 9.02 artış, 200 mM NaCl uygulanan gruplar da ise % 7.11 artış meydana gelmiştir. 14. Gün haşatından elde edilen bulgular da ise 100 mM NaCl uygulanan gruplarda % 7.99 azalış, 200mM NaCl uygulanan gruplar da ise % 9.01 azalış meydana gelmiştir.

Kısa süreli (7 gün) 100 ve 200 mM NaCl uygulamaları, *Thermopsis turcica*'nın karotenoid düzeyinde önemli değişim meydana getirmemiştir. 14 gün boyunca 100 mM NaCl uygulanan gruplarda ise kontrole göre % 11.85 azalma, 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise % 7.90 oranında azalma gözlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. 7 ve 14 gün süresince 100 ve 200 mM NaCl'ye maruz bırakılan *Thermopsis turcica* fidelerinin karotenoid içeriklerinde gözlenen değişimler

Yakıt ve Tuna (2006) çalışmalarında NaCl uygulamasıyla beraber toplam klorofil ve karotenoid içerikleri önemli ölçüde azaldığını, ancak besin çözeltisine eklenen Ca, K ve Mg bileşikleri NaCl'ün klorofil ve karotenoid miktarları üzerindeki olumsuz etkisini hafiflettiğini belirtmişlerdir. Tuz stresi altında klorofil miktarlarında genel metabolik süreçteki aksamaya bağlı olarak azalma birçok araştırıcı tarafından bildirilmiştir. Çiçek ve Çakırlar (2002), mısırda, Gadallah (1999) ise bakla bitkisinde tuz stresi altında yaprakların klorofil içeriğinde azalmalar görüldüğünü bildirmişlerdir. Biber bitkisi kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada da tuz stresi altındaki bitkiye dışarıdan uygulanan KNO_3 bileşiğinin, yaprak ve köklerde K ve klorofil içeriğini arttırdığı ve stres parametrelerini hafiflettiği bildirilmiştir (Kaya ve Higgs, 2003). Öte yandan 30 ve 60 mM NaCl stresi altındaki *Psidium guajava* L. bitkisinde ilave olarak verilen 0-5-10-15 mM $Ca(NO_3)_2$ bileşiğinin yaprak klorofil içeriğini önemli derecede arttırdığı bildirilmiştir (Ebert ve ark., 2002).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma da, "*Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük" bitkisinin büyüme parametreleri, lipit peroksidasyon, prolin ve klorofil içerikleri üzerine tuz stresinin etkileri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde incelenmiştir.

Araştırma sonuçlarına genel olarak bakıldığında; tuz uygulamasının bitki gelişimini olumsuz etkilediği gözlenmiştir. Örneğin, tuz stresine maruz bırakılan kök ve gövde uzunluklarında azalma meydana gelmiştir. Topraktaki artan tuzluluğun bitki kökleri çevresindeki ozmotik etkileri, yaprak büyüme oranlarında azalma meydana getirmiştir.

Kök yaş-kuru ağırlıklarında ve gövde yaş- kuru ağırlıklarında, tuz konsantrasyonuna maruz bırakılan bitkilerde azalma meydana gelmiştir. Kısaca tuz stresi, büyüme parametrelerinin tamamında (Kök-gövde uzunluk, yaş-kuru ağırlık) azalmaya sebep olmuştur. Yapılan deneyler sonucunda *Thermopsis turcica* fidelerinin bağıl su içeriği, tuz stresinin uygulama süresine ve konsantrasyonuna bağlı olarak azalmıştır. Yaptığımız çalışmada, tuz stresinin PSII üzerindeki etkisini anlayabilmek için klorofil fluoresans değeri (Fv/Fm) ölçülmüştür ve klorofil floresans değerleri 0.800'ün üzerinde bulunmuştur. Bu sonuç *Thermopsis turcica* fidelerinin PSII'nin fotosentetik etkinliğinin iyi bir şekilde korunduğunu göstermektedir. Tuz stresine maruz bırakılan *Thermopsis turcica*'nın lipid peroksidasyon düzeylerinde önemli derecede artış meydana gelmiştir. *Thermopsis turcica*'nın 7. ve 14. gün hasatlarındaki kontrol gruplarının prolin düzeyleri değişmemiş ancak 100 ve 200 mM tuz uygulanan gruplarda prolin düzeylerinde artış meydana gelmiştir. 7 gün boyunca tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica*'nın klorofil-a düzeyi ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, önemli bri değişim gözlenmemiştir. 14 gün boyunca 100 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise klorofil-a düzeyinde azalma meydana gelmiştir. 7 gün boyunca tuz stresi altındaki *Thermopsis turcica*'nın klorofil-b içeriği ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, klorofil-b düzeyinde, tıpkı klorofil-a içeriklerinin tersine belli bir artış gözlenmiştir. 14 gün boyunca 100 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise klorofil-b düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Toplam klorofil içeriği de tuz konsantrasyonun süresine bağlı olarak azalmıştır. En son olarak karotenoid içeriğinin de tuz stresine bağlı olarak azaldığı tarafımca gözlenmiştir.

5.2. Öneriler

Tuz stresi, bitkilerin büyüme ve gelişiminin yanısıra bitki üretkenliği ve verimliliğini önemli derecede etkilemektedir. Büyük oranda ürün kaybına neden olması dolayısıyla tuz stresi, her yıl büyük oranda ekonomik zarara da neden olmaktadır. Bu sebepten ötürü tuza dirençli türlerin tolerans mekanizmalarının anlaşılması ve tuzluluğa karşı göstermiş oldukları tepkilerin anlaşılması büyük önem taşımaktadır.

Thermopsis turcica türünün nesli artan kuraklık ve tuzluluktan dolayı giderek tehlike altına girmektedir. Elde ettiğimiz bulgular ile tuz stresine karşı göstermiş oldukları tepkilerin anlaşılması büyük önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

Agarwal, S., Pandey, V., 2004, Antioxidant enzymesresponses to NaCl stress in cassia angustifolia, *Biologia Plantarum*, 48 (4), 555-560.

Ahmadi, A., Emam, Y., Pessarakli, M., 2009, Response of various cultivars of wheat and maize to salinity stress, *Journal of Food Agriculture Environment*, 7(1), 123-128.

Aktas, H. 2002, Biberde tuza dayanıklılığın fizyolojik karakterizasyonu ve kalıtımı, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 105 **(Doktora Tezi)**.

Ashraf, M., 1994, Breeding for salinity tolerance in plants, *Crit. Rev. Plant Sci*., 13, 17–42.

Ashraf, M., 2009, Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers, *Biotechnology Advances*, 27, 84-93.

Ashraf, M.Y. and Bhatti, A.S., 2000, Effect of salinity on growth and chlorophyll content in rice, *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 43, 130–131.

Asraf, M. and Foolad, M.R., 2007, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.

Bonilla, I., El-Hamdaouı, A., Bolanos, L., 2004, Boron and calcium increase Pisum sativum seed germination and seedling development under salt stres, *Plant Soil*, 267 (1-2), 97-107.

Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, İ., 2003, The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L., *Plant Science*, 164, 77-84.

Cha-Um, S. ve Kirdmanee, C., 2009, Effects of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars, *Pak. J. Bot.*, 41(1), 87-98.

Claussen, W., 2005, Proline as a measure of stress in tomato plants, *Plant Sci.*, 168, 241-248.

Clipson, N.J.W., Tomos, A.D., Flowers, T.J. and Wyn Jones, R.G., 1985, Salt tolerance in the halophyte *Suaeda maritima* L., *Dun. Planta*, 165, 392-396.

Cuin, T.A., Miller, A.J., Laurie, S.A., Leigh, R.A., 2003, Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves, *J Exp Bot.*, 54, 657-661.

Çakırlar, H. ve Topçuoglu, S.F., 1987, Bazı tuz gölü halofitlerinde prolin içeriği ve tuz stresinde büyütülen ayçiçegi (*Helianthus annuus* L. cv. *Peredovik*) bitkisinde prolin birikimi, *Doga TU Botanik D.*, 32-37.

Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K., 1988, Flora of Turkey and the east aegean ıslands, *Edinburgh Univ. Press.*, 10, 166–169.

Demiral, T., Türkan, İ., 2006, Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress, *Environ. Exp. Bot.*, 56, 72-79.

Dolatabadian, A., Sanavy, S.A.M.M., Chashmi, N.A., 2008, The effects of application of ascorbic acid (vitamin c) on antioxidant enzymes activites, lipid peroxidant and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stres, *J. Agronomy and Crop Science*, 931.

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000, Red data book of Turkish plants (Pteridophyta and Spermatophyta), *Türkiye Tabiatını Koruma Derneği*, Ankara.

Ekmekçi, E., Apan, M., Kara, T., 2005, Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi, *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi.*

Ertürk, U., Sivritepe, N., Yerlikaya, C., Bor, M., Özdemir, F. and Türkan, İ., 2007, Responses of the cherry rootstock to salinity in vitro, *Biologia Plantarum*, 51 (3), 597-600.

Flowers, T.J., Hajibagheri, M.A. and Clipson, N.J.W., 1986, Halophytes, *Quart Rev Biol.,* 61, 313–335.

Flowers, T.J., Troke, P.F., Yeo, A.R., 1977, The mechanism of salt tolerance in halophytes, *Annu. Rev. Plant Physiol*., 28, 89–121.

Glenn, E.P., Brown, J.J., Blumwald, E., 1999, Salt tolerance and crop potential of halophytes, *Crit. Rev. Plant. Sci*., 18, 227–255.

Greenway, H. and Munns, R., 1980, Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, *Annu Rev Plant Physiol.*, 49, 256-259.

Gupta, N.K., Meena, S.K., Gupta, S. and Khandelwal, S.K., 2002, Gas exchange, membrane permeability, and ion uptake in two species of Indian jujube differing in salt tolerance, *Photosynthetica*, 40, 535–539.

Hasegawa, M., Bressan, A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J., 2000, Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio.*, 51, 463-499.

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A. and Handa, A.V., 1986, Cellular mechanisms of salinity tolerance. *Hort. Sci.*, 21, 1317-1324.

Hernandez, J.A. and Almansa, M.S., 2002, Short-term effect of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves, *Physiologia Plantarum*, 115, 251-257.

Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F. and Del-Rio, L.A., 1995, Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants, *Plant Sci.*, 105, 151 - 167.

Hu, J.P., 2007, Toward understanding plant peroxisome proliferation, *Plant Sig. Behav.*, 2, 308-310.

Hu, Y.X., Bao, F., Li, J., 2000, Promotive effects of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD3-induction pathway in *Arabidopsis*, *The Plant Journal*, 24, 693-701.

Khosravinejad, F., Heydari, R. ve Farboodnia, T., 2009, Effect of salinity on organic solutes contents in barley, *Pak. J. Biol. Sci.,* 12, 158–162.

Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., Türkan, İ. 2007, The Effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 344–351.

Koca, H., Özdemir, F., Türkan, İ., 2006, Effect of salt stress on lipid peroxidation and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*, *Biologia Plantarum*, 50 (4), 745-748.

Laemmli, U.K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680–685.

Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996, NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance, *Annals of Botany*, 78, 389-398.

Lutts, S., Majerus, V. and Kinet, J.M., 1999, NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings, *Physiol. Plant.*, 105, 450–458.

Mansour, M.M.F., 1998, Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress, *Plant Physiol. Biochem.,* 36, 767– 772.

Mansour, M.M.F., 2000, Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress, *Biol. Plant.*, 43, 491–500.

Marschner, H., 1986, Mineral nutrition in higher plants, *Academic Press*, 477–542.

Massoud, F.I., 1974, Salinity and alkalinity as soil degradation hazards, *FAO*, molecular responses to high salinity, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio.,*51, 463-499.

Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science*, 7, 405-410.

Munns, R. and Termatt, A., 1986, Whole plant responses to salinity, *Aust. J. Plant.*

Munns, R. and Tester, M., 2008, Mechanisms of salinity tolerance, *Annu. Rev. Plant. Bio.*, 59, 651-681.

Munns, R., 2002, Comparative physiology of salt and water stres, *Plant Cell Environ.*, 25, 239–250.

Oldeman, L.R., Hakkeling, R.T.A., Sombroek, W.G., 1991, World map of the status of human–induced soil degradation: an explanatory note, *ISRIC–UNEP Report*, Netherlands.

Özdemir, C., Dural, H., Ertuğrul, K., Küçüködük, M., Baran, P. and Şanda, M.A., 2008, Morphology and anatomy of endemic *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük, *Bangladesh J. Bot.*, 37(2), 105-114.

Poustini, K., Siosemardeh, A. and Ranjbar, M., 2007, Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance, *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 54, 925-934.

Saffan, S.E.S., 2008, Effect of salinity and osmotic stresses on some economic plants.

Sahu, A.C., Mishra, D., 1987, Changes in some enzyme activities during excised rice leaf senescence under NaCl-stress, *Biochemie und Physiol. der Pflanzen*, 182, 501-505.

Shabala, N.S., Shabala, S.I., Martynenko, A.I. Babourima, O. and Newman, I.A., 1998, Salinity effect on the bioelectric activity, growth, Na^+ accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves; a comparative survey and prospects for screening, *Australian J. Plant Physiol.*, 25, 609–616.

Shalata, A., 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 *Lycopersicon pennellii*, *Physiol. Plant.*, 104, 169-174.

Shannon, M.C., 1985, Adaptation of plants to salinity, *Adv. Argon*, 60, 75–119.

Shannon, M.C., Grıeve, C.M., 1999, Tolerance of vegetable crops to salinity, *Scientia Hort.*, 78, 5-38.

Sibole, J.V., Montero, E., Cabot, C. and Poschenrieder, C.B., 1998, Role of sodium in the ABA–mediated long–term growth response of bean to salt stress, *Physiol. Plant*, 104, 299-305.

Sönmez, B., 2003, Türkiye çoraklık kontrol rehberi, *Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, 33.

Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R., 1999, Effect of NaCl salinity on photosynthesis and try matter accumulation in developing rice grains, *Environ. Exp. Bot.*, 42, 211–220.

Szabolcs, I., 1994, Soils and salinization, In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*, 3-11, New York.

Verbruggen, N., Hermans, C., 2008, Proline accumulation in plants: a review, *Amino Acids*, 35, 753-759.

Wolf, O., Munns, R., Tonnet, M. and Jeschke, W. D., 1991, The role of the stem in the partitioning of Na^+ and K^+ in salt-treated barley, *J. of Exp. Bot.*, 42, 278-282.

Yakıt, S., Tuna, L., 2006, Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine Ca, Mg, ve K'nın etkileri, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.*

Yang, Y.W., Newton, R.J. and Miller, F.R., 1990, Salinity tolerance in *Sorghum.* whole plant response to sodium chloride in *S.bicolor* and *S. halepense. Crop Sci.*, 30, 775-781.

Yaşar, F., 2003, Tuz stresi altındaki patlıcan genotiplerinde bazı antioksidan enzim aktivitelerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmesi, *Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bil. Enst.*,Van, 123-138 **(Doktora Tezi).**

Yazıcı, I., 2005, Farklı semizotu (*Portulaca oleracea* L.) genotiplerinde tuz stresine bağlı olarak bazı fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerin araştırılması, , *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir **(Doktora Tezi).**

Yazıcı, I., Türkan, İ., Sekmen, A.H. and Demiral, T., 2007, Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation, *Environ Exp Bot*, 61(1), 49-57.

Yeo, A.R., 1998, Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology, *J. Exp. Bot.*, 49, 915-929.

Yeo, R.A. and Flowers, J.T., 1983, Vertical differences in toxicity of sodium ions in rice leaves, *Plant Physiol.,* 59, 189-195.

Yıldız, M., Terzi, H., Cenkci, S., Arıkan-Terzi, E.S., Uruşak, B., 2010, Bitkilerde tuzluluğa toleransın fizyolojik ve biyokimyasal markörleri, *Anadolu University Journal of Science and Technology –C, Life Sciences and Biotechnology*, 1, 1-33.

Yıldıztugay, E., Sekmen, A.H., Turkan, I., Kucukoduk, M., 2011, Elucidation of physiological and biochemical mechanisms of an endemic halophyte *Centaurea tuzgoluensis* under salt stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 816-824.

Zhang, H.X. and Blumward, E., 2001, Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in folage but not in fruit, *Nature Biotehnology*, 9, 765-768.

Zhang, J., Kirkham, M.B., 1996, Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate, *J. Plant Physiol.*, 149, 489-493.

Zhu, J., Bie, Z., Li, Y., 2008, Physiological and growth responses of two different salt-sensitive cucumber cultivars to NaCl stress, *Soil Science and Plant Nutrition*, 54, 400–407.

Zhu, J.K., 2002, Salt and drought stress signal transduction in plants, *Annu. Rev. Plant.*

Zhu, J.K., Bie, Z.L., 2007, Effects of NaCl stress on photosynthetic characteristics of three cucumber rootstock seedlings, *Acta Horticulturae Sinica*, 34(6), 1418-1424.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

AdıSoyadı	**:**	FatmaBetül KARA
Uyruğu	**:**	T.C.
DoğumYeriveTarihi	**:**	AYDIN 21.04.1987
Telefon	**:**	0 332 235 56 50
e-mail	**:**	fatbetkar@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**BitirmeYılı**
Lise	:	Selçuklu Atatürk Lisesi, Selçuklu, Konya	2004
Üniversite	:	SelçukÜniversitesi, Selçuklu, Konya	2010
YüksekLisans	:	SelçukÜniversitesi, Selçuklu, Konya	2013