



**BUĞDAY BİTKİSİNDE TUZ STRESİNİN YOL
AÇTIĞI HASARLARIN HAFİFLETİLMESİ
ÜZERİNE TAURİNİN ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Esin AYIK

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç Dr. Mucip GENİŞEL
AĞRI - 2021
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Esin AYIK

**BUĞDAY BİTKİSİNDE TUZ STRESİNİN YOL AÇTIĞI
HASARLARIN HAFİFLETİLMESİ ÜZERİNE TAURİNİN
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç Dr. Mucip GENİŞEL

AĞRI - 2021

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BUĞDAY BİTKİSİNDE TUZ STRESİNİN YOL AÇTIĞI HASARLARIN HAFİFLETİLMESİ ÜZERİNE TAURİNİN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mucip GENİŞEL

2021, 94 sayfa

Jüri: Prof. Dr. Rahmi DÜMLUPINAR

Doç. Dr. Mucip GENİŞEL

Dr. Öğr. Üyesi Yalçın KARAGÖZ

Bu araştırmada buğday (*Triticum aestivum* Yıldırım) bitkisine taurin uygulamasının tuzluluk stresine karşı bitki direnci üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla Hoagland besiyeri kullanılarak hidrofonik koşullarda 9 gün yetiştirilen buğday fidelerine tek başına ve kombine şekilde 100 mM NaCl, taurin (2 mM ve 4 mM) uygulamaları yapılmıştır. Bu uygulamalardan 96 saat sonra hasat edilen bitkilerin morfolojik, moleküler ve biyokimyasal parametrelerindeki değişimler incelenmiştir. Tuz stresli bitkilerin, kontrole göre kök uzunluğu artmışken gövde uzunluğu azalmıştır. Bu uzunluklar taurin uygulamasıyla belirgin artış göstermiştir. Tuz uygulamasıyla belirgin olarak azalan nispi su içeriği, taurin ile artış göstermiştir. Tuz stresinin total klorofil ve karotenoid içeriklerini azalttığı belirlenmiştir. Tuz uygulaması kontrole göre buğday bitkisinin peroksidaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon reduktaz aktivitelerini artırırken, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. Taurin uygulamaları tuz grubuna göre tüm antioksidan enzim aktivitelerini arttırmıştır. Elde edilen antioksidan enzim aktiviteleri izoenzim sonuçlarıyla desteklenmiştir. Taurin uygulaması, tuz uygulamasına kıyasla hidrojen peroksit içeriği ile malondialdehit seviyesini önemli derecede indirgemıştır. Tuz stresiyile birlikte kök ve gövdenin Na^+ içeriğinde önemli derecede artış, K^+/Na^+ oranında ise ciddi düşüş kaydedilmiştir. Taurin uygulamasıyla tuz grubuna göre gövde K^+/Na^+ oranında belirgin artış ölçülmüştür. Bu sonuçlar ışığında, taurin uygulamasının buğday bitkisinin tuz stresine karşı direncini artırmak için K^+/Na^+ dengesini sağlamanın yanı sıra antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif stresin hafifletilmesinde etkili olduğu söylenebilir.

2021, 94 sayfa

Anahtar sözcükler: taurin, buğday, tuz stres, antioksidan sistem, reaktif oksijen türleri

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINING THE EFFECTS OF TAURINE ON MITIGATION THE DAMAGES CAUSED BY SALT STRESS IN WHEAT PLANT

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Mucip GENİŞEL

2021, Page: 94

Jury: Prof. Dr. Rahmi DUMLUPINAR

Assoc. Prof. Dr. Mucip GENİŞEL

Dr. Edu. Memb. Yalçın KARAGÖZ

In this study, the effects of taurine application to wheat (*Triticum aestivum* Yıldırım) plant on plant resistance against salinity stress were investigated. For this purpose, 100 mM NaCl, taurine (2 mM and 4 mM) were applied alone and in combination to wheat seedlings grown in hydroponic conditions for 9 days using Hoagland medium. Changes in morphological, molecular and biochemical parameters of the plants harvested 96 hours after these applications were examined. The stem length was decreased while the root length of the salt-stressed plants increased compared to the control group; these lengths increased significantly with taurine application. The relative water content, which decreased significantly with salt application, increased with taurine. It has been determined that salt stress reduces the total chlorophyll and carotenoid contents. Salt application increased peroxidase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase activities of the wheat plant compared to the control conditions, while decreasing the superoxide dismutase and catalase activity. Taurine applications increased all antioxidant enzyme activities compared to the salt group. Antioxidant enzyme activity parameters were supported by isoenzyme results. Taurine application significantly reduced the hydrogen peroxide content and malondialdehyde level compared to salt application. With the salt stress, Na⁺ content of root and stem increased and K⁺/Na⁺ ratio decreased significantly. Significant increase in stem K⁺/Na⁺ ratio was measured with taurine application compared to salt group. Considering these results, it can be said that taurine application is effective in reducing oxidative stress by increasing the activity of the antioxidant system as well as providing K⁺/Na⁺ balance in order to increase the resistance of wheat plant against salt stress.

2021, 94 pages

Keywords: taurine, wheat, salt stress, antioxidant system, reactive oxygen species

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanan bu araştırma, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Bu araştırma ECZF.20.002 nolu Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca, benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, çalışmalarımın tamamlanabilmesi için her türlü şartı sağlayan ve bana her zaman her türlü desteği sunan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mucip GENİŞEL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmadaki element analizinin yapılmasında destek olan Dr. Hülya TÜRK'e, teşekkür ederim.

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Laboratuvar yönetim ve personeline teşekkür ederim.

Tohumların temin edildiği Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne teşekkür ederim.

Eğitimimin tüm süreçlerinde destekleriyle beni hiç yalnız bırakmayan aileme teşekkür ederim.

Esin AYIK

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tarımsal Toprak ve Tuzluluk	1
1.2. Tuzluluk Stresi	3
1.2.1. Tuz stresine karşı savunma	4
1.3. Taurin	6
1.3.1. Taurinin dokulardaki dağılımı ve miktarı	8
1.3.2. Taurinin Ca^{+2} üzerine metabolik etkileri	11
1.3.3. Taurinin ozmoregülatif etkisi.....	12
1.3.4. Taurinin antioksidan rolü.....	12
2. KURAMSAL TEMELLER.....	15
2.1. Reaktif Oksijen Türleri.....	15
2.1.1. Tekli (singlet) oksijen ($^1O_2$).....	16
2.1.2. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	16
2.1.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	17
2.1.4. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$).....	18
2.1.5. Lipid peroksidasyonu.....	19
2.2. Antioksidan Enzimler	20
2.2.1. Süperoksit dismutaz	21
2.2.2. Peroksidaz	22
2.2.3. Katalaz	22
2.2.4. Askorbat peroksidaz.....	23
2.2.5. Glutasyon redüktaz.....	24
2.3. Antioksidan Bileşikler	25
2.3.1. Glutasyon.....	25

2.3.2. Askorbat (L-Askorbik Asit, C Vitamini).....	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM	27
3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	27
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları.....	27
3.3. Yöntemler.....	31
3.3.1. Bitki büyütme.....	31
3.3.2. Çözünebilir protein miktarının ölçülmesi	32
3.3.3. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	33
3.3.4. Lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesi (MDA)	36
3.3.5. H ₂ O ₂ miktarının belirlenmesi.....	36
3.3.6. Total klorofil içeriğinin belirlenmesi	37
3.3.7. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi.....	38
3.3.8. PAGE ile izoenzimlerin belirlenmesi	39
3.3.9. Nispi su içeriği	40
3.3.10. İnorganik element analizi	40
3.3.11. İstatistiksel analiz	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	42
4.1. Bitki Büyümesi Üzerine Taurinin Etkisi	42
4.2. Nispi Su İçeriği Üzerine Taurinin Etkisi	44
4.3. Pigment İçeriği Üzerine Taurinin Etkisi	45
4.3.1. Total klorofil içeriği üzerine taurinin etkisi	45
4.3.2. Toplam karotenoid içeriği üzerine etkisi	46
4.4. Çözünebilir Protein İçeriği Üzerine Tuz ve Taurinin Etkisi	47
4.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve İzoenzimler Üzerine Etkileri	49
4.5.1. SOD aktivitesi ve izoenzimleri üzerine etkisi.....	49
4.5.2. POD aktivitesi üzerine etkisi	51
4.5.3. CAT aktivitesi üzerine etkisi	52
4.5.4. APX aktivitesi ve izoenzimleri üzerine etkisi.....	53
4.5.5. GR aktivitesi üzerine etkisi.....	55
4.6. H ₂ O ₂ içeriği üzerine etkisi	56
4.7. Na ⁺ ve K ⁺ İçeriği Üzerine Taurinin Etkisi.....	57
4.8. MDA İçeriği Üzerine Etkisi	60

5. TARTIŞMA	61
5.1. Taurin Uygulamasının Buğday Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri.....	61
5.2. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkisinin Nispi Su İçeriği Üzerine Etkisi ...	63
5.3. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkisinin Klorofil ve Karotenoid İçeriği Üzerine Etkileri	63
5.4. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkisinin Çözünabilir Protein İçeriği Üzerine Etkileri	65
5.5. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkilerinin Antioksidan Savunma Sistemi, Oksidatif Hasar Göstergeleri Üzerine Etkileri	66
5.6. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkilerinin İnorganik Element İçeriği Üzerine Etkileri	69
6. SONUÇLAR.....	72
KAYNAKLAR	75

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^1\text{O}_2$	Tekli (singlet) oksijen
APX	Askorbat peroksidaz
ASH	Askorbat
CAT	Katalaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Oksitlenmiş glutasyon
H_2O_2	Hidrojen peroksit
LPO	Lipid peroksidaz
MDA	Malondialdehit
MDHA	Monodehidroaskorbat
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Süperoksit iyonları
$\text{OH}^{\bullet}$	Hidroksil radikali
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
POD	Peroksidaz
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksid dismutaz

ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 1.1. Taurinin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.2. Sisteinden hipotaurin ve taurin sentezi	7
Şekil 2.1. Antioksidan enzimler.....	25
Şekil 3.1. Protein tayini için kullanılan standart grafik	33
Şekil 3.2. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik	34
Şekil 3.3. H ₂ O ₂ miktarını belirlemede kullanılan standart grafik	37
Şekil 4.1. 9 günlük (uygulamaların yapıldığı gün uygulama öncesi) buğday bitkilerinin genel görünümü.....	42
Şekil 4.2. 13 günlük (uygulamalardan 4 gün sonra) buğday bitkilerinin genel görünümü	42
Şekil 4.3. Tuz stresi altındaki buğday bitkisine taurin uygulamalarının kök-gövde uzunluğu üzerine etkisi	43
Şekil 4.4. Tuz stresi altındaki buğday bitkisine taurin uygulamalarının nispi su içeriği üzerine etkisi	44
Şekil 4.5. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde total klorofil içeriği üzerine etkisi	46
Şekil 4.6. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde toplam karotenoid içeriği üzerine etkisi	47
Şekil 4.7. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde çözülebilir protein içeriği üzerine etkisi	48
Şekil 4.8. Protein profilinin uygulamalara göre değişimi	49
Şekil 4.9. Taurin uygulamalarının SOD aktivitesi üzerine etkileri.....	50
Şekil 4.10. Buğday bitkisine taurin uygulamasının SOD izoenzimleri üzerine etkisi	51
Şekil 4.11. Taurin uygulamalarının POD aktivitesi üzerine etkileri.....	52
Şekil 4.12. Buğday bitkisine taurin uygulamasının POD izoenzimleri üzerine etkisi	52
Şekil 4.13. Taurin uygulamalarının CAT aktivitesi üzerine etkileri.....	53
Şekil 4.14. Taurin uygulamalarının APX aktivitesi üzerine etkileri.....	54
Şekil 4.15. Buğday bitkisine taurin uygulamasının APX izoenzimleri üzerine etkisi	55
Şekil 4.16. Taurin uygulamalarının GR aktivitesi üzerine etkileri	56
Şekil 4.17. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde H ₂ O ₂ içeriği üzerine etkisi...	57

Şekil 4.18. Tuz ve taurin uygulamalarının buğday bitkisinin kök ve gövdesinde K^+/Na^+ oranına etkisi	59
Şekil 4.19. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde MDA içeriği üzerine etkisi..	60
Çizelge 1. 1. Çeşitli organların taurin miktarları	9
Çizelge 1. 2. Bazı bitkilerdeki taurin miktarları	10
Çizelge 4.1. Buğday bitkisinde uygulamalara göre kök-gövde uzunluğundaki değişim	43
Çizelge 4.2. Buğday bitkisinde uygulamalara göre nispi su içeriğindeki değişim	44
Çizelge 4.3. Buğday bitkisinde uygulamalara göre toplam klorofil içeriğindeki değişim	45
Çizelge 4.4. Buğday bitkisinde uygulamalara göre toplam karotenoid içeriğindeki değişimi	47
Çizelge 4.5. Buğday bitkisinde uygulamalara göre çözünebilir protein içeriğindeki değişim	48
Çizelge 4.6. Buğday bitkisinde uygulamalara göre SOD aktivitesinin değişimi.....	50
Çizelge 4.7. Buğday bitkisinde uygulamalara göre POD aktivitesinin değişimi.....	51
Çizelge 4.8. Buğday bitkisinde uygulamalara göre CAT aktivitesinin değişimi.....	53
Çizelge 4.9. Buğday bitkisinde uygulamalara göre APX aktivitesinin değişimi.....	54
Çizelge 4.10. Buğday bitkisinde uygulamalara göre GR aktivitesinin değişimi	55
Çizelge 4.11. Buğday bitkisinde uygulamalara göre H_2O_2 içeriğindeki değişimi	57
Çizelge 4.12. Buğday bitkisinin kök-gövdesinde uygulamalara göre Na^+ ve K^+ içeriğindeki değişim	59
Çizelge 4.13. Buğday bitkisinde uygulamalara göre MDA içeriğindeki değişimi	60

1. GİRİŞ

1.1. Tarımsal Toprak ve Tuzluluk

Yaşamın temel kaynaklarından biri, bitkisel ve hayvansal üretimin vazgeçilmez bir parçası, tarımsal üretimin temel öğelerinden birisi olan toprağın yenilenmesi uzun zaman almaktadır. Bu nedenle topraklardan yüksek verim amaçlanırken toprakların korunması da tarımsal üretimin devamlılığı açısından zorunludur.

Sıcaklık, kuraklık, tuz gibi abiyotik stres faktörleri, günümüz dünyasında toprağın veriminin dolayısıyla gıda üretiminin belirgin oranda azalmasına neden olduğu için gıda arzını garanti altına almak için ilave stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır (Miflin 2000). Toprağın daha fazla sulanması ile bir miktar verim artışı sağlanmasına karşın uzun süreli sulamanın ardından sulama suyundaki elementlerden kaynaklı olarak toprağın tuzlanması kaçınılmaz olarak gerçekleşmektedir (Flowers and Yeo 1995; Postel 2000).

Ekilebilir alanların verimini azaltan abiyotik etmenlerin başında toprak tuzluluğu gelmektedir. Tuzluluk, tarımsal üretkenliği hem eski hem de modern uygarlıklarda ciddi şekilde etkilemiştir. Dünyadaki sulanan arazinin yaklaşık %20'sinin tuzluluktan etkilendiği ve gezegenimizin toplam arazisinin %25'ini oluşturan toprağın çorak ve çöl arazileri olarak sınıflandırılan hale dönüştüğü tahmin edilmektedir (Yeo 1998). Farklı yıllardaki farklı araştırmaların sonucu olarak yaklaşık 1.1 milyar hektar toprağın tuzluluktan etkilendiği tahmin edilmektedir (Squires and Glenn 2004; Wicke *et al.* 2011; FAO-ITPS-GSP 2015; Ivushkin *et al.* 2019). Sulama tarımı yapan belli başlı ülkelerdeki sulanan alanların yaklaşık üçte birinin tuzluluktan olumsuz etkilendiği ya da yakın gelecekte tuzluluk problemiyle karşılaşabileceği tahmin edilmektedir. Küresel ölçekte, 77 megahektardan fazla toprak sekonder olarak tuzdan etkilenmiştir ve yaklaşık 43 megahektar alanın irrigasyona bağlı olarak etkilendiği bildirilmiştir (Lal 2003).

Tuzluluk problemi olan tarım alanları genelde Akdeniz iklim kuşağında yoğunlaşmaktadır. Arazi varlığının önemli bir kısmı bu iklim kuşağında bulunan ülkemizde de tuzlu toprakların miktarı ciddi boyutlara ulaşmıştır (Serin vd

1998). Ülkemizdeki toprakların %1.7'sinde (1.518.746 ha), tarım yapılan arazilerin ise %3.8'inde (837.405 ha) tuzluluk problemlerine rastlanmaktadır (Karaoğlu ve Yalçın 2018). Iğdır ovası tarım arazilerinin ise üçte birinden fazlası tuz etkisinde kalarak verimliliğini kaybetmiştir (Özkutlu ve İnce 1999). Farklı ülkeler için sulanan alanlar içindeki tuzlu toprak yüzdesi şu şekilde tahmin edilmektedir; Hindistan %27, Pakistan %28, İsrail %13, Avustralya %20, Çin %15, Irak %50 ve Mısır %30 (Stockle 2001).

Tuzluluk, sebepleri bakımında birincil ve ikincil olarak kategorize edilmektedir. İlki, tuz bataklıkları, tuz gölleri, gelgit bataklıkları gibi coğrafyada doğal olarak ortaya çıkar. İkincisi, kentleşme ve tarım gibi insan faaliyetlerinden kaynaklanır. Toprağın birincil tuzluluk faktörleri; kayaların ayrışması, sığ ve acı yeraltı suyunun kapiler yükselmesi, kıyı boyunca deniz suyu girişi, deniz rüzgarları tarafından üflenene tuz yüklü kum, engellenmiş drenaj sayılırken ikincil tuzluluk faktörleri ise uygun drenaj sistemi olmadan sulama, endüstriyel atıklar, gübrelerin aşırı kullanımı, doğal bitki örtüsünün kaldırılması, tuz bakımından zengin sularla sel basması, yüksek su tablası ve sulama için düşük kaliteli yer altı suyu kullanımı sayılmaktadır (Rasool *et al.* 2013).

Tuzlu topraklarda en yaygın anyonlar; klor, sülfat ve karbonattır. Nadiren, bikarbonat ve nitrat anyonları da bulunabilir. En yaygın katyonlar; sodyum, kalsiyum, magnezyum ve potasyumdur (Terry 1997). Anyon ve katyonların bir araya gelmesiyle de tuz oluşur.

Çoğu mahsul, tuzluluk seviyesine, bir eşik seviyesine kadar, tahammül eder (Khan *et al.* 2006). Bir mahsulün eşiği, genellikle mahsul büyümesinin tuzluluktan etkilenmediği değer olarak tanımlanır. Yüksek tuzlu ortamlarda yaşamlarını devam ettirme yeteneklerine göre bitkiler iki büyük gruba ayrılırlar. Halofitler; varoluşu temelinde tuzlu toprağa alışkındır ve hayat evrelerini bu ortamda tamamlar. Fazla miktarda Na^+ ve Cl^- tuzlarını alıp yapraklarında biriktirirler ve tuzdan etkilenmezler. Tuza tolerans yeteneği zayıf olan ikinci grup bitkiler ise glikofit bitkilerdir ve tarımsal üretimi yapılan bitkilerin çoğu bu grupta yer alır. Glikofit bitkilerin tuz alımı ve tuz toleransları arasında ters bir ilişki vardır. Bu bitkiler tuzu dışlayıcı stratejiye

sahiptir (Güneş vd 2000). Ancak glikofitlerin bu yetenekleri oldukça kısıtlı olduğu için tuzlu ortamlara direnç gösteremezler (Greenway and Munns 1980).

Her ne kadar glikofit bitkilerin tuzu dışlayıcı yetenekleri kısıtlı olsa da, yine de bu bitkiler belirli konsantrasyonlara kadar olan tuz stresine karşı çoklu biyokimyasal ve moleküler mekanizmalara sahiptirler. Bu mekanizmalar; tuzdan sakınım ve iyonların dışarıya atılması, hücre içinde iyonların ayrı bir bölgede biriktirilmesi, prolin, glisin, betain gibi uyumlu çözünebilen maddelerin sentezi, fotosentez ve solunumdaki değişiklikler, bitki hormonlarının tetiklenmesi, antioksidatif savunma sisteminin aktifleşmesi olarak sıralanabilir (Parida and Das 2005).

1.2. Tuzluluk Stresi

Tuz stresi bitkide çok farklı olumsuzluklara sebep olabilmektedir. Bunlardan biri tuzun ozmotik dengeyi bozması ve metabolik aktivitelerde bozulmaya yol açmasıdır (Greenway and Munns 1980; Cheeseman 1988). Bitki büyümesi ve gelişmesinin, tuzluluk stresi nedeniyle engellenmesinin sebepleri arasında toprak çözeltisinin yüksek ozmotik basıncı, beslenme dengesizliği, spesifik iyon etkisi ve bu faktörlerin kombine şekilde etki göstermesi sayılabilir (Ashraf 1994).

Toprak çözeltisinin osmotik basıncının yüksek olması diğer bir ifade ile su stresi, bitki kökü tarafından su alımını azaltan topraktaki Na^+ ve Cl^- fazlalığından yani tuzluluktan kaynaklanır. Besin dengesizliği; Na^+ ve Cl^- iyonlarının fazlalığı nedeniyle bitki için gerekli esansiyel minerallerin ve besinlerin alınması, taşınması ve dağılımını engellenmesi şeklinde kendini gösterir. NaCl 'nin yüksek seviyelerde iken özellikle K^+ ve Ca^{+2} 'nin köklerden alınımını azalttığı ve sonuçta Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} 'nin iyon dengesizliklerine neden olduğu görülmüştür (Güneş vd 2002). Spesifik iyon etkisi ise, Na^+ ve Cl^- iyonlarının hücre zarı ve protoplazmada doğrudan toksik etki göstermesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bitkiler de, su kaybını önlemek için tuz ve bazı çözünebilir metabolizma ürünleri biriktirirler ve zararı daha da artırabilirler (Parida and Das 2005).

Bunların yanı sıra tuza bağlı ozmotik stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı oluşumu ile oksidatif strese de neden olur. ROT, tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit

iyonları ($O_2^{\bullet-}$) ve en yaygın şekilde görülen hidrojen peroksit gibi toksik moleküllerdir (Apel and Hirt 2004; Triantaphylides *et al.* 2008). ROT, DNA dahil neredeyse tüm hücresel makro moleküllere zarar verebilir (Jaleel *et al.* 2007a; Jaleel *et al.* 2007b, 2007c).

Bitkiler tuz stresine maruz kaldıklarında bu durumdan fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması gibi önemli süreçlerin hepsi etkilenir (Gorai *et al.* 2011). Bu metabolik süreçlerin olumsuz etkilenmesi bitkinin fizyolojik ve morfolojik yapısında istenmeyen sonuçlar doğurabilir; yaprakların, gövdelerin ve köklerin taze ve kuru ağırlıklarında önemli bir azalmayla bitkinin bodur bir büyüme göstermesine neden olur (Hernhdeza *et al.* 1995; Ali-Dinar *et al.* 1999; Chartzoulakis and Klapaki 2000).

1.2.1. Tuz stresine karşı savunma

Bitkiler ve çoğu bakteri gibi hücre duvarlarına sahip organizmalar, belli bir aralıktaki ozmotik değişimleri görmezden gelebilir, çünkü duvarın sertliği şişmeyi önler. Bitki hücrelerinin selüloz duvarları, bazı türlerde iç turgorun 50 atm basınca kadar çıkmasına izin verir (Huxtable 1992). Bitki her ne kadar içsel tuz artışı ile birlikte su alarak osmotik dengeyi sağlamaya çalışsa da bu yol ile tuz stresine karşı etkin bir savunma sağlanamaz.

Tuz stresine karşı ilk tepki, yaprak yüzeyindeki genişleme oranının azalmasıdır (Wang and Nii 2000). Ayrıca stres koşulları sırasında, bitkilerin iç su potansiyelini toprak potansiyelinin altında tutması ve büyüme için turgor ve su alımını sürdürmesi gerekir. Bunun için çeşitli stratejiler kullanır ki bu stratejiler arasında iyonların seçici birikimi veya dışlanması, kökler tarafından iyon alımının ve yapraklara taşınmasının kontrolü, hücresel ve tüm bitki seviyelerinde iyonların ayrı bölümlerde depolanması, prolin, betain, glisin gibi osmotik dengeyi regüle etme yeteneği olan maddelerin sentezi, fotosentetik yolda değişiklik, membran yapısında değişiklik, antioksidatif enzimlerin indüksiyonu, bitki hormonlarının indüksiyonu sayılabilir (Parida and Das 2005).

Bitkiler tuzlu koşullar altında metabolik işlevlerini kolaylaştırmak için ya fazla tuzları vakuollerde sınırlandırır ya da farklı dokularda depolarlar (Reddy *et*

al. 1992; Iyengar and Reddy 1996); (Zhu 2003). Glikofitler sodyum alımını sınırlar veya yaprak gibi yaşlı dokularda sodyumu depolar ve en sonunda bu dokular absisyonla feda edilerek tuzun bitki bünyesinden atılması sağlanır (Cheeseman 1988). Bitkilerde birikim olmaması için hücreye giren tuz, akış hızından çok daha yüksek bir hızla dışarıya pompalanmalıdır. Ancak bu durumda tuzdan sakınımın sağlanmasında pasif uzaklaştırma yanında, enerji kullanımını gerektiren ihraç mekanizması da aktif olmalıdır (Levitt 1980; Hasegawa *et al.* 1986). Bu mekanizmadan sorumlu proteinler hücre zarı üzerinde bulunan Na^+/H^+ antiportırlarıdır. Bu antiportırlar Na^+ iyonlarını sitoplazmadan dışarıya pompalamaktadır (Tester and Davenport 2003). Stres koşulları altında hücrelerin hayatta kalabilmesi için bu H-ATPaz aktiviteleri zorunludur çünkü Na^+ iyonlarının sitoplazmadan uzaklaştırılabilmesi için hücre zarına enerji sağlama işlemini bunlar sağlamaktadır (Parida and Das 2005). Na^+ un sitoplazmadan uzaklaştırılmasında olduğu gibi vakuollerde biriktirme de, tuzla indüklenen bir Na^+/H^+ antiport taşıyıcı proteini gerçekleştirilir (Apse *et al.* 1999).

Tuzun hücreden ihracında Ca^{+2} iyonlarının etkisi de önemlidir. Çünkü Ca^{+2} hücre geçirgenliğinde söz konusu dengenin korunması için temel katyondur ve Na^+ ın antagonistidir. Yüksek Ca^{+2} konsantrasyonları plazma membranının Na^+ geçirgenliğini azaltmaktadır. Membranların Na^+ geçirgenliğinin Ca^{+2} ile azaltılması Na^+ un pasif alımla bitkide birikmesini önlemektedir (Hoffman *et al.* 1989). Bilindiği gibi hücrenin seçici geçirgenliğini koruyabilmesi monovalent (K^+ , Na^+) ve divalent (Ca^{+2}) katyonlar arasındaki dengeye ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$) bağlıdır. Bu denge, monovalent katyonların konsantrasyonunun artışıyla bozulduğunda, geçirgenlik artarak hücrenin zarar görmesine yol açmaktadır (Yeo 1983; Cheeseman 1988).

Ozmotik stres sırasında, bitki prolin, mannitol, sorbitol, glisin betain vb. gibi ozmolitler olarak bilinen düşük molekül ağırlıklı bileşenleri biriktirir (Ahmad and Sharma 2008; Ahmad and Prasad 2011b, 2011a). Bu ozmolitler, hücrenin normal hücrel metabolizmasına müdahale etmezler ve hücrel ozmotik dengeyi ayarlama dahil olmak üzere farklı yollarla bitkileri stres koşullarının zararlı etkilerinden korur (Adams *et al.* 1992; Rhodes and Hanson 1993; Hanson *et al.* 1994; Ahmad and Jhon 2005; Ahmad *et al.* 2006; Ahmad and Sharma 2008; Ahmad *et al.* 2010; Chen and Murata 2011; Ahmad *et al.* 2012; Ahmad and Sharma 2012; Koyro *et al.* 2012).

Tuzluluk dahil çeşitli abiyotik stres biçimlerine maruz kalan bitkiler, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipit peroksit konsantrasyonlarında artış gösterir (Nemat Alla *et al.* 2013; Nemat Alla *et al.* 2016; Kong *et al.* 2017) . Prolin ve çözünür şekerler gibi çeşitli toksik olmayan ozmolitlerin membranları veya proteinleri doğrudan stabilize ederek serbest radikal temizleyicileri veya kimyasal şaperonlar olarak da hareket edebileceğini gösterilmiştir (McNeil *et al.* 1999; Diamant *et al.* 2001). Bu ozmolitler ROT süpürme sistemlerinin hızlandırılmasına ve enzimlerin/proteinlerin stabilizasyonuna katkı sağlayarak bitkileri çeşitli streslerden koruyabilirler (Hasegawa *et al.* 2000).

Tuz stresinin tüm olumsuz etkilerine karşı bitki savunma hattının önemli kısmını antioksidan enzimler oluşturur. Erdal (2012) yaptığı çalışmada buğday bitkisinin tuz stresine maruz kalması ile süperoksit dismutaz (SOD) ve peroksidaz (POD) aktivitesinin arttığını, katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin ise düştüğünü rapor etmiştir. Farklı bir çalışmada ise buğday bitkisinin tuz stresine maruz kalması ile SOD, POD ve CAT aktivitelerinin artmış olduğu bildirilmiştir (Shahbaz and Ashraf 2008). Tuz stresi hücre zarlarının yapısının bozulduğunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyini de artırır. Tuzlu koşullarda dirençli genotiplerde hassas türlere göre daha düşük seviyede lipid peroksidasyonu gözlemlendiği kaydedilmiştir (Dionisio-Sese and Tobita 1998; Shalata and Tal 1998; Sreenivasulu *et al.* 1999).

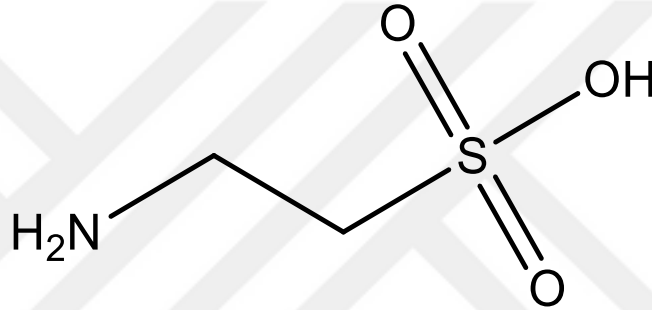
Tuz stresinin oksidatif stres indekslerinde de bir yükselmeye sebep olması savunma sisteminin mevcut haliyle yeterli olmayabileceğini, bu nedenle bitkilerin zorlu koşullara dayanmak için ekzojen destekleyicilere ihtiyaç duyabileceğini gösterir. Mevcut çalışmada tuz stresine maruz kalan buğday bitkisinin stres şartlarına karşı direncinin artırılması amacı ile metiyonin ve sisteinden türeyen bir aminoasit olan taurinin etkileri araştırılmıştır. Hayvansal organizmalarda farklı deney modelleri ile taurinin etkisini açıklayan çalışmalar yaygın iken stres koşulları altında bitkilerde taurinin etkisini bildiren çalışmalar oldukça kısıtlı düzeydedir.

1.3. Taurin

2-aminoetan sülfonik asit veya diğer adı ile taurin, tiyol grubu içeren bir aminoasittir. Kimyasal formülü $C_2H_7NO_3S$ olan taurin ilk kez, yaklaşık 150 yıl önce sığır (*Bos taurus*) safrasından izole edilmiştir. Molekül ağırlığı 125 daltondur.

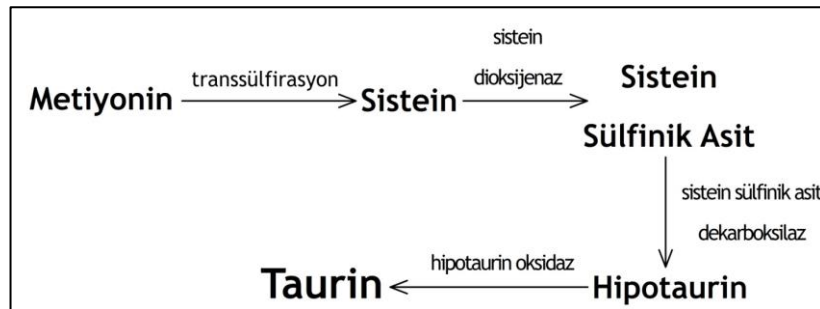
Renksiz, protein yapısına katılmayan, serbest olarak bulunabilen bir amino asittir (Jacobsen and Smith 1968; Moyer *et al.* 1988; Kendler 1989; O'Flaherty *et al.* 1997; Eppler and Dawson 1998). Taurin hem pozitif hem de negatif yük içeren nötral bir moleküldür. Taurinin zwitter iyonik doğası, ona suda yüksek çözünürlük ancak düşük lipofiliklik sağlar; bu yüzden taurinin lipofilik membranlardan difüzyonu yavaştır (Sturman *et al.* 1975; Huxtable and Sebring 1986; Huxtable 1992).

Taurindeki amino grubu, taurinin β karbonunda bulunduğu için taurin bir β aminoasittir (Eppler and Dawson 1998). Sülfonat grubu nedeniyle de güçlü asidik özellik gösterir (Sturman *et al.* 1975; Huxtable 1992) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Taurinin kimyasal yapısı

Memeli hayvanların beyin ve karaciğer dokularında, taurin, sistein sülfonik asit dekarboksilaz tarafından katalizlenen bir reaksiyonla, metiyonin ve sisteinden sentezlenir (Chesney 1985) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Sisteinden hipotaurin ve taurin sentezi (Bircan 2007)

1.3.1.Taurinin dokulardaki dağılımı ve miktarı

Taurinin hayvanların hemen hemen tüm organlarında mevcut olduğu bilinmektedir (Jacobsen and Smith 1968). Bu serbest amino asit, safra asitlerinin konjugasyonu, normal retina ve miyokardiyal fonksiyonun sürdürülmesi, osmoregülasyon ve hücrelerdeki kalsiyum akışının modülasyonunun yanı sıra üreme ve bağışıklık sistemi dahil olmak üzere hayvanlarda çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynar (Huxtable 1992; Sanderson 2006). Karnivorlarda düşük kan veya plazma taurin konsantrasyonları doğrudan retina dejenerasyonu ve kardiyomiyopatiyle ilişkilendirilmiştir (Hayes *et al.* 1975; Pion *et al.* 1987; Morris *et al.* 1990).

Genel olarak, taurin konsantrasyonları, katı hücre duvarlarına sahip olmayan türlerde yüksek; bitkiler gibi katı hücre duvarlarına sahip türlerde düşük ya da yoktur (Huxtable 1992).

Hayvanlarda fotoreseptörler, nöronlar ve miyositler gibi elektriksel olarak uyarılabilir hücrelerde yüksek seviyededir (Huxtable 1992). Toplam vücut taurini, insanda 12-18 gr kadardır. Bunun 15-66 mg'ı plazmada bulunur (Sturman 1988). Taurin miktarı beyin, kalp, dalak, böbrek ve vücut kas hücrelerinde oldukça yüksektir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Çeşitli organların taurin miktarları (Karafakıoğlu 2010)

Organ	Taurin miktarı (mM/kg doku)
Kalp	30
Frontal korteks	6
Pons	4
Orta beyin	3
Serebellum	3
M. Spinalis	4
Timus	11
Akciğer	13
Karaciğer	2
Böbrek	11
Dalak	16
Mide	9
İnce bağırsak	15
Kalın bağırsak	12
Kas	15

Bitkilerden, bazı deniz yosunlarında da olduğu bildirilmiştir (Ericson and Carlson 1954; Schweiger 1967). Kırmızı alglerden (Rhodophyta), *Mazzaella spp.* 4,11mg/g; *Porphyra spp.* 1,22mg/g; *Chondracanthus spp.* 6,28mg/g; böceklerden batı biçerdöver karınca (*Pogonomyrmex occidentalis*) 6,42mg/g; kara sinek (*Sarcophaga (Neobelliaria) bullata*) 3,33mg/g (McCusker *et al.* 2014) taurin bulundurmaktadır. Yeşil algler (Chlorophyta) 0,002 g/kg, kahverengi algler (Phaeophyta) 0,01 g/kg taurin içerikleri ile kırmızı alglere göre (0,13g/kg) daha az taurin içermektedirler (Kataoka and Ohnishi 1986). Meyve ve sebzelerde önemli miktarlarda taurin tespit edilememiştir (McCusker *et al.* 2014). Elektron yakalayıcı gaz kromatografik metodu ile yapılan bir çalışma (Kataoka *et al.* 1985), bazı bitkilerin taurin içeriğini listelenmiştir (Çizelge 1.2). Genel olarak bitkilerin taurin içeriği, hayvanların 1/100'ünden daha az seviyelerde tespit edilmiştir (Kataoka and Ohnishi 1986).

Çizelge 1.2. Bazı bitkilerdeki taurin miktarları (Kataoka *et al.* 1985)

Tür	Taurin (nmol/g yaş ağırlık) Ortalama±SS (n=3)
Rhodophyta (Kırmızı alg)	
<i>Gelidium subcostatum</i>	998.7±15.7
<i>Grateloupia elliptica</i>	198.2± 5.3
Phaeophyta (kahverengi alg)	
<i>Laminaria japonica</i>	132.6±0.03
<i>Sargassum fulvellum</i>	51.5 ± 2.3
Chlorophyta (Yeşil alg)	
<i>Codium fragile</i>	15.1 ±0.02
Fungi (Mantar)	
<i>Flammulina velutipes</i>	7.41 ±0.23
<i>Lentinus edodes</i>	4.53 ±0.06
<i>Lyphillum aggregatum</i>	3.88±0.08
Bryophyta (Kara yosunu)	
<i>Polytrichum juniperium</i>	1.26±0.07
<i>Pogonatum inflexum</i>	3.75 ±0.06
<i>Brachythecium populeum</i>	3.27 ±0.02
Pteridophyta (Eğrelti)	
<i>Athyrium niponicum</i>	1.75±0.11
<i>Polystichum setosum</i>	1.63±0.03
Spermatophyta (Tohumlu bitki)	
<i>Petroselinum crispum</i>	Saptanmadı
<i>Allium jistulosum</i>	Saptanmadı

Hücrelerdeki taurin, protein ve peptitlere bağlı olarak bulunmadığı için proteinlerin yıkımı taurinin hücre içi derişimini değiştirmmez. Ancak hücre membranının travma veya radyasyon gibi faktörlerce zarar görmesi taurinin hücre içi miktarını değiştirebilir (Chesney 1985).

Taurin, organizmalarda birçok biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonun sürdürülmesinde rol oynamaktadır (Hayes 1976). Taurinin detoksifikasyon, ozmoregülasyon, Ca^{+2} akışını düzenleme, membran stabilizasyonu, sinaptik aktivite ve nöronal uyarılabilme regülasyonu gibi önemli olaylarda rol aldığı ileri sürülmektedir (Pasantes-Morales *et al.* 1985; Kendler 1989). Günümüzde taurinin iyi bilinen fonksiyonu, safra asitleriyle bağlanmasıdır. Yağların ve yağda çözünen vitaminlerin sindiriminde görev alan safra asitlerinin, fizyolojik pH'da çözünebilmeleri için glisin ve taurinle bağlanmaları gerekir (Chesney 1985).

1.3.2. Taurinin Ca^{+2} üzerine metabolik etkileri

Ca^{+2} hücre geçirgenliğinde dengenin korunması için temel katyondur ve Na^{+} 'nın antagonistidir. Yüksek Ca^{+2} konsantrasyonları plazma membranının Na^{+} geçirgenliğini azaltmaktadır. Membranların Na^{+} geçirgenliğinin azaltılması Na^{+} un pasif alımla bitkide birikmesini önlemektedir (Hoffmann *et al.* 1989).

Taurin düşük kalsiyum şartlarında kalsiyum yararlanımını arttırarak veya biyoyararlanımın fazla olduğu durumlarda fazla kalsiyum yüküne karşı hücreleri koruyarak çift yönlü etki gösterir (Huxtable 1992). Bunu membran fonksiyonlarındaki değişikliklerle düzenler. Çift katlı lipit yapısındaki membranlarda asidik fosfolipitler, Ca^{+2} için önemli bağlanma bölgeleridir. Taurin de iyon çifti oluşturarak fosfolipitlerin baş gruplarının arasına girerek, membran konformasyonunda değişiklik meydana getirdiği, dolayısıyla katyon bağlama bölgelerinin sayısını ve afinitesini etkilediği gösterilmiştir. Böylece Ca^{+2} 'nin kanala verilmesini ve kanal açma veya kapama kinetiğini değiştirir (Sturman 1988; Trachtman *et al.* 1988; Huxtable 1992).

Taurin kalsiyuma bağımlı çeşitli sistemlerin, kalsiyum hassasiyetini arttırır. Sarkoplazmik retikulum, mitokondri ve diğer organellerin kalsiyum depolama kapasitesini arttırır. Ca^{+2} ile aktive olan ATPaz pompalarının pompalama hızını uyarır (Huxtable 1992).

Taurin, bir anyon varlığında, sarkoplazmik retikulumun Ca^{+2} 'yi depolama kapasitesini arttırır, Ca^{+2} -ATPaz pompalarını sitümüle eder, Ca^{+2} 'nin plazma membranına yüksek afinite ile bağlanmasını modifiye ederek afiniteyi arttırır ancak bağlama kapasitesini azaltır, Ca^{+2} 'nin zar boyunca pasif difüzyonunu azaltır, Ca^{+2} kanal aktivitesini modüle eder, Ca^{+2} 'nin kullanılabilirliğinin düşük olduğu koşullar altında Ca^{+2} kullanılabilirliğini arttırma ancak Ca^{+2} 'nin kullanılabilirliğini yüksek koşullar altında Ca^{+2} 'nin aşırı yüklenmesine karşı koruma etkisi gösterir, Ca^{+2} 'nin çeşitli Ca^{+2} bağımlı işlemlere duyarlılığını hafifçe artırır (Huxtable 1992).

1.3.3.Taurinin ozmoregülatif etkisi

Ozmoregülasyon, hücreye ozmotik adaptasyon için imkan vermek anlamına gelir. Taurin, inorganik iyon konsantrasyonlarında değişiklikler yaparak hücreyi dış değişikliklerin yıkıcı etkilerinden korur. Yani, taurin, kararsız moleküler ortamı dengeleyici etki göstererek ozmoregülatif etki gösterir (Mangum and Towle 1977).

Taurin hayvansal hücrelerde Na^+ ile hücre içine nakledilir. Hücre içine taşınan her bir taurin molekülü için, 1-3 Na^+ iyonu hücre içine taşınır. Na^+ iyonları ise $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPaz}$ ile geri pompalanır, her 3 Na^+ iyonu başına 1 ATP hidrolize edilir. Yani taurinin taşınması Na^+ konsantrasyon gradyenti ile sağlanır ve Na^+ 'nın konsantrasyon gradyenti de $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPaz}$ ile korunur (Huxtable 1992).

Hücre dışı Na^+ konsantrasyonundaki bir artış, ozmotik kuvvetin yükseldiğinin bir işaretidir. Hiperosmolar koşullar altında Na^+ konsantrasyon gradyent artışı taurinin hücreye taşınmasını teşvik eder. Hiperosmolar koşullar tarafından teşvik edilen hücre taurin içeriğindeki artışın, primer olarak taurinin hücreye aktif taşınmasıyla sağlandığı bildirilmiştir (Atlas *et al.* 1984). Taurinin lipofobik özelliği sayesinde taurin hücre dışına kolayca çıkamaz ve yüksek hücre içi konsantrasyon gradyenti korunur (Huxtable 1992).

Yapılan çalışmalarda, taurinin büyüme ortamına dışarıdan eklenmesinin, alglerde tuz toleransını arttırdığını gösterilmiştir (Reynoso and De Gamboa 1982; Jackson *et al.* 1992). Bu çalışmalar taurinin bitkilerdeki ozmoregülasyonda bazı etkileşimleri olduğunu desteklemektedir.

1.3.4.Taurinin antioksidan rolü

Taurinin hücre membran stabilizasyona destek olması, oksidan-antioksidan dengeyi sağlaması ve hücre bütünlüğünü koruması özelliği ile bir antioksidan olarak nitelendirilmektedir (Karafakıoğlu 2010).

Tiyol içeren bazı bileşiklerin, antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, daha indirgeyici özelliği olan bileşiklerin daha güçlü antioksidanlar olduğu görülmüştür. Tiyol içeren antioksidan etkili bileşiklerin antioksidan etki ve

aktivitesinde, hem moleküldeki tiyol sayısı hem de kükürt atomlarının oksidasyon durumunun etkili olduğu saptanmıştır (Nakagawa and Kuriyama 1975).

Taurin, membran fosfolipitleri ile etkileşerek lipid peroksidasyonunu engelleme yeteneğiyle doymamış membran lipidlerinden MDA oluşum hızını azaltarak, hücreleri oksidatif hasara karşı korunmasında etkili olmaktadır (Huxtable 1992).

Özellikle hayvansal dokularda, stres koşulları altında kaçınılmaz olarak meydana gelen hücresel hasarların bertaraf edilmesinde taurinin etkili bir molekül olduğu gösterilmektedir. Bu kadar etkili bir molekül olmasına rağmen bitkilerde taurinin etkisini açıklayan çalışma sayısı çok azdır. Bir çalışmada, taurinin buğday bitkisinde taurin uygulanmasıyla fidelerin kök uzunluğu, bitki boyu, kuru ve taze ağırlıkta artış yanı sıra yapraktaki fotokimya veriminde artış, göreceli zar geçirgenliği ve zar lipid peroksidasyon ürünü MDA içeriğinde azalma tespit edilmiştir; bu şekilde taurinin bitki üzerinde koruyucu etkiler gösterdiği düşünülmüştür (Hao *et al.* 2004). Tuza dirençli ve duyarlı hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.) meyvelerinin kullanıldığı bir başka çalışmada tuzluluk stresi altında taurin biyosentezinin arttığı tespit edilmiştir; tuza duyarlı meyvelerde daha çok arttığı not edilmiştir (Al Kharusi *et al.* 2020). Işınlama ile kuraklık stresine karşı direnç kazandırılmış mısır bitkisinin kullanıldığı bir çalışmada ise kuraklığa karşı direnç kazanımı ile birlikte taurin yolaklarında aktivite artışı tespit edilmiştir (Zhang *et al.* 2020). Stres koşulları altındaki bitkilere direnç kazandırmak için taurin kullanımını konu alan kontrollü deneysel bir çalışma mevcuttur (Lee 2015): Stres kaynaklı eksplantlarda, kallus ve filiz gelişimi önemli ölçüde gecikmiştir. Bununla birlikte, taurin içeren ortamlarda kültürlendiklerinde, filizler, taurin içermeyen kontrole kıyasla stresden daha az etkilenmiştir. Kallus oluşumu zamanı açısından, taurin, indüksiyona için gereken sürenin uzunluğunu azaltmak suretiyle, çeşitli streslere maruz kalan domates eksplantları üzerinde olumlu bir etki yapmıştır. Taurin ile muamele edilen kalluslar, taze ağırlık açısından, stressiz kontrolle karşılaştırılabilir bir kazanç göstermiştir. Sonuç olarak, taurin iki stres ajanından etkilenen eksplantları olumlu yönde etkilemiştir. Ancak bu çalışmada da taurinin iyon değişimi, oksidatif ve antioksidan sistem üzerine etkisi çalışılmamıştır (Lee 2015).

Taurinin osmoregulator olarak işlevselliği, antioksidan özellikleri bu maddenin bitkilerin stres tolerans mekanizmasının artırılmasında kullanılabileceği fikrini ortaya çıkarmaktadır. Bu hipotez ile dünya üzerinde bitki gelişimini ciddi derecede tehdit eden tuz stresi koşullarına karşı taurin uygulamasının etkileri araştırmaya açık ve muhtaç bir konu olması dolayısıyla mevcut çalışmada taurinin tuz stresine maruz kalan buğday (*Triticum aestivum* Yıldırım) bitkisinde tuza toleransı etkileyen antioksidan sistemler üzerine etkisi çeşitli stres indikatörü parametrelerle açıklanmaya çalışılmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Reaktif Oksijen Türleri

ROT, bitki aerobik metabolizmasının yan ürünleri olarak kabul edilir ve kloroplastlar (Dietz *et al.* 2016), mitokondri (Huang *et al.* 2016) ve peroksizom (Sandalio and Romero-Puertas 2015) gibi bazı hücresel bölümlerde üretilir. ROT hücrede DNA hasarından hücre ölümüne kadar hasarlara yol açabilirken diğer taraftan bitki büyümesini ve stres tepkileri düzenleyen önemli sinyal molekülleri olarak işlev görebilirler. ROT iki farklı etkisi onların hücre içindeki miktarlarına, üretim alanlarına ve biyolojik membranları geçme potansiyeline bağlıdır (Miller *et al.* 2010).

Bitkinin mitokondri kloroplast gibi farklı organellerinde yürüyen normal metabolik olayları sonucu yüksek enerjili ROT oluşabilir (Ron 2017). Fakat ROT yüksek konsantrasyonlara ulaştıkları zaman bazı hücresel bileşenleri oksitleyip değiştirebilir ve doğal işlevlerini yerine getirmelerini engelleyebilirler (Glazener *et al.* 1996; Mittler *et al.* 2004a).

Bitkilerde ROT, patojen savunması, programlanmış hücre ölümü ve stomatal davranış dahil olmak üzere çeşitli süreçlerin düzenlenmesinde rol oynayabilir (Gill and Tuteja 2010; Schippers *et al.* 2016). ROT, bitki gelişim süreçlerini ve stres tepkilerini kontrol etmek için epigenetik modülatörler ve hormonlarla etkileşime girer (Gill and Tuteja 2010; Tsukagoshi *et al.* 2010; Zeng *et al.* 2017; Kong *et al.* 2018). Genel olarak, düşük ROT seviyeleri, hücresel proliferasyon ve farklılaşma dahil olmak üzere birkaç temel biyolojik sürecin ilerlemesi için gereklidir (Tsukagoshi *et al.* 2010; Zafra *et al.* 2010). Ancak yüksek konsantrasyonlardaki ROT doku ve organların gelişimi üzerinde derin veya geri döndürülemez etkiler oluşturarak anormal bitki büyümesine veya DNA hasarına ve doğrudan programlanmış hücre ölümüne yol açabilecek şekilde önemli bir tehdit oluşturur (Ron 2017; Tognetti *et al.* 2017).

ROT radikaller ve nonradikaller olarak iki grupta sınıflandırılır. $O_2^{\bullet-}$, hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) gibi tek elektron eksikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine giren oksidanlar radikaller grubunda yer alırlar.

Nonradikaller ise H_2O_2 gibi elektron eksikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf şekilde birleşebilen oksidanlardır.

2.1.1. Tekli (singlet) oksijen ($^1O_2$)

Oksijenin yüksek enerjili formudur. $^1O_2$, elektron taşıma sisteminde görevli olan O_2 molekülünün fazladan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi H_2O_2 'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Bitkilerde tekli oksijenin üretildiği en iyi bilinen yol fotokimyasal yolak olup, fazla miktarda ışık enerjisi absorblayan klorofilden oksijene enerji aktarılmasıyla ilgilidir. Yani asıl kaynağı fotosentez reaksiyonlarında elektron transport sistemindeki klorofil pigmentleridir (Foyer *et al.* 1997; Güler 2008).

Tekli oksijenin eşleşmemiş elektronu bulunmadığı için radikal özelliği yoktur, ancak oksidan özelliği oldukça yüksektir. Bu yüzden singlet oksijen canlı organizmada hasara neden olabilir (Cadenas 1989; Durmuş 2003).

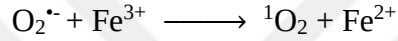
$^1O_2$, proteinler, pigmentler, nükleik asitler ve lipidlerle reaksiyona girebilir ve ışık kaynaklı PSII aktivitesi kaybının tetiklediği hücre kaybından sorumlu en önemli ROT olduğu düşünülmektedir. (Wagner *et al.* 2004; Krieger-Liszkay *et al.* 2008). Hücre zarlarının glikolipid, fosfolipid, sterol ve gliserid yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, aldehitler, hidroksi yağ asitleri ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluştururlar (Gechev *et al.* 2002; Minibaeva and Gordon 2003; Mutlu 2009; Erdal 2010). *Arabidopsis* yaprak dokularındaki, optimal büyüme koşullarında enzimatik olmayan lipid peroksidazın (LPO) %80'inden fazlasından $^1O_2$ 'nin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Triantaphylides *et al.* 2008).

2.1.2. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Süperoksit radikali temel olarak elektron transfer zincirinde PSI seviyesinde O_2 'nin redüksiyonu ile üretilmesinin yanı sıra aerobik solunum yolağında da üretilmektedir (Gill and Tuteja 2010).

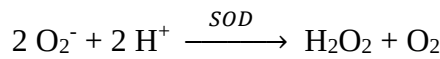
O₂^{•-}'nin genellikle üretilen ilk ROT olduğu not edilmiştir. Bitki dokularında tüketilen oksijenin yaklaşık %1-2'si O₂^{•-}'ye dönüştüğü bilinmektedir (Puntarulo *et al.* 1988). O₂^{•-} oluşumu, OH[•] ve ¹O₂ oluşumunu tetikleyebilir (Elstner 1987; Halliwell 2006), bunların her birinin membran lipidlerinde peroksidasyona, membran hasarı, hücrel toksisite ve DNA'daki tek zincir kırıklarına sebep olduğu bilinmektedir (Fridovich 1995; Mutlu 2009).

O₂^{•-}, demire (Fe³⁺) bir elektron vererek indirgenmiş bir demir formu (Fe²⁺) oluşabilir bu da daha sonra H₂O₂'yi indirgeyebilir. O₂^{•-}, H₂O₂ ve demirin hızla OH[•] oluşturduğu reaksiyonlara Haber-Weiss reaksiyonu denir, Fe²⁺'nin H₂O₂ tarafından oksidasyonunu içeren adım ise Fenton reaksiyonu olarak adlandırılır:



2.1.3.Hidrojen peroksit (H₂O₂)

O₂^{•-}'nin katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan SOD tarafından katalizlenmesi ile oluşur. SOD enziminin katalizi ile hidrojen peroksit oluşumu aşağıdaki şekilde gerçekleşir (Asada *et al.* 1974).



H₂O₂ orta derecede reaktiftir. O₂^{•-}, OH[•] ve ¹O₂ gibi diğer ROTlar daha kısa (2-4 µs) yarı ömre sahipken H₂O₂ nispeten uzun yarılanma ömrüne (1 ms) sahiptir (Bhattacharjee 2005).

Bitki hücrelerindeki fazla H₂O₂'nin oksidatif stres oluşumuna yol açtığı iyi bilinmektedir. H₂O₂, tiyol gruplarını oksitleyerek enzimleri inaktive edebilir. DNA kırılmalarına, protein denatürasyonlarına neden olur ve bitki hücreleri için oldukça toksiktir. Aslında H₂O₂ bitkilerde ikili bir rol oynar; yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese neden olur, ancak aynı zamanda düşük konsantrasyonlarda çeşitli biyotik ve abiyotik stres formlarına adaptasyonda rol oynayan bir sinyal molekülü

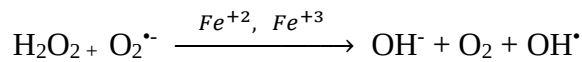
olarak görev alır (Quan *et al.* 2008). H₂O₂'nin yaşlanma (Peng *et al.* 2005), fotorespirasyon ve fotosentez (Noctor and Foyer 1998), stomatal hareket (Bright *et al.* 2006), hücre döngüsü (Mittler *et al.* 2004b), büyüme ve gelişme (Foreman *et al.* 2003) gibi geniş bir yelpazedeki fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü olarak düzenleyici rol oynadığı da gösterilmiştir.

H₂O₂ yüksüz bir moleküldür; difüzyonla yer değiştirebilir. Yapısında paylaşılmamış elektron bulunmadığından nonradikal bir bileşiktir. Radikal olmadığı halde oksitleyici olarak bilinmesinin nedeni demir ve bakır gibi metal iyonlarının varlığında serbest oksijen radikalleri içinde en yüksek derecede toksisiteye sahip olan hidroksil radikalının öncülü olmasıdır (Elstner 1991).

H₂O₂ demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H₂O₂'nin ortamdaki uzaklaştırılması gerekir (Halliwell 1984; Güler 2008). H₂O₂'yi CAT, APX ve POD enzimleri H₂O ve O₂ gibi ürünlere dönüştürerek ortamdaki uzaklaştırır. Oksidatif streslere tolerans sağlamada bitkilerde bu enzimlerin hücresele seviyelerini düzenlemesi oldukça önemlidir (Gechev *et al.* 2002; Minibaeva and Gordon 2003; Mutlu 2009; Erdal 2010).

2.1.4. Hidroksil radikali (OH[•])

Serbest radikaller içerisinde en reaktif oksidanttır. Nötral formları hidroksil iyonları olan bu radikaller kısa ömürlü ve yüksek derecede reaktiftir. Uygun metallerin, özellikle Fe, varlığında, nötr pH ve ortam sıcaklıklarında, demir katalizörlü Fenton reaksiyonu ile O₂^{•-} ve H₂O₂ 'den OH[•] üretilir.



Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan OH[•]'nin, *in vivo* oksijen toksisitesine aracılık etmekten büyük ölçüde sorumlu olduğu düşünülmektedir. OH[•] DNA, proteinler ve lipidler gibi hemen hemen tüm biyolojik moleküllerle potansiyel olarak reaksiyona girebilir. Bütün bu tepkimeler OH[•]'in paylaşılmamış elektron içeren

dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır (Halliwell 1984). OH•'ın sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. OH•'ın başlıca hedefi yağ asitleri olup zar lipidlerinin peroksidasyonu ile zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilir (Nishiyama *et al.* 1998; Güler 2008; Erdal 2010).

2.1.5.Lipid peroksidasyonu

Lipitlerin peroksidasyonu, her canlı organizmada meydana geldiği bilinen en zararlı süreç olarak kabul edilir. Lipit peroksidasyonu sırasında ortaya çıkan ürünlerin, ketonlar, MDA gibi küçük hidrokarbon parçalarını ve bunlarla ilgili bileşikler içeren çoklu doymamış öncülerden oluştuğu anlaşılmıştır (Garg and Manchanda 2009). Hem hücrel hem de organel membranlarında LPO, ROT eşik üstü seviyelere ulaşıldığında ortaya çıkar; sadece normal hücrel işleyişi doğrudan etkilemekle kalmaz, aynı zamanda lipidden türetilmiş radikallerin üretimi yoluyla oksidatif stresi de şiddetlendirir (Montillet *et al.* 2005).

Bir membranda LPO, bir çoklu doymamış yağ asidi kalıntısının doymamış yağ açıl zincirinden, esas olarak OH• etkisiyle bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla başlar. Aerobik bir ortamda oksijen, bu karbon merkezli lipid radikalinde yağ asidine eklenerek bir ROO• radikali oluşturur. Başlatıldıktan sonra ROO•, komşu çoklu doymamış yağ asidi yan zincirlerinden bir hidrojen atomu çıkararak peroksidasyon zincir reaksiyonunu daha da ilerletebilir. Ortaya çıkan lipid hidroperoksit, lipid alkoksil radikalleri, aldehitler (malondialdehit), alkenler, lipid epoksitler ve alkoller dahil olmak üzere çeşitli reaktif türlere kolayca ayrışabilir (Fam and Morrow 2003). Dolayısıyla, tek bir başlangıçtan sonra bir zincir reaksiyonu ile birden çok peroksit molekülü üretme potansiyeline sahiptir.

LPO'nun genel etkileri membran akışkanlığı azalması, iki katman arasında fosfolipidlerin değişimini kolaylaşması, belirli kanallar dışında normalde zardan geçmeyen maddelerin sızmasının artması ve zar proteinlerinde, inaktive edici reseptörlerde, enzimlere ve iyon kanallarında tahribattır.

Çeşitli abiyotik streslere maruz kalan bitkilerin, ROT oluşumuna bağlı olarak LPO'da bir artış sergilediği de kaydedilmiştir. Kukreja ve ark. (Kukreja *et al.* 2005),

tuzluluk stresi altında *Cicer arietinum* köklerinde LPO'nun belirgin artış gösterdiğini belirtmektedir. Benzer artış *C. arietinum* L. cv. Gökçe bitkisinde lipid peroksidasyonun son ürünlerinden biri olan MDA içeriğinde tespit edilmiştir (Eyidogan and Öz 2007). Su stresinin *Phaeolus vulgaris* bitkisinin yapraklarında LPO, H₂O₂ ve OH^{*} üretimini artırdığı da bildirilmiştir (Zlatev *et al.* 2006). Pan ve ark. (2006) tuz ve kuraklık stresi altında meyan kökü fidelerinde (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) MDA içeriğinde artış olduğunu bildirmiştir. Başka çalışmalarda da stresle birlikte *Lycopersicon esculentum* L (domates) (Krupa and Baszynski 1989; Malik *et al.* 1992; Ouariti *et al.* 1997; Ben Ammar *et al.* 2005), *Triticum aestivum* L (buğday) (Vassilev *et al.* 2004), *Hordeum vulgare* L (arpa) (Gaur and Gupta 1994), *Brassica nigra* L W.D.J.Koch (hardal) (Halliwell and Gutteridge 1999; Nouairi *et al.* 2006) bitkilerinde lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir.

Bazı LPO ürünleri tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek tiyobarbitürik asit reaktif maddeler adı verilen renkli ürünler oluşturur (Heath and Packer 1968). Lipid peroksidasyon olayının ürünü olan MDA miktarının ölçülmesi ile lipid peroksidasyon düzeyi saptanabilmektedir. MDA tiobarbitürik asit ile oluşturduğu pembe renkli bu çözeltinin absorbans değerlerinden LPO'nun derecesi belirlenip oksidatif stres hasar düzeyinin bir indikatörü olarak değerlendirilmektedir (Yılmaz and Ozan 2003; Kuru 2007; Erdal 2010).

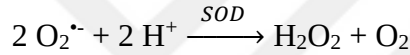
2.2. Antioksidan Enzimler

Bitkilerin aşırı sıcaklıklar, ağır metaller, kuraklık, su mevcudiyeti, hava kirleticileri, besin eksikliği veya tuz stresi gibi olumsuz çevresel koşullara maruz kalması, ¹O₂, O₂^{*}, H₂O₂ ve OH^{*} gibi ROT üretimini artırabilir. Bitki hücreleri bu toksik ara maddelerine karşı kendilerini korumak için antioksidan savunma sistemleri kullanır. Antioksidan savunma sisteminin bileşenleri enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ayrılır. Enzimatik antioksidanlar arasında SOD, CAT, APX, monodehidroaskorbat (MDHA) redüktaz, glutatyon redüktaz (GR) bulunur. Enzimatik olmayan antioksidanlar suda çözünen glutatyon (GSH) ve askorbik asit ile lipide çözünen karotenoidler ve tokoferollerdir (Mittler *et al.* 2004b; Singh *et al.* 2008a; Gill *et al.* 2011). Antioksidan savunma sistemi içerisinde bulunan bu enzimler ROT'u kademeli bir şekilde daha az toksik olan bileşiklere parçalayarak temizlerler.

2.2.1.Süperoksid dismutaz

SOD, $O_2^{\bullet-}$ 'nin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen metal içeren bir enzimdir (Sairam and Srivastava 2000; Eyidoğan *et al.* 2003; Minibaeva and Gordon 2003). Metalloenzim SOD, tüm aerobik organizmalarda en etkili hücre içi enzimatik antioksidandır.

SOD'nin bitki stres toleransında önemli olduğu ve yüksek ROT seviyelerinin toksik etkilerine karşı ilk savunma hattını sağladığı belirtilmiştir. SOD'ler $O_2^{\bullet-}$ 'in dismutasyonunu katalize ederek ortadan kaldırır, bu şekilde bir $O_2^{\bullet-}$ H_2O_2 'ye indirgenir ve bir O_2 de oksitlenir. $O_2^{\bullet-}$ 'i ortadan kaldırır ve dolayısıyla metal katalizli Haber-Weiss tipi reaksiyon yoluyla $OH^{\bullet}$ oluşumu riskini azaltır. Bu reaksiyon, spontan dismutasyondan 10.000 kat daha hızlıdır. Ancak bu enzimin tek başına strese karşı yeterli olamayacağı da bildirilmiştir (Pitcher *et al.* 1991; Erdal 2010).



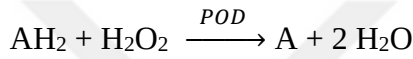
SOD'ler, metal kofaktörlerine göre üç türe ayrılır: bakır/çinko (Cu/Zn-SOD), manganez (Mn-SOD) ve demir (Fe-SOD) (Mittler 2002). MnSOD prokaryotik organizmalar ve ökaryotik hücrelerin mitokondrisinde, Cu/ZnSOD yüksek bitkilerin hem sitoplazma hem de kloroplastlarında (Scandalios 1993; Güler 2008), FeSOD ise, bazı bitki türlerinin kloroplastlarında ve prokaryotik organizmalarda bulunabilir (Bowler *et al.* 1992; Güler 2008).

Dut (Harinasut *et al.* 2003), *C. arietinum* (Kukreja *et al.* 2005) ve *Lycopersicon esculentum* (Gapińska *et al.* 2008) bitkilerinde tuz stresi altında SOD aktivitesinde önemli artış gözlemlenmiştir. Eyidogan ve Öz (2007) tuz stresi altında *C. arietinum*'da üç SOD aktivite bandı (MnSOD, FeSOD ve Cu/ZnSOD) tespit etmiştir. Ayrıca tuz stresi altında Cu/ZnSOD ve MnSOD izozimlerinin aktivitelerinde önemli artış gözlenmiştir. Pan ve ark. (2006) *Glycyrrhiza uralensis* Fisch bitkisinde tuz ve kuraklık stresinin SOD aktivitesini önemli ölçüde artırdığını, ancak yalnızca tuz stresi altında ek bir MnSOD izoenzimi saptandığını belirtmişlerdir. Transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde MnSOD'nin aşırı ekspresyonu da artmış tuz toleransı göstermiştir. MnSOD aktivitesinin yanı sıra Cu/ZnSOD, FeSOD,

CAT ve POD aktivitelerinin de, tuza toleranslı transgenik Arabidopsis bitkilerinde kontrole göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Wang *et al.* 2004). Transgenik *L. esculentum* bitkilerinde MnSOD'nin aşırı ekspresyonun da tuz stresine karşı artmış tolerans ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Wang *et al.* 2007).

2.2.2.Peroksidaz

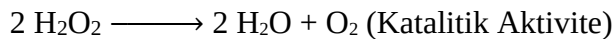
POD'ler, SOD ve CAT ile koordineli olarak ROT'ların temizlenmesinde önemli rol oynayan bir enzimdir. POD'ler H₂O₂'yi kullanarak hidrojen vericisi olarak birçok organik ve inorganik substratın (AH₂) dehidrojenasyonunu katalizler (Bergmeyer and Grabl 1983).



POD'ların pek çok fizyolojik olayla ilişkisi olduğu ve metabolizmada aktif bir rol oynadığı belirlenmiştir (Durmuş 2003). Stres altındaki bitkilerde POD aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Asada 1992).

2.2.3.Katalaz

CAT H₂O₂'yi doğrudan H₂O ve O₂'ye ayırma potansiyeline sahiptir, tetramerik hem grubu içerir ve stresli koşullar sırasında ROT detoksifikasyonu için vazgeçilmezdir (Garg and Manchanda 2009). CAT, solunum zincirinde oksijenin eksik indirgenmesinden oluşan H₂O₂'yi O₂'ye indirger (Chaudiere and Ferrari 1999). Ayrıca, CAT'nin metil hidrojen peroksit (MeOOH) gibi bazı hidroperoksitler ile reaksiyona girdiği de bildirilmiştir (Ali and Alqurainy 2006). En yüksek hızla reaksiyon veren enzimlerden biridir.



CAT'nin temel fonksiyonu, O₂ mevcudiyetinde metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen, radikal karakterli H₂O₂'nin ve ROOH gibi bir peroksitin radikalliğini azaltarak özellikle membranlarda oluşabilecek geri dönüşümsüz hasarları engellemektedir.

CAT kararlı bir enzim değildir. Yüksek ışık yoğunluğu ve strese maruz kalan bitki hücrelerinde oluşan H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarıyla inhibe edilebilir (Streb *et al.* 1993). H_2O_2 'ye olan zayıf afinitesi ve çok az miktarda mitokondride bulunmasının dışında sadece peroksizomlarda bulunması CAT'nin etkinliğini azaltmaktadır (Asada 1992; Scandalios 1993). CAT'nin koruyucu işlevi askorbik asit, glutatyon, E ve K vitaminleri tarafından güçlendirilir. Çünkü bu bileşikler kolayca elektron alabilir ve serbest radikalın ortadan kaldırılmasıyla yakalayıcı fonksiyon üstlenebilirler (Keha and Küfreviöglu 2000; Taşğın 2004; Erdal 2010).

CAT izozimleri, yüksek bitkilerde yoğun bir şekilde incelenmiştir (Azevedo *et al.* 1998). Farklı streslerde farklı tespitler yapılmıştır. Srivastava ve ark. (2005), NaCl ve Cu^{2+} stresi altında *A. doliolum*'da CAT aktivitesinde bir azalma bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Simova-Stoilova ve ark. (2010) kuraklık stresi altında buğdayda artmış CAT aktivitesi bildirmişlerdir, ancak özellikle hassas çeşitlerde daha yüksek bulunmuştur. Pan ve ark. (2006) tuz ve kuraklık stresinin birleşik etkisini incelemişler ve *Glycyrrhiza uralensis* fidelerinde CAT aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır.

2.2.4.Askorbat peroksidaz (APX)

APX, su-su ve askorbat (ASH) - GSH döngülerinde H_2O_2 'nin atılmasında rol oynar ve ASH'yi elektron vericisi olarak kullanır. İki molekül askorbat kullanarak H_2O_2 suya dönüştürür (Noctor and Foyer 1998). Bu reaksiyon sonucunda askorbat iki molekül MDHA'ya dönüşür. MDHA ise MDHA redüktaz tarafından tekrar askorbata dönüştürülür (Kumar *et al.* 2011).

APX ailesi, tilakoid (tAPX) ve glioksizom membran formları (gmAPX), kloroplast stromal çözünür form (sAPX), sitosolik form (cAPX) içermek üzere en az beş farklı izoformdan oluşur (Noctor and Foyer 1998). APX, H_2O_2 'ye karşı CAT ve POD'den daha yüksek bir afiniteye sahiptir.

Bitkilerde farklı stres koşulları sırasında artmış APX ekspresyonu gösterilmiştir. Tuz stresine maruz kalan *Arabidopsis doliolum*'da APX aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (Srivastava *et al.* 2005). Ayrıca, *Nicotiana tabacum*

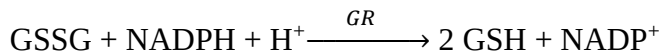
kloroplastlarında APX'in aşırı ekspresyonunun, tuz ve su açığına karşı bitki toleransını arttırdığı da ileri sürülmüştür (Badawi *et al.* 2004).

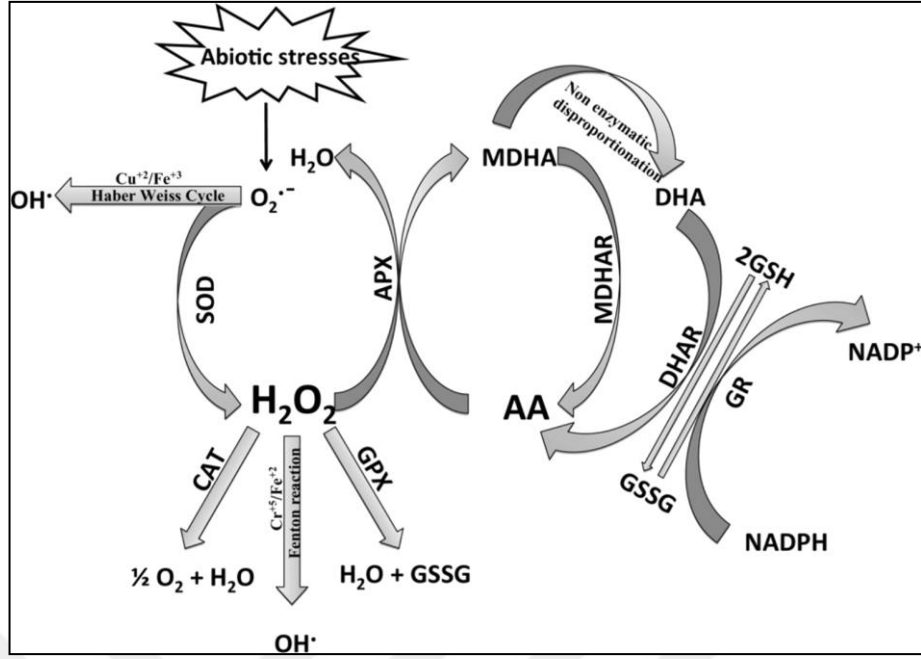
APX aşırı üretiminin, ROT süpürme sistemini güçlendiren POD aktivitesini artırdığı ve oksidatif stres toleransına ve oomycetes patojen direncine yol açtığı öne sürülmüştür (Sarowar *et al.* 2005). Yapılmış olan çalışmalarda *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok organizmada stres koşulları altında APX enzim aktivitesinde ve gen ekspresyonunda artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Beauchamp and Fridovich 1971; Polidoros and Scandalios 1999; Zlatev *et al.* 2006; Hsu and Kao 2007; Khan *et al.* 2007; Mobin and Khan 2007; Singh *et al.* 2008b).

2.2.5. Glutasyon redüktaz (GR)

GR hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunan bir flavo-protein oksidoredüktazdır (Romero-Puertas *et al.* 2006). ASH-GSH döngüsünün potansiyel bir enzimidir ve GSH'nin indirgenmiş durumunu sürdürerek ROT'e karşı savunma sisteminde önemli bir rol oynar.

GR, GSH'nin indirgenmesini katalize eder. GSH, bitkilerde birçok metabolik düzenleyici ve antioksidan süreçte yer alan bir moleküldür. GR, oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) disülfür bağının NADPH'ye bağlı reaksiyonunu katalize eder ve bu nedenle GSH havuzunu korumak için önemlidir (Reddy and Raghavendra 2006; Rao and Reddy 2008). NADPH'yi elektron verici olarak kullanarak GSSG'nin, GSH'a indirgenmesini katalizler (Ranieri *et al.* 2005; Yannarelli *et al.* 2007) (Şekil 2.1).





Şekil 2.1. Antioksidan enzimler (Gill and Tuteja 2010)

Eyidogan ve Öz (2007) tuz stresi altında *C. arietinum* L. cv Gökçe'nin yaprak dokusunda artmış GR aktivitesi bildirmişlerdir. Aynı şekilde Kukreja ve ark. (2005) tuz stresi sonrasında *C. arietinum* köklerinde artmış GR aktivitesi tespit etmiştir. Ancak Srivastava ve ark. (2005) *A. doliolum*'da Cu^{2+} stresi altında GR aktivitesinde düşüş olduğunu, ancak tuz stresi altında artış olduğunu bildirmiştir.

2.3. Antioksidan Bileşikler

2.3.1. Glutatyon (GSH)

Bitki dokularında bol miktarda indirgenmiş formda bulunur ve sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri, kloroplastlar, peroksizomlar ve apoplast gibi tüm hücre bölmelerinde bulunur (Mittler and Zilinskas 1992; Jiménez *et al.* 1998). Çeşitli fizyolojik süreçlerde merkezi bir rol oynar: sülfat taşınmasının düzenlenmesi, sinyal iletimi, metabolitlerin konjugasyonu, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu (Xiang *et al.* 2001) ve strese duyarlı genlerin ekspresyonu (Mullineaux and Rausch 2005). GSH'nin bitkilerde hücre farklılaşması, hücre ölümü ve yaşlanma, patojen direnci ve enzimatik düzenleme dahil olmak üzere çeşitli büyüme ve gelişme ile ilgili olaylarda da önemli rol oynadığı iyi bilinmektedir (Rausch and Wachter 2005).

2.3.2.Askorbat (L-Askorbik Asit, C Vitamini, ASH)

ASH, bitkilerde ROT'un neden olduğu hasarı önlemek veya en aza indirmek için en bol bulunan, güçlü ve suda çözünür antioksidandır (Smirnoff 2005; Khan and Ashraf 2008). Bitkilerde H_2O_2 'nin detoksifikasyonu için en önemli substrat askorbattır (Nakano and Asada 1987; Mehlhorn *et al.* 1996). Tüm bitki dokularında görülür, genellikle fotosentetik hücreler ve meristemlerde (ve bazı meyvelerde) daha yüksektir. Tam gelişmiş kloroplast ve yüksek klorofil içeren olgun yapraklarda konsantrasyonunun en yüksek olduğu bildirilmektedir. ASH'nin normal fizyolojik koşullar altında yapraklarda ve kloroplastta çoğunlukla indirgenmiş formda kaldığı bildirilmiştir (Smirnoff 2000). ASH'nin rejenerasyonu son derece önemlidir çünkü tamamen oksitlenmiş dehidroaskorbik asit kısa bir yarı ömre sahiptir ve tekrar indirgenmedikçe kaybolacaktır.

ASH, bir dizi enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonda elektron verme kabiliyeti taşımaktadır. Doğrudan $O_2^{\cdot-}$ ve $OH^{\cdot}$ süpürerek membranlara koruma sağlayabilir. Bitki hücrelerinde enzim kofaktörü, antioksidan ve kloroplast ya da hücre zarındaki elektron taşıma sistemlerinde elektron verici-alıcı olarak görev yapar. Ayrıca prostetik grup olarak metal iyonu içeren enzimlerin aktivitelerinin korunmasında önemli rol oynar. Bunlara ilave olarak askorbat, önemli bir antioksidan olan α -tokofenollerin okside formlarını indirgeyen güçlü bir sekonder antioksidan olarak görev yapar (Padh 1990).

Cucumis sativus L. (salatalık), *Arabidopsis thaliana* L Heynh (turp), *Pisum sativum* L. (bezelye), *Nicotiana tabacum* L. (tütün), *Populus nigra* L. (kavak), *Hordeum vulgare* (arpa), *Picea asperata* Mast. (dragon ladini), *Soja max Piper* (soya) ve daha pek çok bitkide değişik biyotik ve abiyotik koşullar altında gerçekleştirilen enzim ve gen ifadesi analizleri sonucunda askorbik asit ile ilişkili gen ifade seviyelerinin artış gösterdiği ve bu artışların strese karşı savunma cevabı olarak verildiği saptanmıştır (Aono *et al.* 1993; Schützendübel *et al.* 2002; Zhang *et al.* 2002; Skórzyńska-Polit *et al.* 2003; Holländer-Czytko *et al.* 2005; Demirevska-Kepova *et al.* 2006; Romero-Puertas *et al.* 2007; Yang *et al.* 2008).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Buzdolabı : Arçelik
Derin dondurucu (-80°C) : Harris, İngiltere
Elektroforez : Owl Separation Systems P10DS
Hassas terazi : Shimadzu AY220
Homojenizatör : Wiggen Hauser D- 500
Karıştırıcı : Fisons Whırlımixer
Manyetik karıştırıcı : Chiltern HS31
Masa santrifüjü : Hettich EBA 21
Otomatik pipetler : Ependhof
pH metre : WTW unilab pH metre
Santrifüj (Soğutmalı) : Hettich Micro 22 R
Spektrofotometre : Shimadzu UVmini-1240

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

İnceleme ve ölçümlerde kullanılan solüsyonlar ve hazırlanma prosedürleri aşağıda tarif edilmiştir. Solüsyonlar Fluka ve Sigma isimli firmalardan sağlanmıştır.

1.Arnon ve Hoagland besi çözeltisi: 0,6 mg tartarik asit, 0,6 mg FeSO₄, 0,22 mg ZnSO₄. 7H₂O, 0,08 mg CuSO₄. 5H₂O, 1,81 gr MnCl₂. 4H₂O, 2,86 gr H₃BO₃, 0,49 gr MgSO₄. 7H₂O, 0,23 gr NH₄H₂PO₄, 0,492 gr Ca(NO₃)₂. 4H₂O, 1,02 gr KNO₃, distile su içinde çözülmesi sağlanarak hacmi 1 litre olacak şekilde tamamlanmıştır.

2.0,05 M KH₂PO₄ (pH: 6,5) (Protein tayini maksadıyla) : 1,7 gr KH₂PO₄ 200 ml distile suda çözülmüş, 1 N NaOH kullanılarak pH 6,5'e ayarlandıktan sonra hacim distile suyla 250 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

3.Coomassie reaktifi (Protein tayini için): 5 ml etanol içinde 10 mg Coomassie Blue G-250 çözülmesinin ardından, üzerine 10 ml %85'lik fosforik asit eklenir ve hacmi distile suyla 100 ml olacak şekilde tamamlanır.

4.0,1 M KH₂PO₄ (pH: 7,0), 1 mM EDTA, %1 PVP (antioksidan enzimlerin bağdaştırma solüsyonu): Distile suda 3,4 gr KH₂PO₄ 200ml çözülmüş, 1 N

NaOH kullanılarak pH 7,0'ye ayarlanmasının ardından hacmi distile su kullanılarak 250 ml olacak şekilde tamamlanmış ve üzerine 2,5 g PVP ve 0,073 gr EDTA eklenmiştir.

5.103,5 mM KH_2PO_4 , pH: 7,5 (CAT aktivite tayini maksadıyla kullanılan solüsyon): 70ml distile suda 1,41 gr KH_2PO_4 çözülmüş, 1 N NaOH ile pH: 7,5'e ayarlanmış ve son olarak distile su ile hacmi 100 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

6.40 mM H_2O_2 solüsyonu (CAT aktivite tayini maksadıyla kullanılan substrat solüsyonu): 346 μl %35'lik H_2O_2 solüsyonu hacmi distile su ile 100ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

7.5 mM H_2O_2 solüsyonu (CAT aktivite tayininde standart grafik oluşturmak maksadıyla kullanılmak üzere): 43 μl %35'luk H_2O_2 alınıp hacmi distile su ile 100ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

8.0,1 M Na_2HPO_4 , pH: 5,5 (POD aktivite tayini maksadıyla kullanılan tampon solüsyonu): 3,55 gr Na_2HPO_4 , 200 ml distile suda çözülüp, pH: 5,5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra hacmi distile su ile 250 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

9.POD aktivite tayini maksadıyla kullanılan substrat solüsyonu (5 mM guaikol + 5 mM H_2O_2): 100 ml 0,1 M fosfat tamponunda (pH: 5,5) 15 μl H_2O_2 ve 54 μl quaikol'dan ($d=1,13$ g/mol) 5 mM olacak şekilde çözülerek hazırlanmıştır.

10.50 mM KH_2PO_4 (pH: 7,8) (SOD tampon solüsyonu): Distile suda 1,7 gr KH_2PO_4 200 ml çözüldükten sonra, pH: 7,8'e ayarlanıp distile su ile hacmi 250 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

11.13 mM metionin solüsyonu (SOD reaksiyon çözültisi maksadıyla): 0,586 gr metionin, 250 ml 50 mM KH_2PO_4 solüsyonu içine eklenerek çözülür.

12.63 μM Nitroblue Tetrazolium Klorür (SOD reaksiyon çözültisi maksadıyla): 250 ml 50 mM KH_2PO_4 solüsyonu içine 0,0128 gr Nitroblue Tetrazolium Klorür eklenerek çözülür.

13.0.1 mM Etilen Diamin Tetra Asetik asit-EDTA (SOD reaksiyon çözeltisi maksadıyla): 250 ml 50 mM KH_2PO_4 solüsyonu içine 0,073 gr Etilen Diamin Tetra Asetik asit eklenerek çözülür.

14.13 μM riboflavin (SOD aktivitesi maksadıyla ikinci solüsyon): 500 ml distile suda 0,019 gr riboflavin çözüldükten sonra, 3 ml'lik çözeltide 13 μM riboflavin bulunabilmesi için 390 μL riboflavin alınmıştır.

15.%0,1'lik trikloroasetik asit-TCA (Lipid peroksidasyon için bağdaştırarak solüsyonu): 0,1 g TCA 100 ml distile su içerisine eklenerek çözülür.

16.%0,5 lik tiobarbutirik asit-TBA (Lipid peroksidasyon için reaksiyon solüsyonu): 20 g TCA 100 ml distile su içinde çözülür ve daha sonra içerisine 0,5 gr tiobarbutirik asit eklenerek hafif ısıda iyice çözünmesi sağlanır.

17.Monomer(akrilamid/bis) çözeltisi (%30 akrilamid, %2,7 bis) : 29,2 g akrilamid 75 ml saf suda çözülür, çözeltiye 0,8 g bis katılıp çözülür. Son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

18.Ayırma jeli solüsyonu (1,5 M Tris, pH: 8,8) : 50 ml distile suda 18,15 gr tris çözülür. HCl ile pH 8,8 olacak şekilde ayarlanır. Distile su ile 100 ml olacak şekilde tamamlanır.

19.Yükleme jeli tamponu (0,5 M Tris, pH: 6,8) : 40 ml distile su içinde 3 gr tris çözülür. pH 6,8 HCl ile ayarlanır. Hacim distile su ile 50 ml olacak şekilde tamamlanır.

20.%10 SDS: 1 gr SDS nihai hacim 10 ml hedeflenerek distile su içinde çözülür.

21.%10 Amonyum persülfat (polimerizasyon başlatıcı) : 0,05 g amonyum persülfat son hacim 500 μl olacak şekilde saf suda çözülür.

22.Örnek uygulama tamponu (0,125 M Tris, %10 2-merkaptetanol, %4 SDS, %20 gliserol, %0,2 bromfenol mavisi pH: 6,8): 2,5 ml yükleme jeli tamponu, 2 ml gliserol, 4 ml %10 SDS, 1 ml 2-merkaptetanol alınıp son hacim 10 ml olacak

şekilde saf su ile tamamlanır, pH: 6,8'e ayarlanır. Karışıma 0,02 g bromfenol mavisi katılarak karıştırılır. Kullanılacak hacimlere bölünüp -20°C'de saklanır.

23. Tank tamponu (0,025 M Tris, %0,1 SDS, 0,192 M glisin, pH: 6,8) : 3 gr Tris, 14,4 gr Glisin, 1 gr SDS alınır. 900 ml distile su içinde çözülerek pH 6,8 olacak şekilde ayarlanır. Nihai hacim 1000ml hedeflenerek distile su eklenerek tamamlanır.

24. Boyama substrat çözeltisi (SOD izoenzimleri için) (33,2 µM riboflavin, 0,24 mM NBT, %0,2 TEMED, 1 mM EDTA, 0,05 M KH₂PO₄ pH 7,8): 0,0098 gr NBT, 100µl TEMED, 0,147g EDTA, 0,45 g KH₂PO₄ 40 ml saf suda çözülüp pH: 7,8'e ayarlanır. 1 ml saf su içerisinde 0,0062 g riboflavin çözülür ve 100 µl'si boyama substrat çözeltisine katılır. Çözeltinin son hacmi 50 ml'ye saf su ile katılır.

25. 1 mM EDTA, 0,05 M KH₂PO₄ pH 7,8 (SOD izoenzimleri için): 0,147 g EDTA, 0,345 gr KH₂PO₄ 40 ml distile suda çözülerek pH 7,8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra son hacim 50 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanır.

26. 2 mM askorbik asit, 50 mM Na₂HPO₄ (APX izoenzimleri için): 0,0352 g askorbik asit, 1,34 g Na₂HPO₄ 80 ml distile su içinde çözülür ve pH 7,0 olacak şekilde ayarlanır. Son hacmi 100 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanır.

27. 4 mM askorbik asit, 2 mM H₂O₂: 50 mM Na₂HPO₄ (APX izoenzimleri için): 2 mM askorbik asit çözeltisinden 50 ml alınır üzerine 0,0176 g askorbik asit ve 10 µl %35 H₂O₂ katılıp iyice karıştırılır.

28. 28 mM TEMED, 2,4 mM NBT, içeren 50 mM Na₂HPO₄ (pH 7,8) tamponu (APX izoenzimleri için) : 105 µl TEMED, 0,0491 g NBT, 0,335 g Na₂HPO₄ 20 ml distile su içinde çözülerek pH 7,8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra son hacmi 25 ml olacak şekilde distile su eklenerek tamamlanır.

29. 0,25 mM NADPH çözeltisi hazırlamak için (GR aktivitesi için) : 0,0022 g NADPH 10 ml saf su içersinde çözülür.

30. 1 mM GSSG (GR aktivitesi için): 0,0061g GSSG, 10 ml saf su içersinde çözülür.

31.0,5 mM EDTA (GR aktivitesi için): 0,0014 g EDTA 10ml saf su içersinde çözülür.

32.50 mM Tris-HCl (GR aktivitesi için): 0,06 g Tris bir miktar saf su içersinde çözülür, sonra pH: 7,8' e ayarlanır ve son hacim 10ml'ye tamamlanır.

33.%5'lik TCA (homojenizasyon için): 1g TCA 10ml saf su içersinde çözülür.

3.3. Yöntemler

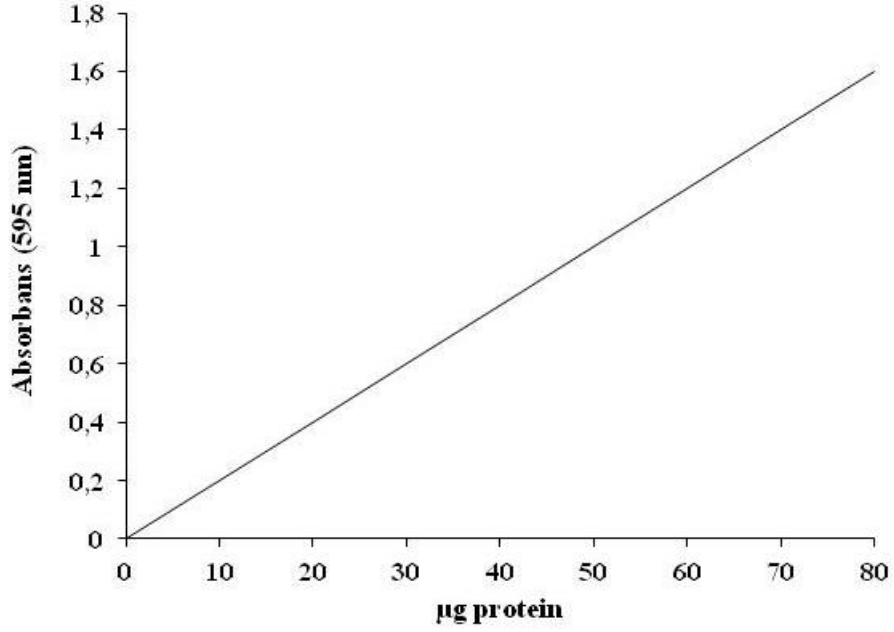
3.3.1.Bitki büyüme

Yapılan çalışmada kullanılan buğday (*Triticum aestivum* Yıldırım) bitkisi tohumlar Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Ekilmeden önce tohumlar %96 derecede alkol ile kısa ve hızlı bir yıkama işleminden geçirilmiş ve ardından %5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 5 dakika boyunca yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılmıştır. Ardından 3 kere distile su ile yıkama işlemi uygulanıp, oda koşullarında distile su içersinde yaklaşık 5 saat boyunca şişmeye bırakılmıştır. Tohumlar hidrofonic sistemi olan ve Hoagland besi yeri içeren saksılara ekilmiştir. Bitkiler iklim odasında kontrol koşullarında (sıcaklık: 25/20°C, ışık-karanlık periyodu: 14/10 saat, 20.000 lüks, nem %70) büyümesi sağlanmıştır. Hasat edileceği güne kadar, her bitki grubunun, günlük olarak aynı miktarda distile su ve haftada bir kez Hoagland besi solüsyonuyla sulaması yapılmıştır. 9. günde buğday gruplarına farklı oranlarda taurin ve/veya NaCl eklenerek farklı gruplara ayrılmıştır: Kontrol (taurin veya NaCl eklenmemiştir), 2T (2mM taurin eklenmiştir), 4T (4 mM taurin eklenmiştir), NaCl (100mM NaCl eklenmiştir), NaCl+2T (2mM taurin ve 100mM NaCl eklenmiştir), NaCl+4T (4mM taurin ve 100mM NaCl eklenmiştir). Stres indüksiyonu için kullanılan 100mM NaCl bitki gruplarının besiyerine eklenmiştir. Bu deney düzeneğindeki taurin dozları belirlenirken Hao ve arkadaşlarının (2004) çalışmasında kullanılan taurin dozları referans alınmıştır.

Taurin ve tuz uygulamaları besi yeri ortamına verilmiştir. Bu uygulamalardan 96 saat sonra hasat edilen bitkilerin kök ve gövde uzunlukları ölçülmüş ve ardından moleküler ve biyokimyasal parametrelerindeki farklılıklar belirlenmeye çalışılmıştır.

3.3.2.Çözünebilir protein miktarının ölçülmesi

Bradford (1976) yöntemine göre yapılan protein ölçümü için bitkilerin yapraklardan ayrı ayrı alınan 0.5gr'lık numuneler kullanılmıştır. Neticeler "mg protein/gr taze doku" olarak hesaplanır. Her bir gruba ait bitkilerin yaprakları küçük parçalara ayrılır. Bu küçük parçalara ayrılmış yapraklardan 0.5'er gr numune alınır. Homojenizasyon için numuneler 10 kat volümdeki 0.05 M fosfat tamponla (pH:6.5) havanda ezilir. Homojenat santrifüj tüplerine alındıktan sonra, 15.000 devir/dakikada 20dk. süresince santrifüj edilir. Tüplerin üst kısmındaki sıvı faz (süpernatant) protein ölçümü için kullanılır. Protein miktarı spektrofotometrik yöntemle ölçülür. Yöntem için gerekli standart grafiğin hazırlanması şu şekildedir; 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µg protein içerecek şekilde değişen hacimlerde 1ml'sinde 1 mg protein bulunduran standart sığır albumin çözeltileri tüplere aktarılıp, distile su ile son hacimler 0.2ml olacak şekilde tamamlanır. Bu tüplere ayrıca 3'er ml Coomassie reaktifi eklendikten sonra vorteks ile karıştırılır. Kör örnek olarak 3 ml Coomassie reaktifi ve 0.2 ml aynı tampondan oluşan karışım kullanılır. Standart grafik eldesi 595nm'deki spektrofotometrik absorbans değerlerine karşılık gelen protein değerlerinden yararlanarak sağlanır (Şekil 3.1). Standart grafiğin hazırlanmasında olduğu gibi, bitki yapraklarından elde edilen homojenize edilmiş numunelerden 0.2 ml alınıp, 3 ml Coomassie reaktifiyle karıştırılır ve 595 nm'de absorbansları ölçüldükten sonra, standart grafikten yararlanılarak, 0.2 ml özütteki protein miktarları belirlenir. Ardından, hesaplamalar yapılarak protein miktarları µg protein/g doku olarak tayin edilir.



Şekil 3.1. Protein tayini için kullanılan standart grafik

3.3.3. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

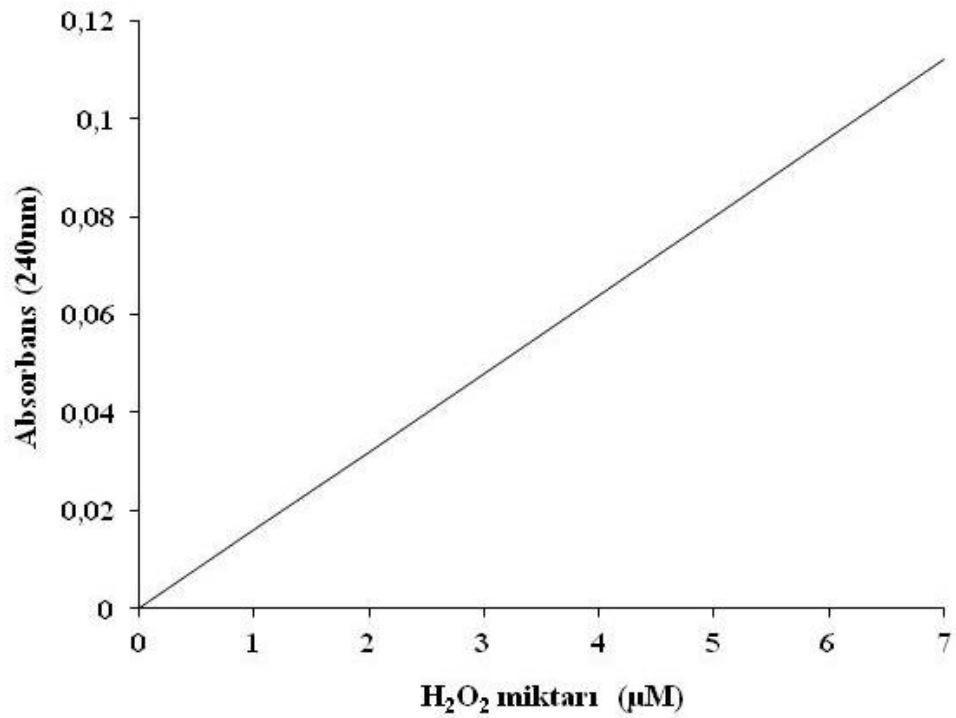
5 ml 0,1 M fosfat tamponunda 0.5'er gram yaprak örnekleri homojenize edilerek 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmı alınarak enzim kaynağı olarak kullanıldı.

CAT aktivitesinin belirlenmesi

CAT aktivitesinin belirlenmesi için Gong ve ark. (2001) uygulamış olduğu yöntem kullanıldı. Bu yöntem esas olarak, H_2O_2 'nin su ve oksijene dönüşümünü sağlayan katalaz enziminin bu dönüşümü sağlarken meydana gelen absorbans değişiminin 240 nm'de takibine dayanır.

H_2O_2 'nin azalan miktarını tespit etmek için öncelikle standart grafik hazırlandı. Standart grafik hazırlanması için, 0,15, 0,3, 0,45, 0,6, 0,75, 0,9, 1,05, 1,2, 1,35 ve 1,5 ml hacimlerinde 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 3 ml'lik spektrofotometre tüplerine sırasıyla konuldu. Tüplerin hacimleri 1,5 ml olacak şekilde distile su ile tamamlandı ve her tüpe 30 µl su ve 1,47 ml 103,5 mM KH_2PO_4 eklendi. Spektrofotometrede 240 nm'de absorbans köre karşı okundu ve absorbans değerlerine karşılık gelen µM H_2O_2 değerleri kullanarak standart grafik elde edildi (Şekil 3.2). Aktivite tayini amacıyla 40 mM'lık H_2O_2 substrat çözeltisinden 1,5 ml ve

103 mM KH_2PO_4 tamponundan 1,475 ml 3 ml'lik spektrofotometre küvetine konulduktan sonra, 25 μl enzim ekstraktı eklendi. 3 dakika boyunca 1 dakika aralıklarla spektrofotometrede 240 nm'de köre karşı absorbansı okunur ve dakika başına absorbans azalması absorbansın lineer şekilde azaldığı aralıktan hesaplanır. Standart grafik yardımıyla bu ortalama absorbans değerleri, μmol cinsinden H_2O_2 miktarına dönüştürüldü. 1 enzim ünitesi 25°C sıcaklıkta, absorbansı 1 dakika içinde 1 μmol azaltan enzim miktarı olarak değerlendirildi ve sonuçlar U.mg^{-1} protein olarak sunuldu.



Şekil 3.2. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

POD aktivitesinin belirlenmesi

POD aktivite ölçümü esas olarak, substratının guaikol ve H_2O_2 'nin olduğu ürününün ise renkli bir bileşiğin olduğu reaksiyon sonucunda meydana gelen absorbans artışının 470 nm'de takibine dayanmaktadır.

Bu aktivitenin tayini için spektrofotometre küvetine; 5mM H_2O_2 , 5 mM guaikol ve 100 ml 0,1 M, NaH_2PO_4 (pH: 5,5) içeren substrat çözeltisinden 3 ml aktarılıp, ardından 10 μl enzim ekstraktı eklendi. Absorbansın lineer şekilde artış

gösterdiği bölümdeki absorbans artışı, 5 dakika süresince 470 nm’de 1'er dakika periyotlarla not edilen absorbans artışına oranlandı. 1 enzim ünitesi 25°C sıcaklıkta, 1 dakika içinde, absorbansı 0,01 artıran enzim miktarı olarak kabul edildi ve sonuçlar $U.mg^{-1}$ protein olarak sunuldu (Ye *et al.* 2003; Erdal 2010).

SOD aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi esas olarak, $O_2^{\bullet}$ radikalleri ile fotokimyasal olarak indirgeyerek NBT'den (nitro blue tetrazolium) mavi renkli formazona oluşturan reaksiyonunun SOD enzimi tarafından engellenerek spektrofotometrik olarak belirlenmesine dayanır (Mutlu 2009).

Reaksiyon çözeltisi (3 ml); 13 μ M riboflavin, 63 μ M NBT, 13 mM metiyonin, 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7,8), ve 0,1 M Etilen Diamin Tetra Asetik Asit içerir. Aktivite tayini için yukarıdaki riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2,58 ml 3 ml spektrofotometre küvetine alınıp ve üzerine 30 μ L enzim ekstraktı pipetlendi. Ardından 13 μ M’lık riboflavin çözeltisinden 390 μ L tüp üzerine eklenip karıştırılmasının ardından, reaksiyon beyaz bir ışık kaynağı önünde başlatıldı. Işık kaynağının karşısında tüp 15 dakika tutuldu ve reaksiyon ışık kaynağının kapatılmasıyla durduruldu. 15 dakika içerisinde 560 nm’de köre karşı NBT’nin renk açılma yoğunluğu okundu. Kör; aynı prosedürün enzim içermeyen örneğinden oluşmaktadır. SOD enzim aktivitesinin 1 ünitesi 560 nm’de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı olarak kabul edildi. Sonuç değerler $U.mg^{-1}$ protein olarak sunuldu (Yordanova *et al.* 2004; Agarwal and Pandey 2004).

APX aktivitesinin tayini

290 nm’de absorbandsdaki azalışa göre APX aktivitesi belirlendi (Nakano and Asada 1981). APX aktivitesi, 5 mM H_2O_2 , 20 μ l enzim ekstraktı, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0) ve 250 μ M askorbik asit içeren 1 ml’lik reaksiyon solüsyonun ölçülmesiyle tespit edildi. 290 nm’de askorbik asit için 2,8 $mM^{-1}cm^{-1}$ epsilon katsayısının kullanılmasıyla APX aktivitesi hesaplandı. Sonuçlar $U.mg^{-1}$ protein olarak ifade edildi.

GR aktivitesinin tayini

GR aktivitesi Foyer ve Halliwell (1976)'e göre spektrofotometrik olarak belirlendi. 1 mM GSSG ve 0,25 mM NADPH substrat olarak kullanıldı. İndirgeyici faktör olarak NADPH kullanılarak enzim tarafından yükseltgenmiş glutatyon indirgendi. Aktivite ölçümü için, 200 µl 0,5 mM Etilen Diamin Tetra Asetik Asit içerisinde hazırlanmış olan 500 µl NADPH, 50 mM Tris-HCl (pH 7,8) ve 250 µl GSSG içeren karışıma 50 µl enzim ekstraktı eklendi. 5 dakika boyunca 340 nm'de NADPH oksidasyonunda azalmanın ölçülmesiyle belirlendi. GR aktivitesi U.mg⁻¹ protein şeklinde ifade edildi.

3.3.4. Lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesi (MDA)

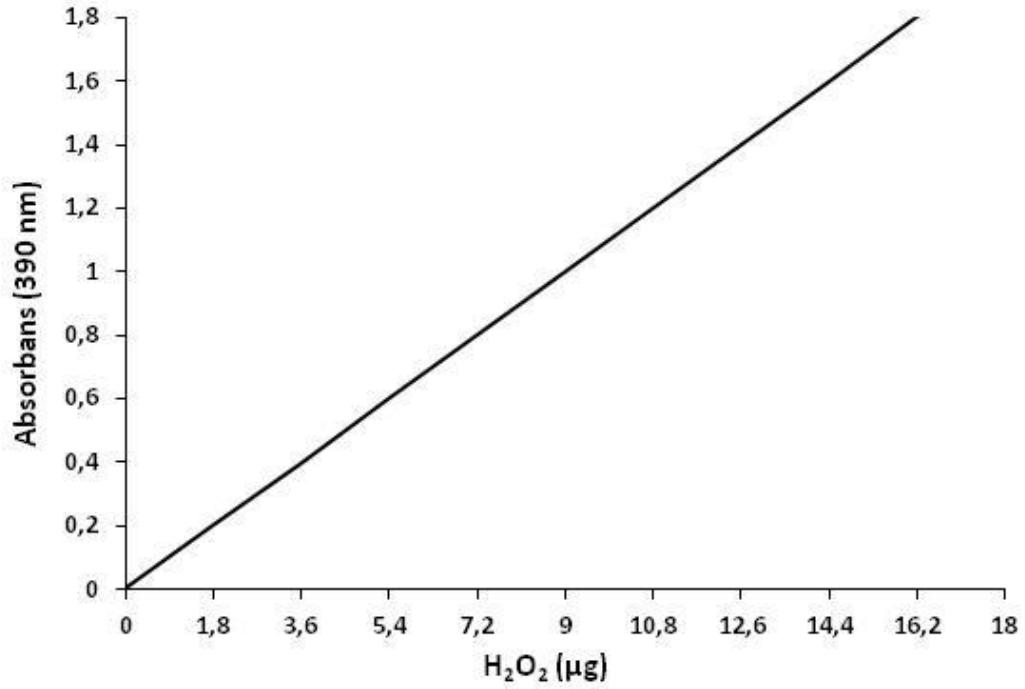
4 ml %0,1'lik TCA (trikloro asetik asit) içinde 0,5 gr taze yaprak örneklerinin homojenizasyonu sağlandı. Ardından 13.000 devir/dakikada 15 dakika süresince homojenat santrifüj edildi. 1 ml %0,5'lik TBA çözeltisine tüpün süpernatant kısmından 1 ml alınarak eklendi. Kaynar suda 40 dakika reaksiyon karışımı inkübe edildi ve tüplerin buz banyosuna alınmasıyla reaksiyon durduruldu. Örnekler 12.000 devir/dakikada 5 dakika süresince santrifüj edilerek süpernatant kısmı alındı ve 532 nm absorbans değeri ve 600 nm deki spesifik olmayan absorpsiyon için absorbans değeri okundu.

600 nm'de belirlenen absorbans değeri ile 532 nm'de ölçülen değer arasındaki fark ve 1 ml çözeltideki MDA (nmol/µl): $[(A_{532}-A_{600})/155000] \times 106$ formülüyle lipid peroksidasyonun hesaplandı. MDA (nmol.g⁻¹ doku) olarak sonuçlar sunuldu (Heath and Packer 1968; Jaleel *et al.* 2008; Erdal 2010).

3.3.5. H₂O₂ miktarının belirlenmesi

5 ml soğuk %0,1 TCA ile bitki dokusundan alınan 0.5 gr örnekler homojenize edildikten sonra homojenat 12 000g'de 15 dakika süresince santrifüj edilmiştir. Sonrasında 0,5 ml 10 mM KH₂PO₄ (pH: 7,0) solüsyonu ve 1ml KI elde edilen süpernatantın 0,5 ml'sine eklendi. Absorban değerleri 390 nm'de ölçülerek not edilmiştir. Standart grafikte oranlanan sonuçlar hesaplanarak H₂O₂ miktarı (µg.g⁻¹ doku) olarak sunulmuştur (Velikova *et al.* 2000).

Standart grafiğın hazırlamak için, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 ve 18 μg H_2O_2 olacak şekilde eppendorf tüplerine sırasıyla H_2O_2 çözeltisinden ölçülerek aktarıldı. 10 mM KH_2PO_4 (pH: 7,0) tamponuyla tüpteki hacim 1 ml olacak şekilde tamamlandı. Ardından her tüpe 1ml KI ilave edilmiştir. 390 nm’de köre karşı absorbans değerleri okunmuştur. Standart grafik, absorbans değerlerine karşılık gelen μg H_2O_2 değerleri kullanarak oluşturulmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. H_2O_2 miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

3.3.6.Total klorofil içeriğinin belirlenmesi

Buğday bitkisinin yapraklarındaki klorofil a, klorofil b, karotenoid, toplam pigment miktarlarını belirlemek amacıyla Witham ve ark. (1971) yöntemi uygulandı. 1'er gram buğday bitkisi yaprak örnekleri tartıldı ve %80'lik soğuk aseton içerisinde son hacim 10 ml olacak şekilde homojenize edildi. Ardından homojenat filtre kağıdından süzülerek elde edilen ekstrakt 3000 rpmde 5 dk santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantlar alınarak 450, 645 ve 663 nm’de absorbans değerleri kaydedildi. Süpernatantların üç farklı dalga boyunda kaydedilen absorbans değerleri aşağıda verilen eşitliklerde yerine konulmasıyla bitki yaprak dokusunun 1 g’da bulunan klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid miktarları mg/doku olarak hesaplandı.

mg/klorofil a/gr doku= $(V/1000 \cdot W) \cdot ((12,7 \cdot (D663) - 2,69 \cdot (D645)))$

mg klorofil b/gr doku= $(V/1000 \cdot W) \cdot ((22,9(D645) - 4,68 \cdot (D663)))$

mg toplam klorofil/gr doku= $(V/1000 \cdot W) \cdot ((20,2 \cdot (D645) + 8,02(D663)))$

mg toplam karotenoid/gr doku= $(4,07 \cdot D450) - (0,0435 \cdot \text{klorofil a miktarı} + 0,367 \cdot \text{klorofil b miktarı})$

Eşitliklerde: W, ekstre edilen dokunun gram olarak yaş ağırlığını; V, %80'lik asetonun son hacmini; D, klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerini göstermektedir.

3.3.7.SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS PAGE)

Laemmli (1970) yöntemi ile bitki protein örnekleri %4-10 kesikli sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel elektroforezinde (SDS-PAGE) yürütüldü. Bunun için elektroforez plakaları önce su, sonra alkol ile iyice yıkandı. İki cam plaka birbiri üstüne konulur ve kısıkaçlarla tutturularak jel hazırlama cihazına konuldu. Ayırma jeli hazırlanarak plakalar arasına enjektörle aktarıldı. Bu işlemler yapılırken hava almamasına dikkat edildi. Jel yüzeyinin düzgün olması için izopropil alkol ile ince bir tabaka oluşturuldu. Polimerleşinceye kadar yaklaşık yarım saat beklendi. Polimerizasyon bittikten sonra üzerindeki izopropil alkol döküldü. Daha sonra yığma jel üst yüzeye kadar ilave edildi. Yaklaşık 45 dakika sonrasında tarak özenle çıkarıldıktan sonra plakalar elektroforez tankına konuldu. Oluşan boşluklar işaretlenip jelin üstüne önce distile su, ardından da yürütme tamponu ile yıkama işlemi uygulandı. Elektroforez tankının alt ve üst kısmına yürütme tamponu konuldu. Örnekler her birinde 20 µg protein içerecek şekilde hazırlandı. Toplam hacim 100 µl olacak şekilde 1 e 1 oranında örnek tamponu eklendi. 5 dakika süresince kaynar su banyosunda inkübe edildi. Örnekler soğutularak, elektroforez çok ince bir enjektör vasıtasıyla uygulandı. Tank kapağı kapatılarak (+) (anot) kablo ve (-) (katot) kablo yerleştirildi. Önce 80 voltluk akım 30 dk geçirildi. Ardından akım 120 volta yükseltilerek 2-4 saat süresince oda sıcaklığında tatbik edildi. Akım kesilerek, cam plakalar arasındaki jel itinayla çıkarıldı.

Yığıma jeli hazırlanması sırasında 1 M'lık Tris-HCl (pH: 6,8)'den 380 µl, %30'luk akrilamid-%0,8'lik bisakrilamid'den 400 µl, %10'luk SDS'den 30 µl, %5'lik TEMED'den 3 µl ve saf sudan 2,2 ml alınarak karıştırıldı. Son olarak yine günlük hazırlanmış %10'luk amonyum persülfat (NH₄)₂S₂O₈ (PER)'den 30 µl, ilave edildi.

Ayırma jelinin hazırlanışı: 2,03 ml 1M Tris-HCl (pH: 8,8), 2,67 ml %30'luk akrilamid, %0,8'lik bisakrilamid, 80 µl %10 SDS, 3,2 µl %5'lik TEMED (N,N,N',N'-tetrametil etilen daimin) ve 3,15 ml su karıştırıldı. Bu solüsyon karışımına en son olarak 80 µl % 10'luk PER eklendi. Burada kullanılan PER kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlandı.

3.3.8.PAGE ile izoenzimlerin belirlenmesi

Poliakrilamid jeller SDS-PAGE jelleri aynı şekilde hazırlandı ancak jel ortamına SDS katılmadan hazırlandı. İzoenzimler belirlenirken antioksidan enzim aktiviteleri için kullanılan enzim ekstraktlarına %20 gliserol eklendi ve içerisinde 50-300 µg protein olacak şekilde hazırlanıp kuyucuklara yüklendi. Çalışmalarda %4 yığıma jeli çalışılan enzime göre %8, 10 ve 11 ayırma jeli kullanıldı. Yürütme tamponu (18,76 glisin ve 3,02 g Tris, 1 L, pH 8,3) kullanılarak +4°C'de, 80-120 Voltta 3-4 saat yürütüldü. Yürütme tamponuna askorbat peroksidaz için 2 mM askorbik asit ilave edildi.

SOD izoenzimlerinin belirlenmesi

SOD izoenzimleri için %4-10 kesikli poliakrilamid jel kullanıldı. SOD izoenzimleri Beuchamp and Fridovich (1973) tarafından tanımlanan poliakrilamid jel elektroforezi ile belirlendi. Jel Elektroforezden çıkarıldıktan sonra 0,24 mM NBT, 33,2 µM riboflavin, %0,2 TEMED ve 1 mM Etilen Diamin Tetra Asetik Asit içeren 0,05 M potasyum fosfat tamponunda (pH 7,8) 37°C'ye ayarlı etüvde karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra jel, 1 mM EDTA içeren 0,05 M potasyum fosfat tamponuna (pH 7,8) alındı ve aydınlatılmış bir ortamda izoenzimlerin görülebilmesi için 10-30 dakika bekletildi. Saf su ile yıkandıktan sonra jeldeki bantların görüntüsü kaydedildi.

POD izoenzimlerinin belirlenmesi

POD izoenzimleri Liu (1973) tarafından tanımlanan yöntemle belirlenir. Elektroforez sonucunda çıkarılan jel dikkatli bir şekilde 0,2 M sodyum asetat (pH 5,0), 30 mM H₂O₂ ve 10 mM guaiakol içeren çözeltiye alınarak yarım saat inkübe edildi ve daha sonra % 30'luk etil alkolde muhafaza edilir.

APX izoenzimlerinin belirlenmesi

PAGE ile askorbat peroksidaz izoenzimleri Lee and Lee (2000) tarafından tanımlanan yöntemle %4-11 kesikli jel ile belirlendi. Elektroforezden sonra jel dikkatli bir şekilde çıkarılıp 2 mM askorbik asit içeren sodyum fosfat tamponuna (pH 7,0) alınarak 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra jel, 4 mM askorbik asit ve 2 mM H₂O₂ içeren aynı tampon içerisinde 20 dakika inkübe edildi. Bundan sonra, 28 mM TEMED, 2,4 mM NBT içeren 50 mM sodyum-fosfat (pH 7,8) tamponu içerisine alınarak 10-20 dakika bekletilen jel son olarak saf su ile yıkandı ve izoenzim bantları belirlendiğinde jel saf su ile yıkandı. Koyu zemin üzerinde açık renk olarak kendini belli eden APX izoenzim bantlarının görüntüsü kaydedildi.

3.3.9.Nispi su içeriği

Hasat edilen buğday bitkilerinin her saksısından 2,5 g yaş ağırlık tartılıp 70°C'ye ayarlı olan etüve yerleştirilerek 72 saat bekletilerek ağırlıklarının sabitlenmesi beklendi. Ağırlıkları sabitlenen örnekler tekrar tartılarak kuru ağırlıkları belirlendi ve her gruptaki bitkilerin yapraklarındaki nispi su içeriği hesaplandı.

3.3.10.İnorganik element analizi

Hasat edilen buğday bitkilerinin her saksısından 2,5 gram yaş ağırlık tartılıp 70°C'ye ayarlı olan etüve yerleştirilerek 72 saat bekletilerek ağırlıklarının sabitlenmesi beklendi. Daha sonra numuneler havanda toz haline getirilerek 0,3 g tartıldı ve üzerlerine 10 ml 0,1 N HCL içerisinde 24 saat bekletildikten sonra ICP cihazında element analizleri yapıldı.

3.3.11.İstatistiksel analiz

Her uygulamadan üç paralel örnek alınmış ve her örnekten 2 tekrar yapıldıktan sonra elde edilen 6 değerin ortalaması sonuç olarak sunulmuştur. Sonuçların kıyaslanması için, SPSS 20 paket programı aracılığıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. $p < 0.05$ önem seviyesinde Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak belirlendi.



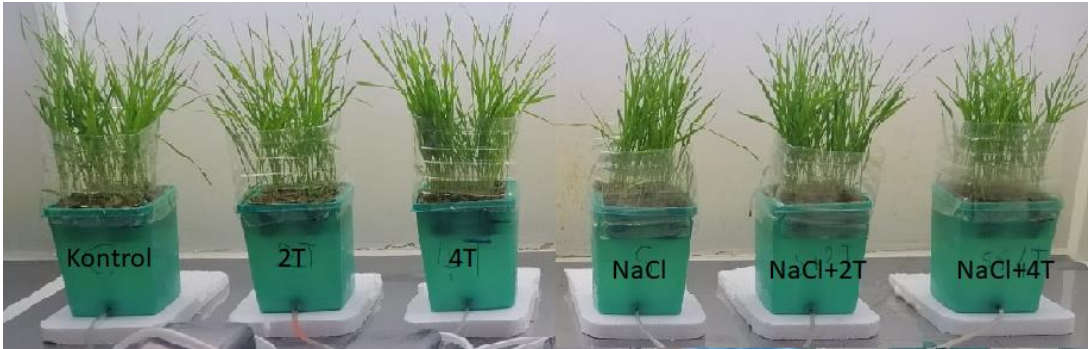
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bitki Büyümesi Üzerine Taurinin Etkisi

Dokuz gün boyunca uygun koşullarda yetiştirilen bitki gruplarına (Şekil 4.1) 9. gün sonunda, literatür verilerinden yararlanarak, şu şekilde uygulamalar yapılmıştır: 2T, 4T isimli buğday bitki gruplarına sırasıyla 2mM ve 4mM taurin, NaCl, NaCl+2T, NaCl+4T isimli buğday bitki gruplarına sırasıyla 100mM NaCl, 100mM NaCl+2mM taurin ve 100mM NaCl+4mM taurin uygulanmıştır. Uygulamadan 96 saat sonra (Şekil 4.2) hasat edilen bitkilerin kök ve gövde uzunlukları cm cinsinden ölçülmüştür.



Şekil 4.1. 9 günlük (uygulamaların yapıldığı gün uygulama öncesi) buğday bitkilerinin genel görünümü



Şekil 4.2. 13 günlük (uygulamalardan 4 gün sonra) buğday bitkilerinin genel görünümü

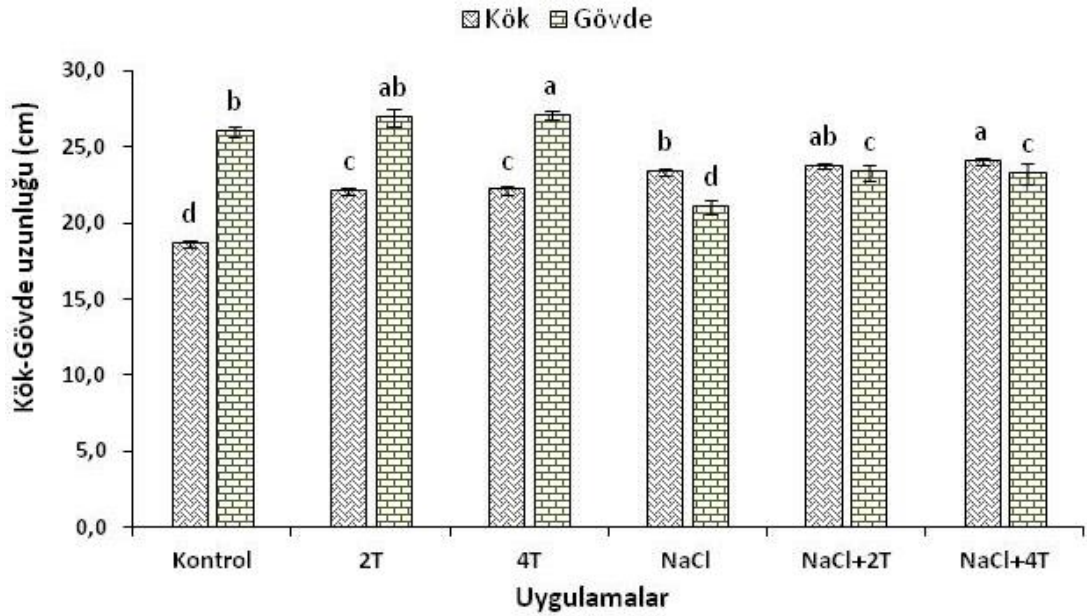
Kontrol grubu bitkilerinde kök ve gövde uzunlukları sırasıyla 18,7cm ve 26,1cm'dir. Kontrol grubuna kıyasla 2T grubunda sırasıyla %18,18 ve %3,07 artış; 4T grubunda ise sırasıyla %18,72 ve 3,83 artış tespit edilmiştir. NaCl grubunda ise kontrol grubuna kıyasla kök uzunluğunda %25,13 artış, gövde uzunluğunda %19,16

azalma olacak şekilde 23,4cm ve 21,1cm ölçülmüştür. Taurin verilen NaCl gruplarında sadece NaCl verilen gruba göre kök uzunluğunda %1,28-2,56 artış, gövde uzunluğunda ise %10,43-9,95 artış saptanmıştır. (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3)

Çizelge 4.1. Buğday bitkisinde uygulamalara göre kök-gövde uzunluğundaki değişim

Uygulamalar	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)
Kontrol	18,7 ± 0,21d*	26,1 ± 0,35b*
2T	22,1 ± 0,20c	26,9 ± 0,57ab
4T	22,2 ± 0,25c	27,1 ± 0,30a
NaCl	23,4 ± 0,25b	21,1 ± 0,49d
NaCl+2T	23,7 ± 0,15ab	23,3 ± 0,50c
NaCl+4T	24,0 ± 0,21a	23,2 ± 0,70c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.3. Tuz stresi altındaki buğday bitkisine taurin uygulamalarının kök-gövde uzunluğu üzerine etkisi

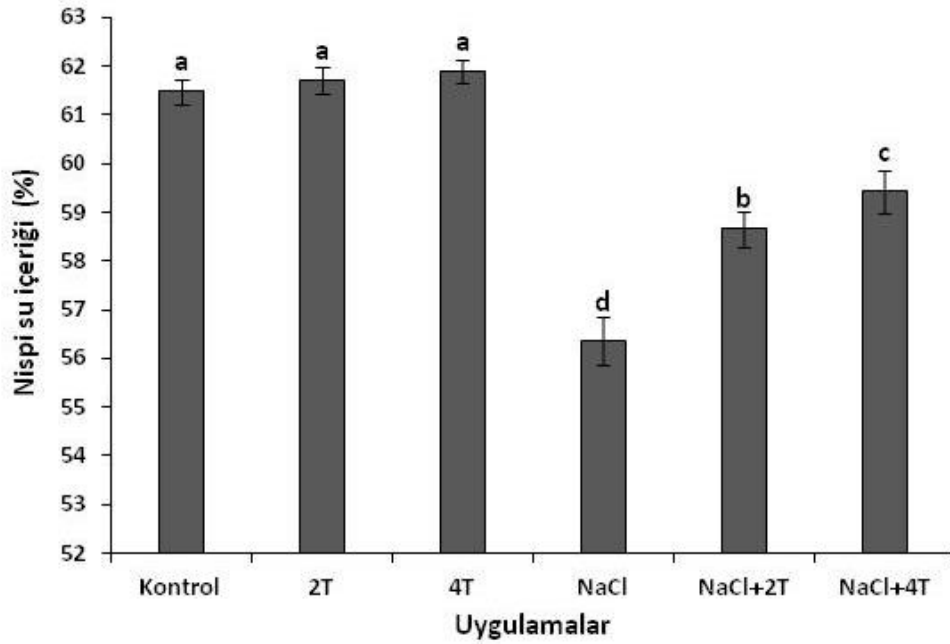
4.2. Nispi Su İçeriği Üzerine Taurinin Etkisi

Buğday bitkisinin yapraklarında nispi su içeriğine bakılmış, kontrol, 2T ve 4T grupları bitkilerinde bu içerik sırasıyla %61,48 %61,71 ve %61,90 olarak belirlenmiştir. NaCl grubunda ise kontrole kıyasla %8,33 azalma ile %56,36'lık nispi su içeriği tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre %4,06 ve %5,45 daha fazla nispi su içeriği saptanmıştır (Çizelge 4.2). Taurin miktarına göre bitkilerin nispi su içeriğinde artış Şekil 4.4'te görülmektedir.

Çizelge 4.2. Buğday bitkisinde uygulamalara göre nispi su içeriğindeki değişim

Uygulamalar	Nispi Su İçeriği (%)
Kontrol	61,48 ± 0,26a*
2T	61,71 ± 0,28a
4T	61,90 ± 0,25a
NaCl	56,36 ± 0,48d
NaCl+2T	58,65 ± 0,37b
NaCl+4T	59,43 ± 0,43c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.4. Tuz stresi altındaki buğday bitkisine taurin uygulamalarının nispi su içeriği üzerine etkisi

4.3. Pigment İçeriği Üzerine Taurinin Etkisi

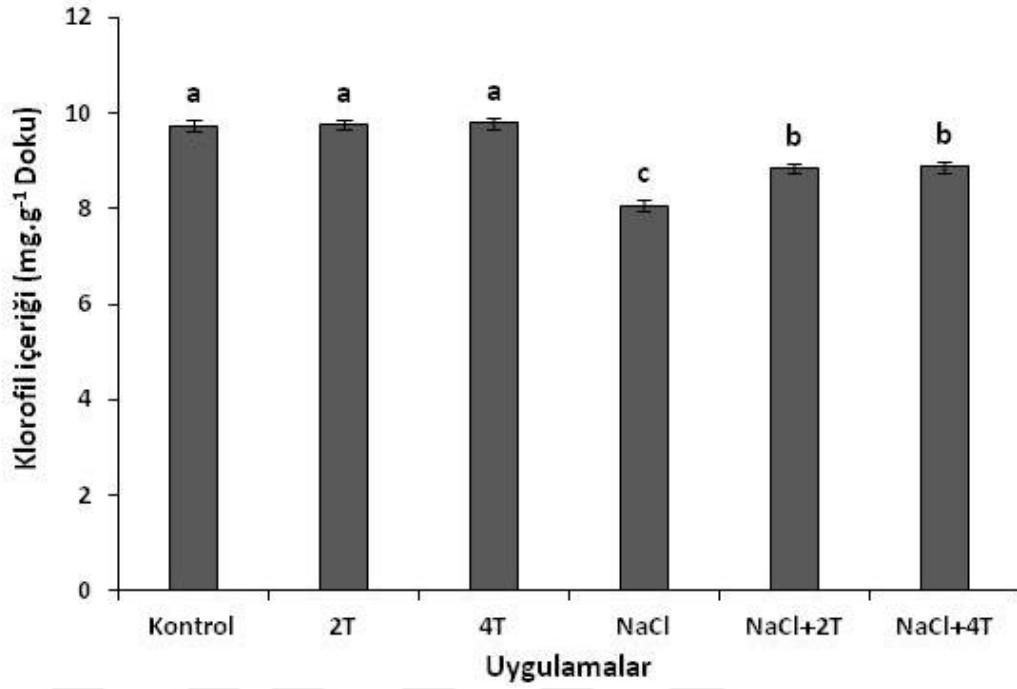
4.3.1. Total klorofil içeriği üzerine taurinin etkisi

Buğday bitkisinin yapraklarında toplam klorofil içeriğine bakılmış ve NaCl eklenmemiş gruplarda 9,76-9,79 mg/g toplam klorofil içeriği tespit edilmiştir. NaCl grubunda kontrol grubuna göre %17,25 daha az olacak şekilde 8,06mg/g toplam klorofil içeriği saptanmıştır. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %9,8 ve %10,05 artış izlenerek 8,85 mg/g ve 8,87 mg/g toplam klorofil içeriği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Taurin miktarına göre bitkilerin toplam klorofil içeriğindeki artış Şekil 4.5'te görülmektedir.

Çizelge 4.3. Buğday bitkisinde uygulamalara göre toplam klorofil içeriğindeki değişim

Uygulamalar	Toplam Klorofil İçeriği (mg. g ⁻¹ doku)
Kontrol	9,74 ± 0,121a*
2T	9,76 ± 0,110a
4T	9,79 ± 0,110a
NaCl	8,06 ± 0,126c
NaCl+2T	8,85 ± 0,085b
NaCl+4T	8,87 ± 0,105b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.5. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde total klorofil içeriği üzerine etkisi

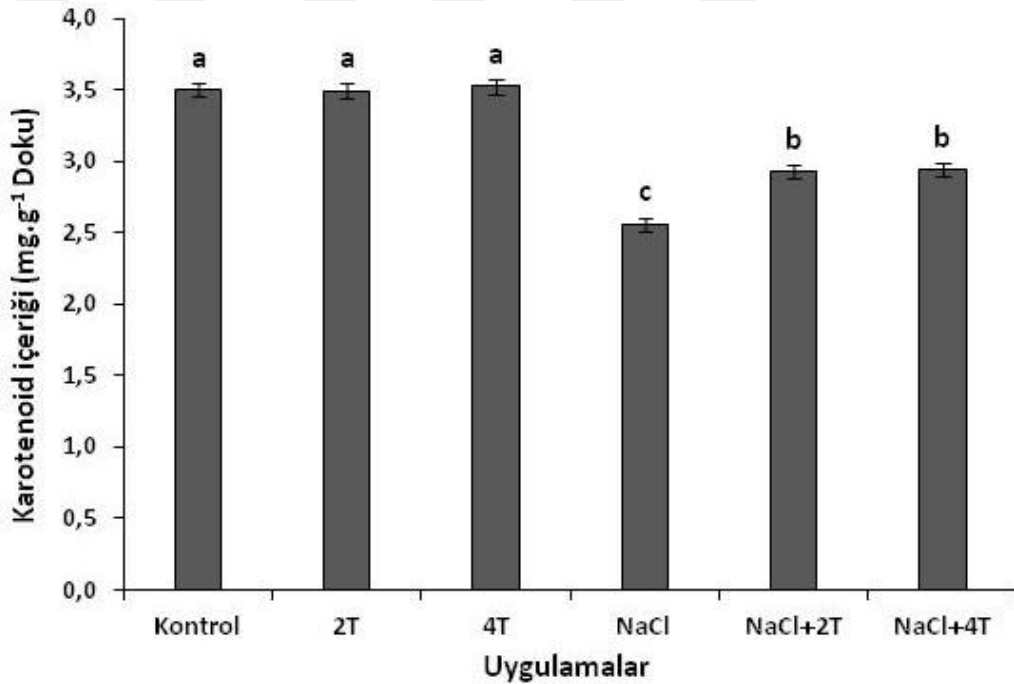
4.3.2. Toplam karotenoid içeriği üzerine etkisi

Buğday bitkisinin yapraklarında toplam karotenoid içeriği NaCl eklenmemiş gruplarda 3,50-3,53 mg/g tespit edilmiştir. NaCl grubunda kontrol grubuna göre %27,07 daha az olacak şekilde 2,56 mg/g toplam karotenoid içeriği saptanmıştır. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %14,45 ve %14,84 artış izlenerek 2,93 mg/g ve 2,94 mg/g toplam karotenoid içeriği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Bitkilerin toplam karotenoid içeriğinin NaCl içermeyen gruplarda aynı kaldığı, NaCl içeren grupta taurin ile artış gösterdiği Şekil 4.6'da izlenmektedir.

Çizelge 4.4. Buğday bitkisinde uygulamalara göre toplam karotenoid içeriğindeki değişimi

Uygulamalar	Karotenoid İçeriği (mg. g ⁻¹ doku)
Kontrol	3,51 ± 0,045a*
2T	3,50 ± 0,049a
4T	3,53 ± 0,053a
NaCl	2,56 ± 0,045c
NaCl+2T	2,93 ± 0,045b
NaCl+4T	2,94 ± 0,047b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.6. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde toplam karotenoid içeriği üzerine etkisi

4.4. Çözünabilir Protein İçeriği Üzerine Tuz ve Taurinin Etkisi

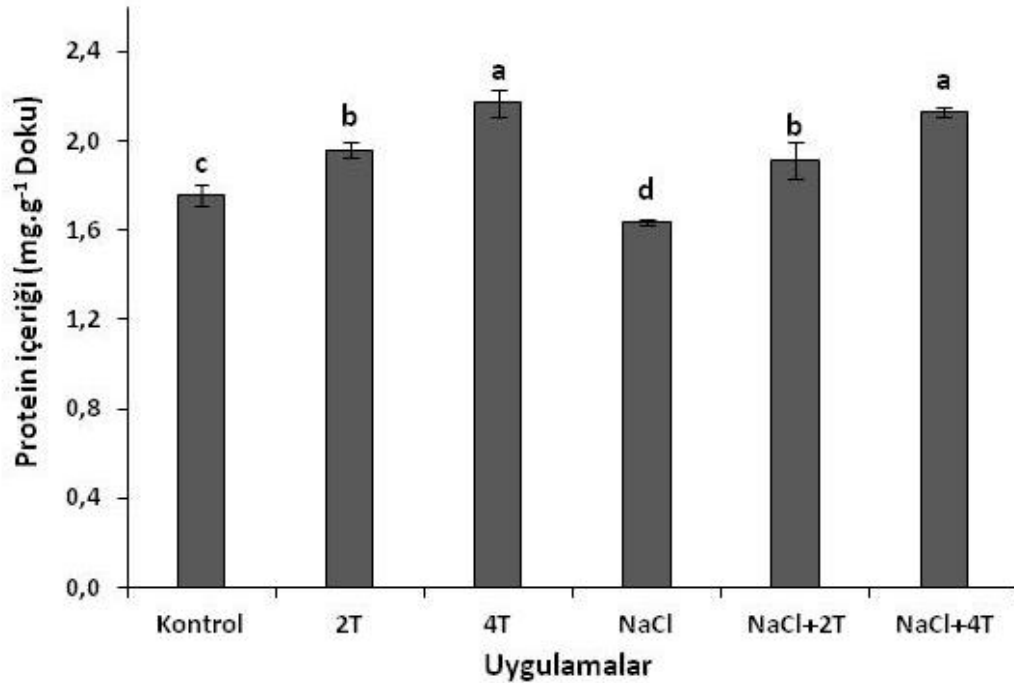
Buğday bitkisinde çözünabilir protein içeriği taurin eklenmesiyle konsantrasyon bağımlı olarak artış göstermektedir. Kontrol grubunda 1,76 mg/g tespit edilen çözünabilir protein, 2T grubunda %11,26 artarak 1,96 mg/g, 4T

grubunda ise %23,3 artarak 2,17 mg/g olmuştur. NaCl grubunda kontrole göre %6,82 azalış ile 1,64 mg/g olarak tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %17,07 ve %29,88 artış göstererek 1,92 ve 2,13 mg/g değer elde edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7).

Çizelge 4.5. Buğday bitkisinde uygulamalara göre çözünebilir protein içeriğindeki değişim

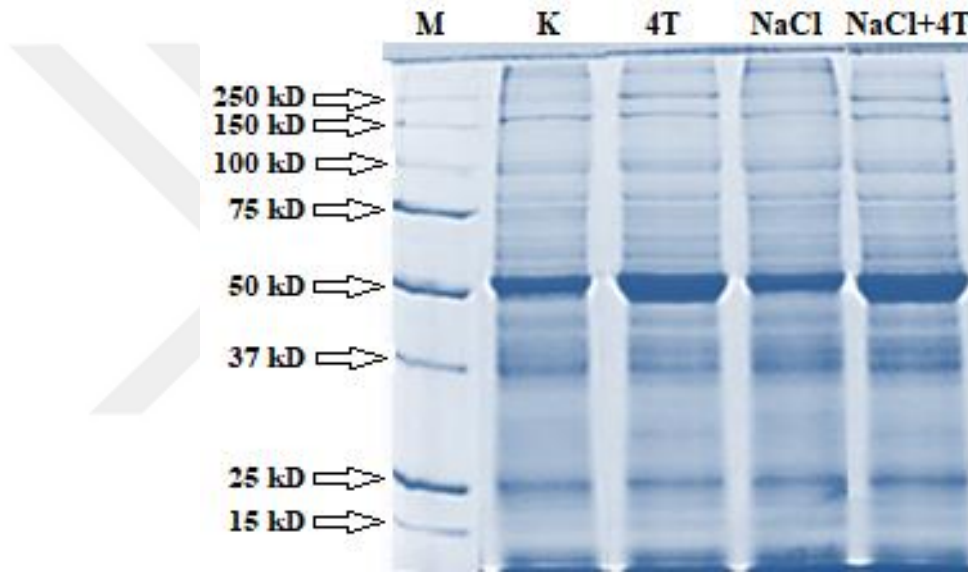
Uygulamalar	Çözünebilir Protein İçeriği (mg.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	1,76 ± 0,05c*
2T	1,96 ± 0,04b
4T	2,17 ± 0,06a
NaCl	1,64 ± 0,02d
NaCl+2T	1,92 ± 0,08b
NaCl+4T	2,13 ± 0,02a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.7. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde çözülebilir protein içeriği üzerine etkisi

Kök gövde uzunlundağı değişimler ve lipid peroksidasyon verileri dikkate alınarak gerek stressiz gerekse tuz stresi altındaki bitkilerin gelişimini arttırmada en etkili uygulama olduğu tespit edilen 4 mM taurin uygulaması ile SDS-PAGE protein profili belirlenmiştir. Şekil 4.8'te de görülebilebileceği gibi kontrol uygulmasına göre 4T uygulaması protein profilinde önemli değişimlere neden olmuştur. Bu uygulama 50 kDa molekül ağırlığına karşılık gelen protein bantlarında önemli artışa neden olmuştur. Diğer taraftan tuz uygulaması ise özellikle 50 kDa civarındaki protein bantları ciddi oranda azalırken tuz ile birlikte uygulanan taurin bu bantların yoğunluğunu tekrar arttırmıştır.



Şekil 4.8. Protein profilinin uygulamalara göre değişimi (M;marker)

4.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve İzoenzimler Üzerine Etkileri

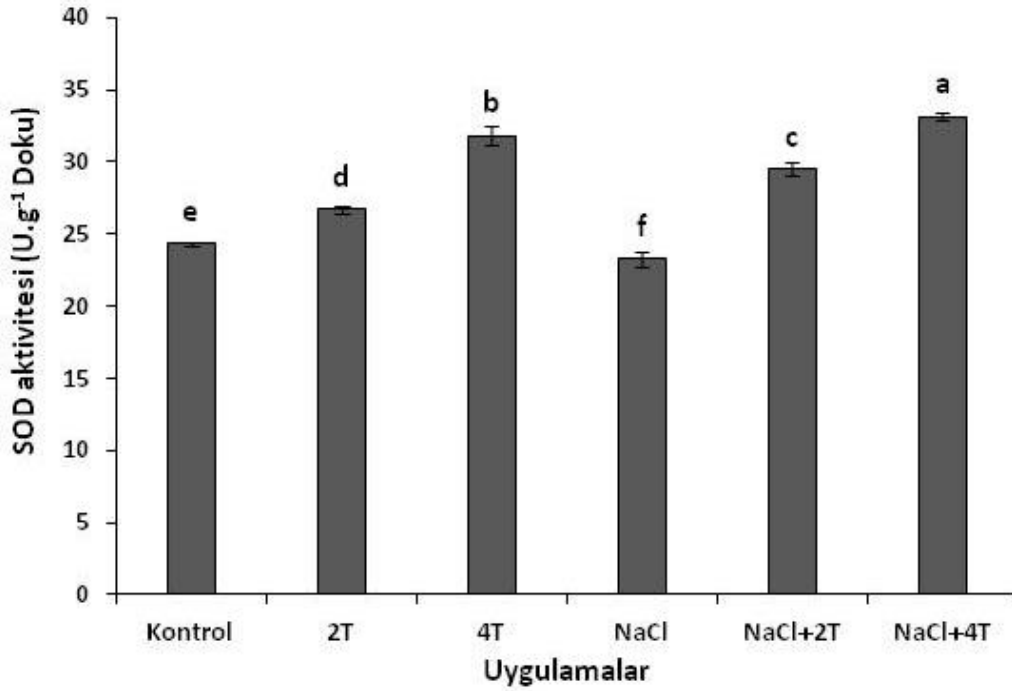
4.5.1.SOD aktivitesi ve izoenzimleri üzerine etkisi

Buğday bitkisinin kontrol grubunda SOD aktivitesi 24,37 U/mg protein düzeyindeyken 2T ve 4T gruplarında sırasıyla %9,77 ve 30,57 artarak 26,75 ve 31,82 U/mg protein ölçülmüştür. NaCl grubunda ise kontrol grubuna göre SOD aktivitesinde %4,51 azalma ile 23,27 U/mg protein değeri tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %26,95 ve %42,42 artış göstererek 29,54 ve 33,14 U/mg protein değerleri elde edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.9).

Çizelge 4.6. Buğday bitkisinde uygulamalara göre SOD aktivitesinin değişimi

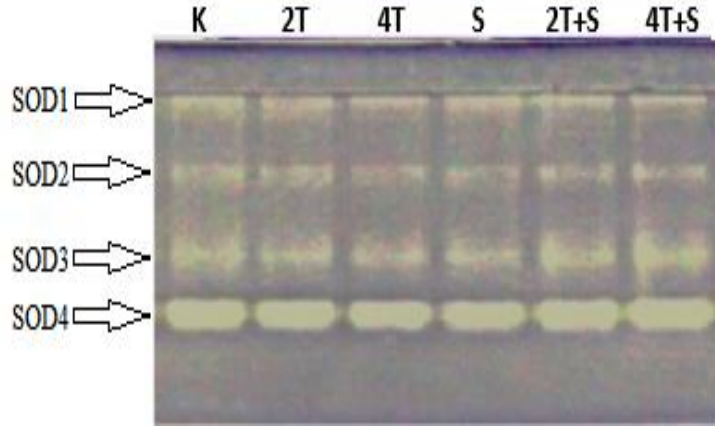
Uygulamalar	SOD aktivitesi U.mg protein ⁻¹
Kontrol	24,37 ± 0,14e*
2T	26,75 ± 0,28d
4T	31,82 ± 0,66b
NaCl	23,27 ± 0,52f
NaCl+2T	29,54 ± 0,44c
NaCl+4T	33,14 ± 0,26a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.9. Taurin uygulamalarının SOD aktivitesi üzerine etkileri

Buğday bitkisine taurin uygulamasının SOD izoenzimleri üzerine etkisi Şekil 4.10'da gösterilmiştir. SOD3 ve SOD4'ün bant kalınlığı, NaCl grubunda kontrole göre azalırken NaCl+T gruplarında ise NaCl grubuna göre bant kalınlığında artış tespit edilmiştir. SOD1 ve SOD2'de ise NaCl grubunda kontrole göre azalma mevcutken NaCl+T gruplarında NaCl grubuna göre önemli bir değişiklik görülmemiştir.



Şekil 4.10. Buğday bitkisine taurin uygulamasının SOD izoenzimleri üzerine etkisi

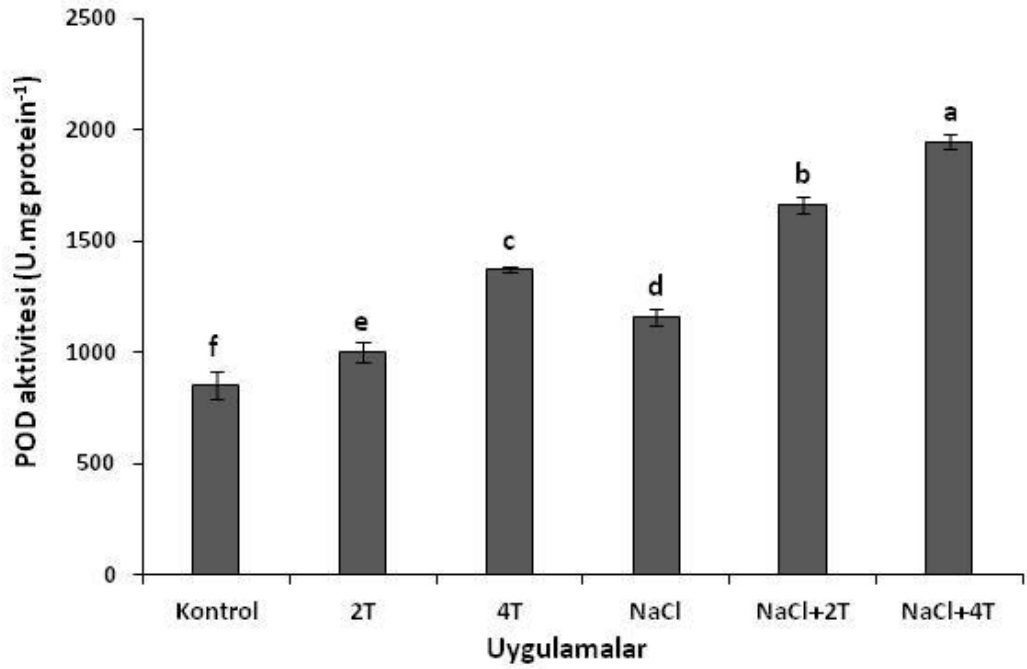
4.5.2. POD aktivitesi üzerine etkisi

Buğday bitkisinin kontrol grubunda POD aktivitesi 857 U/mg protein düzeyindeyken 2T ve 4T gruplarında sırasıyla %17,04 ve %60,68 artarak 1003 ve 1377 U/mg protein ölçülmüştür. NaCl grubunda ise kontrol grubuna göre POD aktivitesinde %35,36 artış ile 1160 U/mg protein değeri tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %43,36 ve %67,76 artış göstererek 1663 ve 1946 U/mg protein değerleri elde edilmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.11).

Çizelge 4.7. Buğday bitkisinde uygulamalara göre POD aktivitesinin değişimi

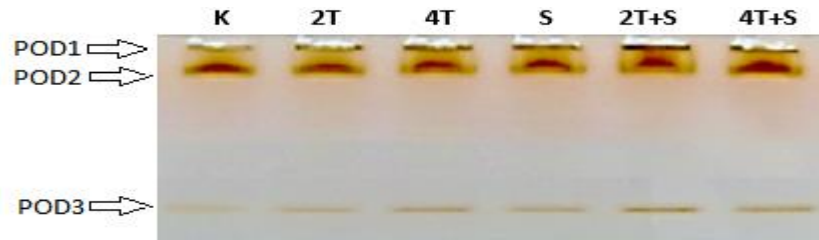
Uygulamalar	POD aktivitesi (U.mg protein ¹)
Kontrol	857 ± 60f*
2T	1003 ± 47e
4T	1377 ± 13c
NaCl	1160 ± 38d
NaCl+2T	1663 ± 36b
NaCl+4T	1946 ± 33a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.11. Taurin uygulamalarının POD aktivitesi üzerine etkileri

Buğday bitkisine taurin uygulamasının POD izoenzimleri üzerine etkisi Şekil 4.12'te gösterilmiştir. POD2 ve POD3'ün bant kalınlığı, NaCl grubunda kontrole göre artmıştır. NaCl+T gruplarında da NaCl grubuna göre artış tespit edilmiştir. POD1'de çok belirgin olmamakla birlikte POD2 ve POD3'e paralel değişiklikler gözlenmiştir.



Şekil 4.12. Buğday bitkisine taurin uygulamasının POD izoenzimleri üzerine etkisi

4.5.3.CAT aktivitesi üzerine etkisi

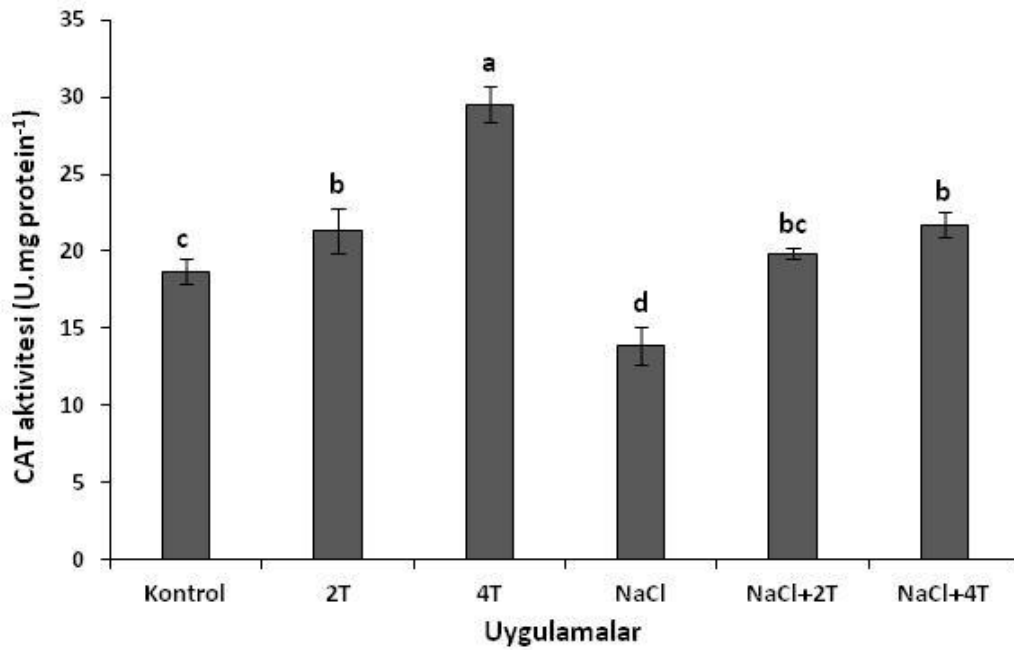
Buğday bitkisinin kontrol grubunda CAT aktivitesi 18,7 U/mg protein düzeyindeyken 2T ve 4T gruplarında sırasıyla %14,12 ve %58,07 artarak 21,34 ve 29,56 U/mg protein ölçülmüştür. NaCl grubunda ise kontrol grubuna göre CAT aktivitesinde %25,78 azalma ile 13,88 U/mg protein değeri tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %42,94 ve %56,63

artış göstererek 19,84 ve 21,74 U/mg protein değerleri elde edilmiştir. (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.13)

Çizelge 4.8. Buğday bitkisinde uygulamalara göre CAT aktivitesinin değişimi

Uygulamalar	CAT aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	18,70 ± 0,81c*
2T	21,34 ± 1,81b
4T	29,56 ± 0,55a
NaCl	13,88 ± 1,61d
NaCl+2T	19,84 ± 0,34bc
NaCl+4T	21,74 ± 1,25b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.13. Taurin uygulamalarının CAT aktivitesi üzerine etkileri

4.5.4.APX aktivitesi ve izoenzimleri üzerine etkisi

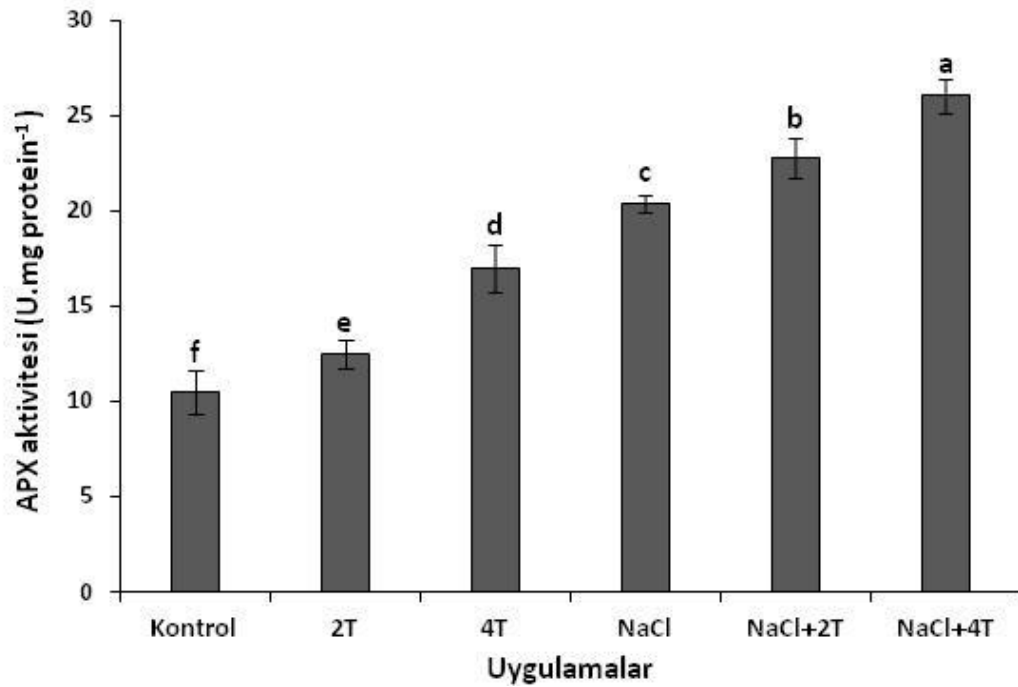
Buğday bitkisinin kontrol grubunda APX aktivitesi 10,5 U/mg protein ölçülmüş olup 2T, 4T, NaCl, NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında sırasıyla %18,57, %62, %93,9, %116,95 ve %148 artışla 12,45, 17,01, 20,36, 22,78 ve 26,04 U/mg

protein düzeyleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). APX'in taurin konsantrasyonlarına ve NaCl eklenmesine göre artan değerleri Şekil 4.14'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Buğday bitkisinde uygulamalara göre APX aktivitesinin değişimi

Uygulamalar	APX aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	10,50 ± 1,11f*
2T	12,45 ± 0,76e
4T	17,01 ± 1,23d
NaCl	20,36 ± 0,45c
NaCl+2T	22,78 ± 1,02b
NaCl+4T	26,04 ± 0,92a

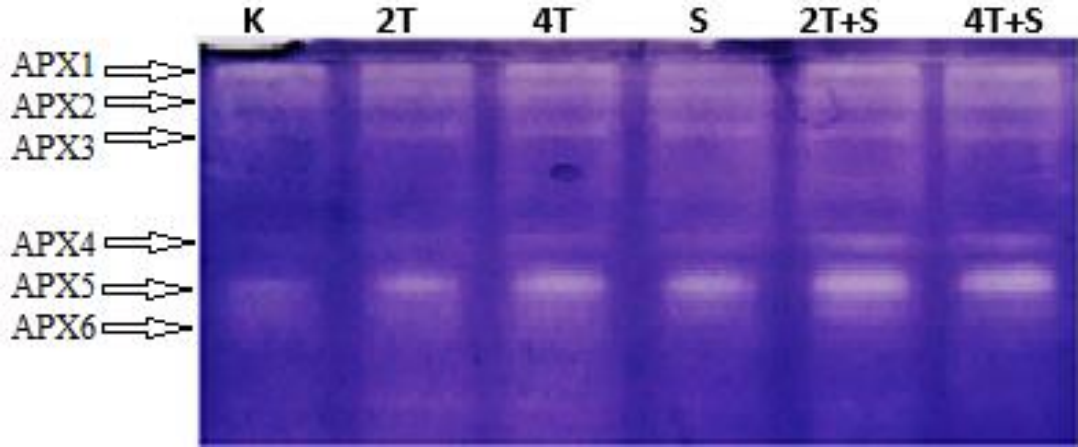
* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.14. Taurin uygulamalarının APX aktivitesi üzerine etkileri

Buğday bitkisine taurin ve NaCl uygulamasının APX izoenzimleri üzerine etkisi Şekil 4.15'te gösterilmiştir. APX1 ve APX6'da daha az belirgin olmakla birlikte tüm APX izoenzimlerinde kontrole kıyasla NaCl grubunda bant kalınlığı

artışı mevcuttur. NaCl grubuna kıyasla NaCl+T gruplarında ise APX1, APX4 ve APX5'te belirgin kalınlık artışı tespit edilmiştir.



Şekil 4.15. Buğday bitkisine taurin uygulamasının APX izoenzimleri üzerine etkisi

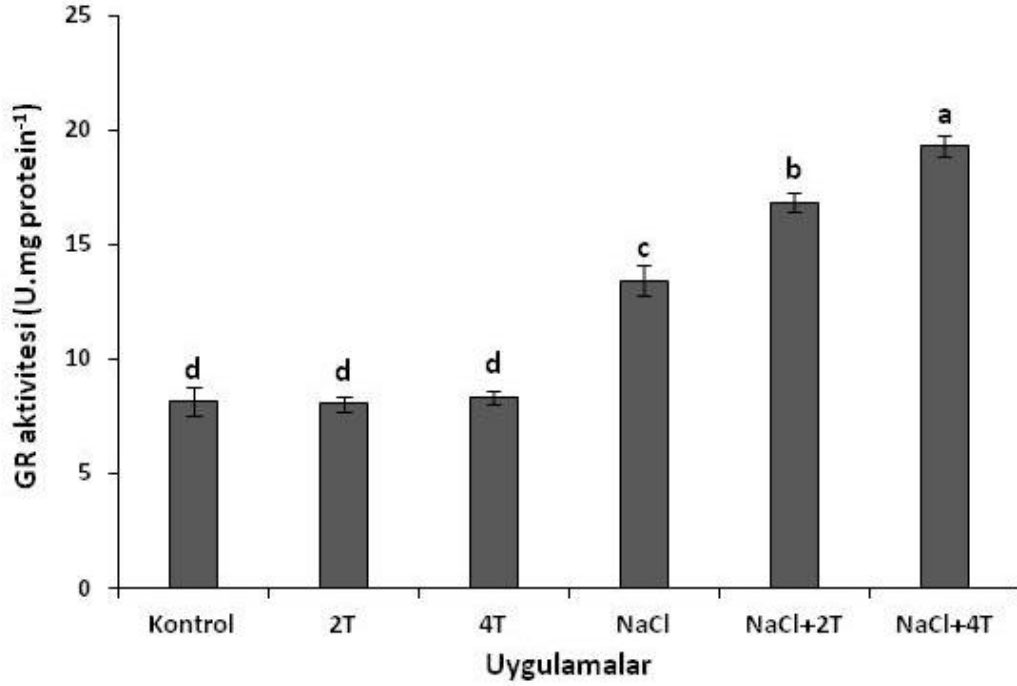
4.5.5.GR aktivitesi üzerine etkisi

Buğday bitkisinin GR aktivitesi kontrol, 2T ve 4T gruplarında sırasıyla 8,14, 8,05 ve 8,35 U/mg protein ölçülmüştür. NaCl grubunda kontrole göre %64,87'lik artışla 13,42 U/mg protein değer tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında da NaCl grubuna kıyasla %25,63 ve % 43,82'lik artışlarla 16,86 ve 19,3 U/mg protein değerler tespit edilmiştir (Çizelge 4.10. Buğday bitkisinde uygulamalara göre GR aktivitesinin değişimi Çizelge 4.10 ve Şekil 4.16).

Çizelge 4.10. Buğday bitkisinde uygulamalara göre GR aktivitesinin değişimi

Uygulamalar	GR aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	8,14 ± 0,61d*
2T	8,05 ± 0,31d
4T	8,35 ± 0,31d
NaCl	13,42 ± 0,67c
NaCl+2T	16,86 ± 0,42b
NaCl+4T	19,30 ± 0,47a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.16. Taurin uygulamalarının GR aktivitesi üzerine etkileri

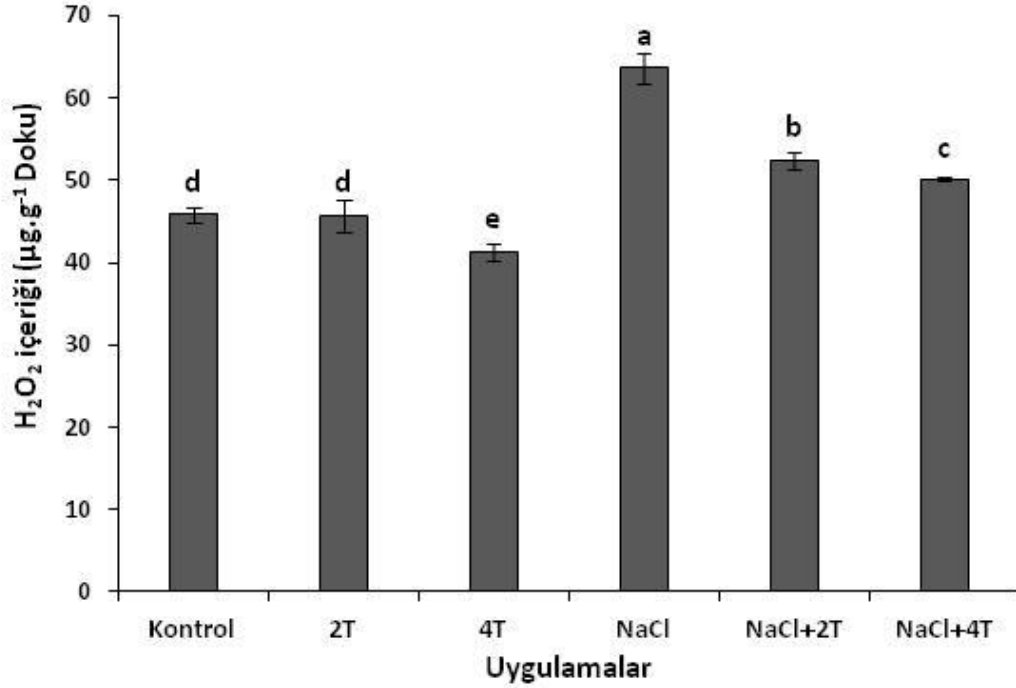
4.6. H₂O₂ içeriği üzerine etkisi

Buğday bitkisinin kontrol grubunda H₂O₂ içeriği 45,83 µg/g doku düzeyindeyken 2T ve 4T gruplarında sırasıyla %0,22 ve %9,82 azalarak 45,73 ve 41,33 µg/g doku ölçülmüştür. NaCl grubunda ise kontrol grubuna göre H₂O₂ içeriğinde %38,93 artış ile 63,67 µg/g doku değeri tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %17,59 ve %21,36 azalma göstererek 52,47 ve 50,07 µg/g doku değerleri elde edilmiştir (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.17).

Çizelge 4.11. Buğday bitkisinde uygulamalara göre H₂O₂ içeriğindeki değişimi

Uygulamalar	H ₂ O ₂ İçeriği (µg.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	45,83 ± 0,97d*
2T	45,73 ± 2,01d
4T	41,33 ± 0,99e
NaCl	63,67 ± 1,82a
NaCl+2T	52,47 ± 1,03b
NaCl+4T	50,07 ± 0,23c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.17. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde H₂O₂ içeriği üzerine etkisi

4.7. Na⁺ ve K⁺ İçeriği Üzerine Taurinin Etkisi

Taurinin buğday bitkisi kök ve gövdesinde Na⁺ ve K⁺ elementlerinin konsantrasyonlarında önemli değişikliklere neden olduğu belirlendi. Kontrol grubu kök Na⁺ içeriği 352 ppm iken, taurin verilen gruplarda doz bağlı olarak Na⁺ içeriğinde artış görülmüştür (%66,19-148,86). NaCl grubunda ise kontrole göre

%7644 artış göstererek 27260 ppm değere ulaşmıştır. NaCl+taurin gruplarında NaCl grubuna göre anlamlı değişim olmamıştır.

Kontrol grubu gövde Na^+ içeriği 134 ppm iken taurin uygulamasıyla, kökteki değerlerin tersine Na^+ içeriğinde azalma tespit edilmiştir. 2T grubunda kontrole kıyasla %74,63 azalma mevcuttur. NaCl grubunda kontrole göre %1764 artış göstererek 2498 ppm değere ulaşmıştır. NaCl+2T grubunda NaCl grubuna göre %10,5 azalma, NaCl+4T grubunda ise NaCl+2T grubuna ile kıyasla %38,57 azalma dikkat çekicidir.

Kontrol grubu kök K^+ içeriği 30745 ppm iken, taurin gruplarında K^+ içeriğinde artış görülmüştür (%8,54-33,9). NaCl grubunda K^+ içeriği kontrole kıyasla %21,41 azalma göstererek 24162 ppm değere ulaşmıştır. NaCl+2T grubunda NaCl grubuna göre %25,18 artış mevcutken, NaCl+4T grubunda ise %15,76 artış tespit edilmiştir.

Kontrol grubu gövde K^+ içeriği 38740 ppm iken, 2T grubunda %29,36'lık artışla 50113 ppm, 4T grubunda %75,94'lük artışla 68160 ppm değer tespit edilmiştir; taurin dozuna bağlı olarak artış söz konusudur. Kontrole kıyasla NaCl grubunda %22,91 daha az K^+ içeriği (29863 ppm) mevcuttur. NaCl uygulanmış gruplarda, uygulanmamış grupta olduğu gibi taurin dozuna bağlı olarak K^+ içeriğinde artış mevcuttur (%22,95-71,78) (Çizelge 4.12).

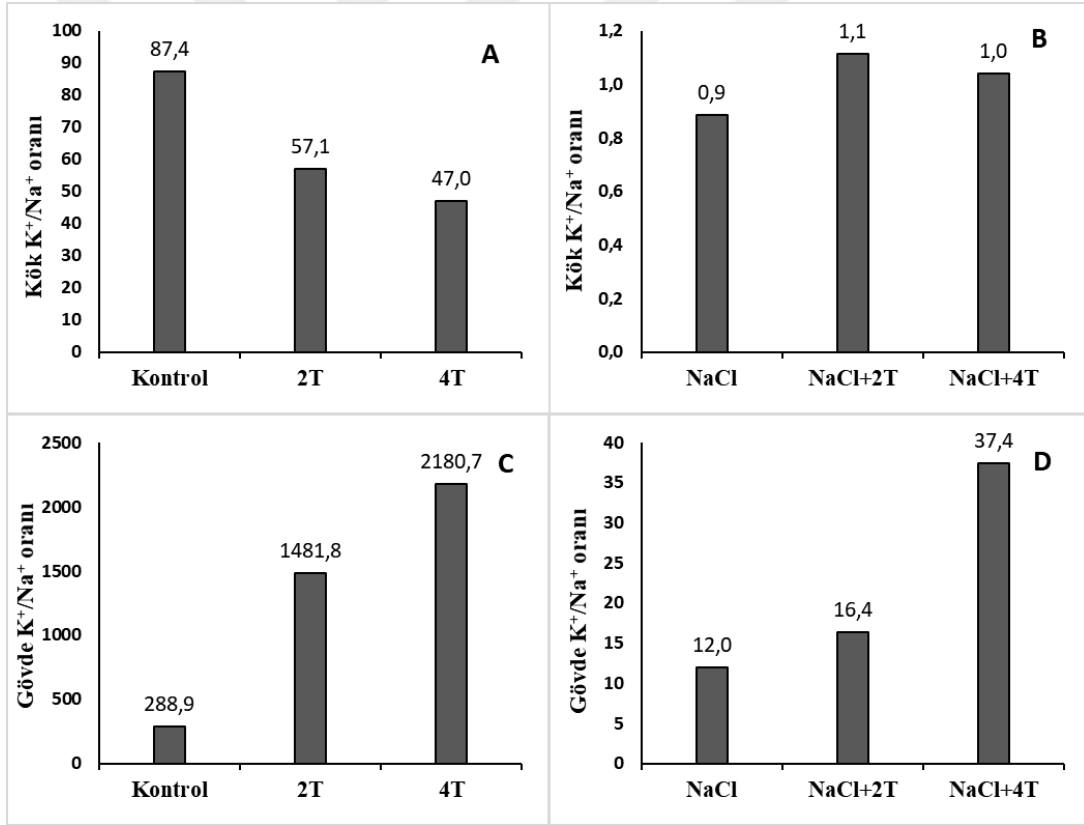
Kök K^+/Na^+ oranı NaCl uygulanmamış kontrol, 2T ve 4T gruplarında sırasıyla azalarak 87,4, 57,1 ve 47 iken, NaCl uygulanan grupta belirgin bir düşüşle 0,9, 1,1 ve 1 olarak tespit edilmiştir.

Gövde K^+/Na^+ oranları NaCl uygulanmamış kontrol, 2T ve 4T gruplarında sırasıyla artarak 288,9, 1481,8 ve 2180,7 iken, NaCl uygulanan grupta belirgin bir düşüşle 12, 16,4 ve 37,4 olarak tespit edilmiştir. Kök K^+/Na^+ oranları gövde K^+/Na^+ oranlarına göre belirgin düşük değerler sergilemektedir (Şekil 4.18).

Çizelge 4.12. Buğday bitkisinin kök-gövdesinde uygulamalara göre Na⁺ ve K⁺ içeriğindeki değişim

Uygulamalar	Na ⁺ İçeriği (ppm)		K ⁺ İçeriği (ppm)	
	Kök	Gövde	Kök	Gövde
Kontrol	352 d	134 d	30745 c	38740 c
2T	585 c	34 e	33370 b	50113 b
4T	876 b	31 e	41167 a*	68160 a*
NaCl	27260 a*	2498 a*	24162 f	29863 e
NaCl+2T	27173 a	2235 b	30246 d	36716 d
NaCl+4T	26901 a	1373 c	27969 e	51298 b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.18. Tuz ve taurin uygulamalarının buğday bitkisinin kök ve gövdesinde K⁺/Na⁺ oranına etkisi (A; yalnız taurin uygulmasının kök K⁺/Na⁺ oranına, B; tuz ve taurin uygulmasının kök K⁺/Na⁺ oranına, C; yalnız taurin uygulmasının gövde K⁺/Na⁺ oranına, D; tuz ve taurin uygulmasının gövde K⁺/Na⁺ oranına etkileri)

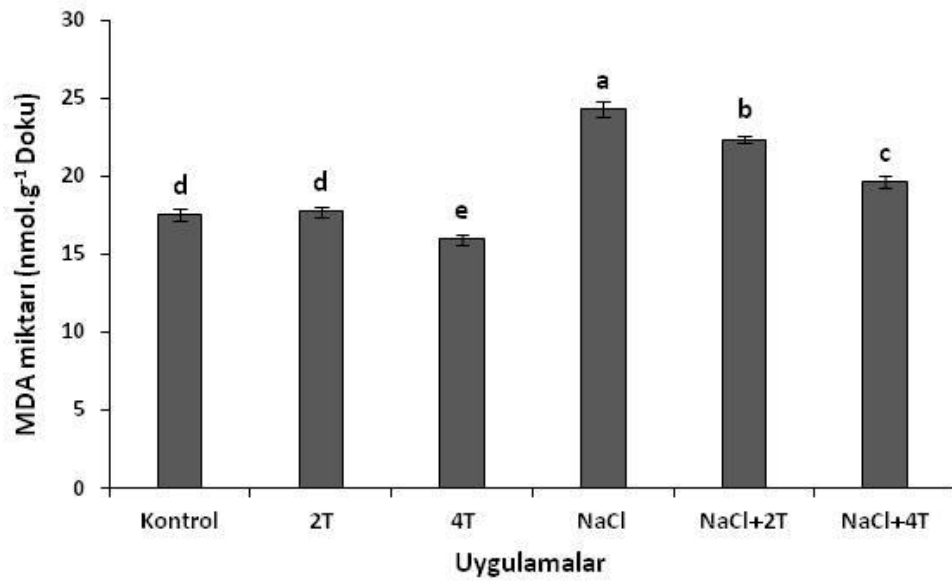
4.8. MDA İçeriği Üzerine Etkisi

Buğday bitkisinin kontrol grubunda MDA miktarı 17,53 nmol/g doku düzeyindeyken 2T ve 4T gruplarında sırasıyla %1,03 artarak ve %9,01 azalarak 17,71 ve 15,95 nmol/g doku ölçülmüştür. NaCl grubunda ise kontrol grubuna göre MDA miktarında %38,68 artış ile 24,31 µg/g doku değeri tespit edilmiştir. NaCl+2T ve NaCl+4T gruplarında NaCl grubuna göre sırasıyla %8,02 ve %19,17 azalma göstererek 22,36 ve 19,65 nmol/g doku değerleri elde edilmiştir. (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.19)

Çizelge 4.13. Buğday bitkisinde uygulamalara göre MDA içeriğindeki değişimi

Uygulamalar	MDA miktarı (nmol.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	17,53 ± 0,4d*
2T	17,71 ± 0,3d
4T	15,95 ± 0,32e
NaCl	24,31 ± 0,45a
NaCl+2T	22,36 ± 0,25b
NaCl+4T	19,65 ± 0,35c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.19. Taurin uygulamalarının buğday bitkisinde MDA içeriği üzerine etkisi

5. TARTIŞMA

Ekonomik öneme sahip olan tarım bitkileri topraktaki tuzluluk oranlarından ciddi anlamda zarar görürler. Bu zararlar neticesinde ürün hasatında verim kayıpları meydana gelir (Greenway and Munns 1980; Cheeseman 1988; Ashraf 1994). İnsanların gıda ihtiyacını karşılamak için kullandığı bitkilerin başında gelen ve bu yüzden de yüksek ekonomik değere sahip olan buğday bitkisinin tuzluluk stresine karşı dayanıklılığını, toleransını ve dolayısıyla ürün verimliliğini arttırmak mevcut araştırmamızda hedeflenmiştir. Bu amaçla antioksidan aktiviteyi arttıran bir madde olan taurin (Huxtable 1992; Jong *et al.* 2010; Karafakıoğlu 2010) tuz stresine maruz bırakılan buğday bitkisine farklı konsantrasyonlarda uygulanmış ve bitkinin morfolojik (kök ve gövde uzunluğu), fizyolojik (nispi su içeriği, çözünebilir protein ve pigment içerikleri) ve biyokimyasal (stres parametreleri, antioksidan sistem ve inorganik element içerikleri) parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca tüm bu parametrelerin yanı sıra, bitkilerin protein profilleri SDS-PAGE ile, antioksidan enzimlerin izoenzim değişimleri ise NATİVE-PAGE ile belirlenmek suretiyle, biyokimyasal veriler elektroforetik bulgularla desteklenmeye çalışılmıştır. Mevcut çalışmada taurinin bitki gelişimi üzerine etkisini de açıklayabilmek için stressiz koşullarda da taurin uygulamaları yapılmış ve bu koşullarda da bitkilerin fiziksel ve metabolik değişimleri değerlendirilmiştir.

Çalışmanın esasını oluşturan taurin uygulamasıyla bitki direncinin artırılması ile ilgili literatürde çok az çalışma bulunmaktadır. Mevcut çalışmamızdan elde edilen tüm bilgilerin literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

5.1. Taurin Uygulamasının Buğday Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri

Bitkilere stres uygulanmasının nihai sonuçlarını morfolojik olarak kök ve gövde uzunluklarını ölçerek tespit etmek mümkündür. Tuzluluğa ilk maruz kalan bitki köklerinin, hücre düzeyindeki değişikliklerinden başlayarak, yapraktaki su kaybına kadar olan tüm değişikliklerin sonucu, pozitif veya negatif olarak bitkinin toplam büyümesi üzerine yansır (Taiz and Zeiger 2002; Şimşek vd 2018).

Mevcut çalışmada stressiz koşullardaki bitkilerde taurinin hem kök hem de gövde uzunluklarında kontrole göre artış sağlamak suretiyle bitkinin büyümesini

arttırdığı görülmüştür. Hao ve ark. (2004) taurinin buğday bitkisi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada da benzer şekilde taurinin buğday bitkisinin kök ve gövde uzunluğunu arttırdığını tespit etmiştir. Mevcut çalışmadaki kök, gövde uzunluk verileri ve literatür verileri taurinin bitki büyümesi üzerine pozitif katkı sağlayarak ürün verimliliğini arttırabileceğini göstermektedir.

Lee (2015) stres etkeni olarak NaCl veya H₂O₂ kullandıkları çalışmada domates bitki eksplant ve kalluslarında stres sonrası kallus oluşum sayısında kısıtlılık ve bozulmuş şekilli kalluslar, sürgün oluşum zamanında uzama ve sürgün sayısında kısıtlılık tespit etmiştir. Tuz stresinin bitki üzerine negatif etkisini gösteren bu literatüre benzer şekilde mevcut çalışmada bitkilere tuz stresi verildiğinde bitki gövde uzunluğunda kayda değer bir azalma görülmüştür.

Literatürde tuz stresinin kök büyümesini inhibe edici olduğu sonucuna varan çok sayıda çalışma (Neves *et al.* 2010; Wu *et al.* 2010a) olmasına rağmen mevcut çalışmada kök uzunluğunda artış tespit edilmiştir. Bunun sebebi NaCl uygulama sürelerindeki farklılıklar olabilir. Ayrıca bitkilerdeki varyete farklılıkları ve kökünün tuzsuz ortama ulaşma amacıyla kök uzaması gerçekleştirmek üzere enerjisini kök gelişimine aktardığı-düşünülebilir.

Mevcut çalışmada NaCl grubundaki bitkilere göre NaCl+T grubu bitkilerde kök ve gövde uzunluklarında anlamlı artış tespit edilmiştir. Lee'nin (2015) çalışmasında da strese maruz kalmış bitkilere değişen dozlarda taurin verilmiş, neticede domates bitkilerinde kallus oluşum oranında, birim alandaki kallus sayısında önemli oranda artışlar tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada literatürdeki bu çalışma ile birlikte değerlendirildiğinde taurinin bitkilerde morfolojik parametrelerde olumlu değişim sağladığı düşünülmektedir. Buna paralel olarak kök ve gövdenin uzunlukları bitkinin sağlıklı bir gelişim gösterdiğinin belirteci olarak kabul edildiğinde (Taiz and Zeiger 2002; Şimşek vd 2018), taurinin stressiz koşullarda bitkinin büyümesine katkı sağladığı gibi tuz stresli koşullarda bitkinin dayanıklılığını da arttırdığını söylemek mümkün olabilir.

5.2. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkisinin Nispi Su İçeriği Üzerine Etkisi

Tuz stresi topraktan suyun alınımını sınırlandırarak bitkilerde su stresi oluşumuna neden olur. Bu durumda bitki su alamadığı için su içeriğinde bir azalma meydana gelir. Bitkinin su içeriği hakkında bilgi veren en önemli indikatörlerden biri nispi su içeriğidir (Schonfeld *et al.* 1988). Nispi su içeriği ile tuz stresi arasında negatif bir korelasyon vardır.

Mevcut araştırmada stressiz gruplarda taurin verilmesiyle nispi su içeriğinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Bu tespitle ilk bakışta taurinin stres altında olmayan buğday bitkisinin nispi su içeriğine yani su alımına bir katkısı olmadığı sonucu çıkarılabileceği gibi taurinin, kök ve gövde uzunluklarındaki doku kitlesindeki artışı karşılayacak şekilde nispi su içeriklerinin korunmasını sağladığı da düşünülebilir.

Tuza maruz bırakılan bitkilerde ise nispi su içeriği dramatik şekilde azalmıştır. Literatürde de benzer şekilde tuz stresiyle bitkilerin nispi su içeriğinde anlamlı azalma tespit edilmiştir. (Sairam *et al.* 2002; El-Bassiouny and Bekheta 2005) Bu durum, toprakta bol miktarda bulunan Na^+ ve Cl^- gibi elementler nedeniyle toprak suyunun osmotik basıncının arttığı ve bitkinin topraktan su almasının zorlaştığı, hatta tuzluluğun derecesine göre bitkinin su kaybettiği şeklinde yorumlanabilir. Mevcut çalışmamızda stresli gruplara artan dozlarda verilen taurin, doz bağımlı olarak bitkinin su içeriğini de arttırmıştır. Yani taurin uygulaması stresle birlikte meydana gelen nispi su içeriğindeki azalmayı önleyerek bitkinin su içeriğini önemli düzeyde artırmıştır. Taurin bu etkisini; membranlar üzerine tuz stresi kaynaklı oksidatif hasarı azaltarak hücre membranının korunmasını sağlamak, osmotik etki göstererek su çekmek şeklinde doğrudan etki ve/veya osmoprotektan maddelerin biyosentezini uyararak iç osmotik basıncı artırmak şeklinde dolaylı osmoregülatör etki gibi farklı mekanizmalarla gerçekleştirmesi muhtemeldir.

5.3. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkisinin Klorofil ve Karotenoid İçeriği Üzerine Etkileri

Tuz stresinin bitkilerdeki en tipik etkilerden biri de kloroplast hasarı sonucu fotosentez verimliliğinin azalmasıdır. Tuz stresine eşlik eden su stresi neticesinde

yetersiz su miktarı PSII başta olmak üzere tüm elektron transport sisteminde ciddi hasarların oluşumuna neden olur. Bu durumda kloroplastlarda aşırı miktarlarda üretilen ROT'lar tilakoid membranlar başta olmak üzere birçok biyolojik komponente hasar verir. Bu hasar sonucunda kloroplastın yapısı bozulur ve bununla birlikte klorofil miktarında da azalma meydana gelir; fotosentezin ışık reaksiyonları hasar görür. Bununla birlikte aşırı su kaybını önlemek için stomalar kapatılır (Steduto *et al.* 2000). Neticede bitkinin fotosentez işlevi kısıtlanmış olur.

Hao ve ark. (2004) çalışmasında buğday bitkisine taurin uygulamasıyla yapraktaki fotokimya veriminde artış tespit edilmiştir. Ancak mevcut araştırmada stressiz bitkilerde taurin uygulamasıyla klorofil içeriğinde anlamlı bir değişim olmamıştır. Taurinin artan dozuyla daha uzun kök ve gövdeye sahip olan bitki dokularının aynı oranda su ve pigment içeriğine sahip olduğunun altı çizilmelidir. Bu şekilde taurinin, buğday bitkisinin aynı besini daha verimli kullanmasını sağlayarak, aynı kalitede bitki yapı taşını oluşturmaya yardımcı olduğu akla gelmektedir.

Buğday bitkilerine tuz stresi uygulanmasıyla klorofil içeriğinde belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Literatür de benzer şekilde tuz stresinin bitkide klorofil içeriğinde azalmaya sebep olacağına işaret etmektedir (Brugnoli and Lauteri 1991; Gorcek and Erdal 2015). Stres ile birlikte taurin verilen bitki gruplarında klorofil miktarında artış gözlenmesi taurinin pigment kaybına sebep olan mekanizmalarda kaybı engelliyici bir rol üstlendiğini düşündürmektedir.

Karotenoid içeriğindeki değişiklikler klorofil içeriğindeki ile paraleldir; tuz ile birlikte belirgin düşüş, NaCl+T gruplarında ise artış gözlenmiştir. Antioksidan özelliğe sahip olan karotenoidler anten pigmentleri olmakla birlikte pigment sistemlerindeki reaksiyon merkezlerinin aşırı ışıktan korunmasında da önemli rol oynar (Steduto *et al.* 2000). Bu sebeple tuz stresli bitkilere taurin verimiyle görülen karotenoid artışı bitkilerdeki pigment sistemlerindeki reaksiyon merkezlerinin aşırı ışıktan olumsuz etkilenmesini önleyebilir.

Mevcut araştırmada tuz stresli buğday bitkisine taurin uygulaması hem klorofil hem de karotenoid içeriğinin artışını sağlamıştır. Taurin bu etkisini antioksidan sistemleri destekleyerek aşırı ROT üretimini indirgeyip özellikle

kloroplast membranlarındaki bozulmayı önlemek suretiyle gerçekleştirmiş olabilir (Görçek 2013). Taurin tuz stresinin olumsuz koşullarına karşı fotosentetik pigment içeriğini arttırması fotosentez verimini de artırabileceğini düşündürmektedir.

5.4. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkisinin Çözünebilir Protein İçeriği Üzerine Etkileri

Tuz stresi bitkilerin biyokimyasal içeriklerine etki ederek farklı moleküllerin artışı veya azalmasına yol açabilir. Bu değişiklikler stresin direkt etkisiyle olabileceği gibi strese karşı refleks savunmanın bir sonucu da olabilir. Literatürde tuz stresiyile çözünebilir protein içeriğinde artış (Gorcek and Erdal 2015), azalma gösteren ve değişiklik göstermeyen (Wu *et al.* 2010b) bitki çalışmaları bulunmaktadır. Mevcut çalışmada buğdaya tuz stresi uygulandığında çözünebilir protein miktarında kontrole göre anlamlı bir düşüş görülmüştür. Daha sonra da tartışılacağı üzere tuz stresi antioksidan enzimler gibi proteinlerde farklı değişikliklere neden olduğu saptanmıştır. Bu değişikliklerin nihai sonucu da çözünebilir protein içeriğine yansımış olabilir.

Mevcut çalışmada taurin, tuz stresli bitkilerdeki çözünebilir protein içeriğinde NaCl grubuna göre belirgin artış sağlamıştır. Buna paralel şekilde protein profilinde düşük ve yüksek molekül ağırlıklı bazı bantlarda izlenen kalınlık artışı da bu veriyi destekler niteliktedir. Düşük molekül ağırlıklı protein bantları ozmolit ve ozmoprotektan maddeleri içerir; bu maddeler tuz stresinde önemli rol oynar ve hücresel yapıları korur (Smirnoff and Cumbes 1989; Büyük *et al.* 2012). Mevcut çalışmada düşük moleküler ağırlıktaki proteinlerde görülen (Şekil 4.8) artmış bant kalınlıkları taurinin osmolitleri arttırdığı varsayımını destekler niteliktedir. Tuz stresindeki buğday bitkisine verilen taurin, stresi tolere edebilmek için çözünebilir protein içerik sentezini artırarak içsel osmotik basıncı arttırmış ve dış ortamdan su alımını kolaylaştırmış olabilir. Yukarıda tartışılan nispi su içeriğinin artışı da bu sayede gerçekleşmiş olabilir.

Mevcut çalışmada stresli gruplarda taurin verilmesiyle yaklaşık 50kD ağırlığa denk gelen protein bantlarında da belirgin artış tespit edilmiştir. Bitkide bulunan RuBisCO enziminin büyük subünitesinin 46kD ağırlığında olduğu bilinmektedir

(Malkin and Niyogi 2000). RuBisCO fotosentezde görev alan önemli bir enzimdir (Taiz and Zeiger 2002). Dolayısıyla taurinin RuBisCO enzimin sentezini arttırdığını ve fotosentez süreçlerini koruduğu düşünülmektedir.

5.5. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkilerinin Antioksidan Savunma Sistemi, Oksidatif Hasar Göstergeleri Üzerine Etkileri

ROT, bitki aerobik metabolizmasının yan ürünleri olarak kabul edilir ve kloroplastlar (Dietz *et al.* 2016), mitokondri (Huang *et al.* 2016) ve peroksizom (Sandalio and Romero-Puertas 2015) gibi bazı hücresel bölümlerde üretilir. Örneğin $^1\text{O}_2$ un asıl kaynağı fotosentez reaksiyonlarında elektron transport sistemindeki klorofil pigmentleridir (Foyer *et al.* 1997; Güler 2008). $\text{O}_2^\cdot$ ise temel olarak elektron transfer zincirinde PSI seviyesinde O_2 nin redüksiyonu ile üretilmektedir. (Gill and Tuteja 2010). Bu ROTlar başta membranlar olmak üzere hücrelerin çeşitli kısımlarında ve organellerinde oksidatif hasara neden olur.

Bitki hücreleri bu toksik ara maddelerine karşı kendilerini korumak için antioksidan savunma sistemleri kullanır. ROT'ların en tehlikelilerinden biri olan ve diğerlerinin öncülü olarak kabul edilen $\text{O}_2^\cdot$ radikali, SOD enzimi tarafından detoksifiye edilmezse, hem kendisi hücre kompartmanlarına özellikle membranlara saldırıp doğrudan zarar verebilecek, hem de H_2O_2 ile birleşerek canlı hücrelerin gördüğü en toksik ve zararlı radikal olan OH radikalinin oluşumuna öncülük edebilecektir (Elstner 1987; Halliwell 2006).

Mevcut araştırmada stressiz bitkilere taurin uygulamasıyla SOD enziminde yani antioksidan sistemde aktivite olarak belirgin bir artış izlenmiştir. Bu bulgu taurinin stressiz bitkide antioksidan sistemi güçlendirerek reaktif oksijen türlerine karşı bitki direncini artırdığını düşündürmektedir.

Strese maruz kalan bitkilerde ise SOD literatürde farklı değişimler göstermiştir. Tuz stresi altında *C. arietinum*'da (Eyidogan and Öz 2007) SOD aktivitesinde artışlar tespit edilmiştir. Transgenik *L. esculentum* bitkilerinde MnSOD'nin aşırı ekspresyonun da tuz stresine karşı artmış tolerans ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Wang *et al.* 2007). Bu çalışmaların aksine mevcut çalışmada toplam SOD aktivitesi tuz stresi ile birlikte azalmıştır. Literatürde de tuz stresıyla

SOD aktivitesinde azalma olan bitkilerin tuza hassas varyantlar olabileceği rapor edilmiştir (Dionisio-Sese and Tobita 1998). Hernandez ve ark. (1994) b r lce bitkilerinden elde edilen SOD izoenzimlerinin katalitik aktivitesinin tuzun etkisiyle azaldığını bildirmiştir. Tuz stresli pirinç bitkilerinin yapraklarında bulunan yüksek iyon içeriği ve azalmış SOD aktivitesi, tuzun enzim katalizini inhibe etme olasılığına işaret etmektedir (Dionisio-Sese and Tobita 1998). SOD izoenzimlerinin tepkilerindeki farklılıklar, farklı hücre altı konumları ve kullanılan çeşitli oksidatif streslerin etki alanları ile bağlantılı olabilir. Tuz stresinin hangi bitkide hangi antioksidan mekanizmaları uyardığını araştıracak daha fazla çalışma bu konuda daha kesin yorum yapabilmeyi mümkün kılacaktır.

Tuz stresli bitkilere taurin verilmesiyle SOD aktivitesinin tuza maruz bırakılmış bitki grubuna göre çok daha üst seviyelere çıktığı tespit edilmiştir. İzoenzimlerde de tespit edilen bu artışlar taurinin farklı hücre kısımlarında etkili olarak SOD aktivitesini veya *de novo* sentezini arttırmış olması olasılığını düşündürmektedir.

Kontrol grubuna göre 4T grubunda H₂O₂ seviyesinde azalma mevcuttur. H₂O₂ seviyesindeki bu azalma da daha sonra da açıklanacağı üzere POD, CAT, APX ve GR aktivitelerindeki artışlara bağlanabilir. Bu bulgular ışığında taurinin oksidatif ürünleri azalttığı söylenebilir.

Literatürde (Erdal 2011a) olduğu gibi mevcut çalışmada da tuz stresine maruziyette buğday bitkilerinde kontrole göre belirgin ölçüde yüksek bir H₂O₂ seviyesi belirlenmiştir. Bitki hücrelerindeki fazla H₂O₂'nin oksidatif stres oluşumuna yol açtığı iyi bilinmektedir. H₂O₂, tiyol gruplarını oksitleyerek enzimleri inaktive edebilir. DNA kırılmalarına, protein denat rasyonlarına neden olur ve bitki hücreleri için oldukça toksiktir (Halliwell 1984; Güler 2008).

Bitkiler artan H₂O₂ seviyesini azaltmak için hem enzimatik hem de nonenzimatik antioksidan sistemlerini aktifleştirirler. Nitekim mevcut çalışmadaki bulgular tuza maruz kalmış bitkilerin antioksidan sistemlerden POD, APX ve GR enzim aktivitelerinin arttığını göstermektedir. Tuz stresi altındaki buğday bitkisinde SOD ve CAT dışındaki antioksidan enzimlerin kontrol gruplarına göre yüksek

aktivite sergilemesine rağmen H_2O_2 nin seviyesindeki artışı engelleyememiş olmaları, stres seviyesinin bitkinin tolere edebileceğinden daha ciddi derecede olması nedeniyle bitkilerde ROT'ların verimli bir şekilde detoksifiye edilemediğini düşündürmektedir.

Taurin uygulanan tuz stresli bitkilerde ise H_2O_2 seviyesinin önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. H_2O_2 'nin düşük konsantrasyonda sinyal molekülü olarak iş görmesi antioksidan enzimlerin artışına sebep olabileceği düşünüldüğünde (Tanou *et al.* 2009) miktarı gerileyen H_2O_2 , stresli bitkinin taurin ile birlikte oksidasyona karşı koruyuculuk kazanabileceğine işaret etmektedir. Ek olarak taurin uygulanmış stresli bitkilerde SOD, POD, CAT, APX, GR enzim aktivitelerinde artış görülmesi, taurinin antioksidan enzimleri arttırmak suretiyle dolaylı olarak antioksidasyona katkı sağladığı varsayımını kuvvetle desteklemektedir.

Mevcut çalışmada tuz stresinin H_2O_2 'yi ciddi derecede arttırdığı belirlenmiştir. H_2O_2 , $OH^\bullet$ öncüsü olması açısından önemlidir (Elstner 1991) Serbest radikaller içerisinde en reaktif oksidan $OH^\bullet$ 'tir. $OH^\bullet$ DNA, proteinler ve lipidler gibi hemen hemen tüm biyolojik moleküllerle potansiyel olarak reaksiyona girebilir. Hidroksil radikalının sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. $OH^\bullet$ 'in başlıca hedefi yağ asitleri olup zar lipidlerinin peroksidasyonu ile zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilir (Nishiyama *et al.* 1998; Güler 2008; Erdal 2010). Lipid peroksidasyon olayının ürünü olan MDA miktarının ölçülmesi ile lipid peroksidasyon düzeyi saptanabilmektedir. Mevcut çalışmada stressiz bitkilere sadece 4mM taurin uygulamasıyla MDA içeriğinde azalma yani hücre zarı bütünlüğüne koruyucu etki ortaya çıkmıştır.

Literatürde birçok çalışma tuz stresinde meydana gelen ilk hasarın hücre zarlarının bütünlüğünü kaybetmesi olduğunu göstermektedir. Stresle birlikte *Lycopersicon esculentum* L (domates) (Krupa and Baszynski 1989; Malik *et al.* 1992; Ouariti *et al.* 1997; Ben Ammar *et al.* 2005), *Triticum aestivum* L (buğday) (Vassilev *et al.* 2004), *Hordeum vulgare* L (arpa) (Gaur and Gupta 1994), *Brassica nigra* L W.D.J.Koch (hardal) (Halliwell and Gutteridge 1999; Nouairi *et al.* 2006) bitkilerinde lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir. Mevcut çalışmada tuz

uygulamasıyla MDA seviyesi beklenildiği üzere kontrole göre belirgin artış göstermiştir. MDA içeriğindeki artışı, aktivitesi artış gösteren POD, APX ve GR enzimlerinin oksidatif ürünleri süpürmeye yetmemesi ve buna ilaveten SOD ve CAT aktivitesinde azalma görülmesi açıklıyor olabilir.

NaCl+T gruplarında MDA'nın belirgin düşüş göstermesi bu gruplarda tüm antioksidan enzim aktivitelerinin artması ile birlikte düşünüldüğünde tutarlıdır. Yukarıda da belirtildiği gibi taurinin antioksidan aktivitesini antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırmak suretiyle dolaylı olarak gösterdiği hipotezini MDA'nın NaCl+T gruplarında azalması desteklemektedir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında strese giren bitkilerde taurin yolaklarının aktive olduğu bildirilmiştir. Tuza dirençli ve duyarlı hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.) meyvelerinin kullanıldığı çalışmada tuzluluk stresi altında taurin biyosentezinin arttığı tespit edilmiştir; tuza duyarlı meyvelerde daha çok arttığı not edilmiştir (Al Kharusi *et al.* 2020). Kuraklık stresine karşı direnç kazandırılmış transgenik mısır bitkisinin kullanıldığı bir çalışmada ise kuraklığa karşı direnç kazanımı ile birlikte taurin yolaklarında aktivite artışı tespit edilmiştir (Zhang *et al.* 2020). Bu sonuçlar, taurinin antioksidan enzimlerin miktarına etkisiyle birlikte değerlendirildiğinde, antioksidan enzimlerin aktivasyonu ile taurin yolaklarının çift yönlü olarak birbirini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

5.6. Taurin Uygulamasının Buğday Bitkilerinin İnorganik Element İçeriği Üzerine Etkileri

Taurinin, inorganik iyon konsantrasyonlarında değişiklikler yaparak hücreyi dış değişikliklerin yıkıcı etkilerinden koruduğuna, yani moleküler ortamı dengeleyici etki göstererek ozmoregülatif etki gösterdiğine işaret edilmektedir (Mangum and Towle 1977). Hayvansal dokularda taurin hücre içine taşınma sürecini açıklayan çalışma mevcuttur (Huxtable 1992). Ancak bitkilerde taurinin hücre içi yolaklarını detaylıca açıklayan ve taurinin bitkilerdeki osmoregülatör mekanizmaları ortaya koyacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada taurin grubu bitkilerde kontrol grubu bitkilere kıyasla kökte belirgin Na⁺ artışı, gövdede ise belirgin Na⁺ azalması mevcuttur. 2T ve 4T grubu

bitkilerine Na^+ içermeyen Hoagland çözeltisi ve taurin verdiğimiz göz önüne alındığında, bitkinin embriyonik dönemden itibaren bünyesinde sahip olduğu Na^+ elementini suyun emilimi için veya fotosentetik aparatlardan uzaklaştırmak için bitki köküne yönlendirmiş olabileceği akla gelmektedir. Bu şekilde taurin bitkinin osmotik dengesinin güçlenmesine veya fotosentez süreçlerinin korunmasına katkı sağlıyor olabilir.

Tuzluluğun bitki üzerindeki yıkıcı etkilerinin yüksek ozmotik basınç, beslenme dengesizliği, spesifik iyon etkisi ve oksidatif stresin indüksiyonu veya bu faktörlerin bir kombinasyonu ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir (Erdal 2011a, 2011b; Gorai *et al.* 2011). NaCl 'nin yüksek seviyelerinde özellikle K^+ ve Ca^{+2} 'nin özümsemesi kök ortamında azaldığı ve sonuçta Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyon dengesizliklerine neden olduğu görülmüştür (Güneş *et al.* 2002). Tuz stresine maruz kalan bitkiler suyu almakta güçlük çekmelerine rağmen yine de bir miktar suyu bünyelerine alabilirler. Alınan su beraberinde Na^+ iyonlarını da içerdiğinden bitki bünyesinde Na^+ iyonlarının miktarı önemli derecede artar (McCue and Hanson 1990) ve K^+/Na^+ oranı önemli oranda azalır (Tattini *et al.* 1994; Zeid 2009).

Mevcut çalışmada, literatürdeki bulgulara benzer olarak tuza maruz kalan bitkilerin köklerindeki Na^+ içeriklerinde çok ciddi oranda artış meydana gelirken, K^+ içeriklerinde ise azalma mevcuttur. Bu da kökteki K^+/Na^+ oranının belirgin ölçüde azalmasına yol açmıştır. Gövdede ise tuz uygulanmasıyla Na^+ içeriğindeki artış kökteki karşılığına oranla daha düşük olmakla beraber, yine oldukça dikkat çekicidir. K^+ ise azalmıştır. Neticede gövdede K^+/Na^+ oranı tuz uygulanmasıyla azalmıştır. Mevcut çalışmada taurinin tuz stresli buğday bitkisi kökündeki etkisi K^+ u arttırmak şeklindeyken Na^+ 'nın artış göstermediği tespit edilmiştir.

Yüksek K^+/Na^+ oranı optimal hücrel metabolik fonksiyonlarının sürdürülmesini sağlar ve tuz stres toleransında bu oranın yüksek olması gereklidir (Maathuis and Amtmann 1999; Anschütz *et al.* 2014). Tuz stresi altında, K^+ alımı Na^+ tarafından engellenir, K^+/Na^+ oranı düşer ve K^+ bağımlı süreçler inhibe olur (Assaha *et al.* 2017). Mevcut çalışmada stresli bitkilere taurin verilmesiyle kökte K^+/Na^+ oranında belirgin değişiklik görülmemekle birlikte K^+ anlamlı şekilde artış göstermiştir. Kök uzunluk artışı ile K^+ artışı birlikte değerlendirildiğinde, taurinin

kök uzaması üzerine etkisini inorganik elementler üzerinden düzenleyici rol oynayarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Gövdede ise taurin tuz stresli gruplarda hem Na^+ azaltıcı hem K^+ arttırıcı etki göstermiştir. Taurin bu durumu gövdede Na^+ iyon taşınımını azaltıp, K^+ iyon alımını arttırmak suretiyle gerçekleştirmiş olabilir. Bu şekilde taurin gövdenin K^+/Na^+ oranını doz bağımlı olarak belirgin ölçüde arttırmıştır.

Tuz stresinde hücredeki osmotik denge önemli oranda bozulmasının yanı sıra, aşırı derecede biriken Na^+ iyonları iyon toksisitesine de neden olur (Munns and Tester 2008; Kronzucker *et al.* 2013; Nieves-Cordones *et al.* 2016) Taurin tuz stresli bitki gövdesinde Na^+ artışları belirgin ölçüde tersine çevirerek Na^+ 'nın direkt toksik etkisine karşı koruyucu etki sağlamanın yanı sıra hücrelerin optimal hücresel metabolik fonksiyonları için gerekli (Maathuis and Amtmann 1999; Anschütz *et al.* 2014) osmotik dengelerinin korunmasına da katkı göstermiş olabilir. Bu sayede hücrelerin/bitkinin su kaybını kısıtlamış olması muhtemeldir. Literatürdeki çalışmalarda, taurinin büyüme ortamına dışarıdan eklenmesinin, alglerde tuz toleransını arttırdığını gösterilmiştir (Reynoso and De Gamboa 1982; Jackson *et al.* 1992). Bu çalışmalar taurinin osmoregülasyonda bazı etkileşimleri olduğunu desteklemektedir.

6. SONUÇLAR

- Bulgular taurinin bitki büyümesi üzerine pozitif katkı sağlayarak ürün verimliliğini arttırabileceğini göstermektedir.
- Taurinin, uzunluğu artan kök ve gövde doku kitlesindeki bu artışı karşılayacak şekilde dokuların nispi su içeriklerinin korunmasını sağladığı düşünülebilir.
- Taurin uygulaması tuz stresiyle birlikte meydana gelen nispi su içeriğindeki azalmayı önleyerek bitkinin su içeriğini önemli düzeyde arttırmıştır.
- Taurinin, buğday bitkisinin aynı orandaki besini daha verimli kullanmasını sağlayarak, aynı kalitede bitki yapı taşlarının oluşturulmasına yardımcı olduğu akla gelmektedir.
- Bulgular, taurinin klorofil ve kloroplast pigment kaybına sebep olan mekanizmalarda kaybı engelleyici bir rol üstlendiğini düşündürmektedir.
- Taurin verilmesiyle görülen karotenoid artışı, bitkilerin pigment sistemlerindeki reaksiyon merkezlerinin aşırı ışıktan olumsuz etkilenmesini taurinin önleyebileceğini düşündürmektedir.
- Tuz stresli bitkilerde taurinin hem klorofil hem de karotenoid içeriğinde artış sağlamasının mekanizması taurinin antioksidan sistemleri destekleyerek aşırı ROT üretimini indirgeyip özellikle kloroplast membranlarındaki bozulmayı önlemek şeklinde olabilir.
- Taurinin tuz stresinin olumsuz koşullarına karşı fotosentetik pigment içeriğini arttırması, fotosentez verimini de arttırabileceğini düşündürmektedir.
- Düşük moleküler ağırlıktaki proteinlerde görülen artmış bant kalınlıkları taurinin osmolitleri arttırdığı varsayımını destekler niteliktedir.
- Tuz stresindeki buğday bitkisine verilen taurin, stresi tolere edebilmek için çözünebilir protein içerik sentezini artırarak içsel osmotik basıncı arttırmış ve tuzlu ortama rağmen dış ortamdan su alımını kolaylaştırmış olabilir.

- Stressiz bitkilere taurin uygulamasıyla SOD enziminin aktivitesinde belirgin bir artış izlenmesi, taurinin stressiz bitkide antioksidan sistemi güçlendirerek reaktif oksijen türlerine karşı bitki direncini artırdığını düşündürmektedir.
- Bulgular taurinin farklı hücre kısımlarında etkili olarak SOD aktivitesini veya *de novo* sentezini artırmış olması olasılığını akla getirmektedir.
- Bulgular stresli bitkinin taurin ile birlikte oksidasyona karşı koruyuculuk kazandığına işaret etmektedir.
- Taurin uygulanmış stresli bitkilerde SOD, POD, CAT, APX, GR enzim aktivitesinde artış görülmesi, taurinin antioksidan enzimleri arttırmak suretiyle dolaylı olarak antioksidasyona katkı sağladığı varsayımını kuvvetlice desteklemektedir.
- Stressiz bitkilere sadece 4mM taurin uygulamasıyla, MDA içeriğinde azalma yani hücre zarı bütünlüğünü koruyucu etki ortaya çıkmıştır. Taurinin antioksidan aktivitesini antioksidan enzimlerinin aktivitelerini arttırmak suretiyle dolaylı olarak gösterdiği hipotezini, MDA'nın NaCl+T gruplarında azaldığını gösteren sonuçlar destekleyici niteliktedir.
- Bulgular literatür ile birlikte değerlendirildiğinde, antioksidan enzimlerin aktivasyonu ile taurin yolaklarının çift yönlü olarak birbirini etkileyebileceğini düşündürmektedir.
- Taurin, bitkinin osmoregülasyon yeteneğinin güçlenmesine veya fotosentez süreçlerinin korunmasına katkı sağlıyor olabilir.
- Bulgular taurinin tuz stresli buğday bitkisi kökünde Na⁺ seçici geçirgenliğine etki etmediğini fakat gövdede Na⁺ iyon alınımlı ve taşınımını azaltma yönünde katkı sağladığını düşündürmektedir.

- Kök uzunluk artışı ile K^+ artışı birlikte değerlendirildiğinde, taurinin kök uzaması üzerine etkisini inorganik elementler üzerinden düzenleyici rol oynayarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir.
- Gövdede taurin tuz stresli gruplarda hem Na^+ azaltıcı hem K^+ artırıcı etki göstermiştir. Taurin gövdede Na^+ iyon taşınımını azaltarak, K^+ iyon alımını artırarak bu duruma sebep olmuş olabilir.
- Taurin tuz stresli bitki gövdesinde Na^+ artışlarını belirgin ölçüde tersine çevirerek Na^+ 'nın direk toksik etkisine karşı koruyucu etki sağlamanın yanı sıra hücrelerin optimal hücresel metabolik fonksiyonları için gerekli osmotik dengelerinin korunmasına da katkı göstermiş olabilir.
- Taurinin tuz stresine maruz kalan ve kalmayan buğday bitkilerinin direncini önemli derecede geliştirdiğini gösteren kontrollü deneysel bu çalışma, morfolojik bulguların yanı sıra oksidasyonu, antioksidasyonu gösteren parametrelerin de indikatör olarak kullanılması açısından literatürde bir ilk olup, diğer stres şartlarına maruz kalan bitkilerin direnç mekanizmaları üzerine çalışmalara öncül olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca taurin hali hazırda insanların doğal veya yapay gıdalarında günlük olarak tükettiği bir aminoasit olduğu için zirai kullanıma girmesi de söz konusu olabilecektir. Tüm çevresel etkilerin dahil edildiği bitki çalışmalarına ve bu bitkileri tüketen insan üzerine etkisini araştıran ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Adams, P., Thomas, J. C., Vernon, D. M., Bohnert, H. J. and Jensen, R. G., 1992. Distinct cellular and organismic responses to salt stress. *Plant and Cell Physiology*, 33(8), 1215-1223.
- Agarwal, S. and Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G. and Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology*, 30(3), 161-175.
- Ahmad, P. and Jhon, R., 2005. Effect of salt stress on growth and biochemical parameters of *Pisum sativum* L. (Einfluss von Salzstress auf Wachstum und biochemische Parameter von *Pisum sativum* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 51(6), 665-672.
- Ahmad, P., Kumar, A., Ashraf, M. and Akram, N. A., 2012. Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.). *African Journal of Biotechnology*, 11(11), 2694-2703.
- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V., 2011a. *Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability*. Springer Science & Business Media,
- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V., 2011b. *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*. Springer Science & Business Media,
- Ahmad, P. and Sharma, S., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environ*, 54(3), 89-99.
- Ahmad, P. and Sharma, S., 2012. Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO₃ stress. *International Journal of Plant Production*, 4(2), 79-86.
- Ahmad, P., Sharma, S. and Srivastava, P., 2006. Differential Physio-biochemical Responses of High Yielding Varieties of Mulberry (*Morus alba*) under Alkalinity (Na⁺ 2CO₃) Stress in vitro. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 12(1), 59.
- Al Kharusi, L., Jana, G. A., Patankar, H. V. and Yaish, M. W., 2020. Comparative Metabolic Profiling of Two Contrasting Date Palm Genotypes Under Salinity. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1-13.
- Ali-Dinar, H., Ebert, G. and Ludders, P., 1999. Growth, chlorophyll content, photosynthesis and water relations in guava (*Psidium guajava* L) under salinity and different nitrogen supply. *Gartenbauwissenschaft*, 64(2), 84.

- Ali, A. and Alqurainy, F., 2006. Activities of antioxidants in plants under environmental stress. *The lutein-prevention and treatment for diseases*, 187-256.
- Anschütz, U., Becker, D. and Shabala, S., 2014. Going beyond nutrition: regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. *Journal of Plant Physiology*, 171(9), 670-687.
- Aono, M., Kubo, A., Saji, H., Tanaka, K. and Kondo, N., 1993. Enhanced tolerance to photooxidative stress of transgenic *Nicotiana tabacum* with high chloroplastic glutathione reductase activity. *Plant and Cell Physiology*, 34(1), 129-135.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Apse, M. P., Aharon, G. S., Snedden, W. A. and Blumwald, E., 1999. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 285(5431), 1256-1258.
- Asada, K., 1992. Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia plantarum*, 85(2), 235-241.
- Asada, K., Kiso, K. and Yoshikawa, K., 1974. Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. *Journal of Biological Chemistry*, 249(7), 2175-2181.
- Ashraf, M., 1994. Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*. *Biologia Plantarum*, 36(2), 255-259.
- Assaha, D. V., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R. and Yaish, M. W., 2017. The role of Na⁺ and K⁺ transporters in salt stress adaptation in glycophytes. *Frontiers in physiology*, 8, 509.
- Atlas, M., Bahl, J. J., Roeske, W. and Bressler, R., 1984. In vitro osmoregulation of taurine in fetal mouse hearts. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 16(4), 311-320.
- Azevedo, R., Alas, R., Smith, R. and Lea, P., 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia plantarum*, 104(2), 280-292.
- Badawi, G. H., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., Kawano, N., Tanaka, K. and Tanaka, K., 2004. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. *Plant Science*, 166(4), 919-928.

- Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1973. Isozymes of superoxide dismutase from wheat germ. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 317(1), 50-64.
- Ben Ammar, W., Nouairi, I., Tray, B., Zarrouk, M. and Jemal, F., 2005. Effets du cadmium sur l'accumulation ionique et les teneurs en lipides dans les feuilles de tomate (*Lycopersicum esculentum*). *Journal de la Société de biologie*, 199(2), 157-163.
- Bergmeyer, J. and Grabl, M., 1983. *Methods of Enzymatic Analysis* (3rd ed.), Germany.
- Bhattacharjee, S., 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science*, 1113-1121.
- Bircan, F. S., 2007. Endotoksemi oluşturulan kobayların dalak dokusunda 3-nitrotirozin oluşumu ve taurinin antioksidan etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bowler, C., Montagu, M. v. and Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual review of plant biology*, 43(1), 83-116.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S. and Neill, S. J., 2006. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. *The Plant Journal*, 45(1), 113-122.
- Brugnoli, E. and Lauteri, M., 1991. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-halophytes. *Plant physiology*, 95(2), 628-635.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S. and Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2)
- Cadenas, E., 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual review of biochemistry*, 58(1), 79-110.
- Chartzoulakis, K. and Klapaki, G., 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, 86(3), 247-260.

- Cheeseman, J. M., 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant physiology*, 87(3), 547-550.
- Chen, T. H. and Murata, N., 2011. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, cell & environment*, 34(1), 1-20.
- Chesney, R., 1985. Taurine: its biological role and clinical implications. *Advances in Pediatrics*, 32, 1-42.
- Demirevska-Kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z. P. and Feller, U., 2006. Cadmium stress in barley: growth, leaf pigment, and protein composition and detoxification of reactive oxygen species. *Journal of plant nutrition*, 29(3), 451-468.
- Diamant, S., Eliahu, N., Rosenthal, D. and Goloubinoff, P., 2001. Chemical chaperones regulate molecular chaperones in vitro and in cells under combined salt and heat stresses. *Journal of Biological Chemistry*, 276(43), 39586-39591.
- Dietz, K.-J., Turkan, I. and Krieger-Liszkay, A., 2016. Redox-and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast. *Plant physiology*, 171(3), 1541-1550.
- Dionisio-Sese, M. L. and Tobita, S., 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1), 1-9.
- Durmuş, N., 2003. Büyüme yi düzenleyici maddelerin oksidatif stres üzerine etkileri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- El-Bassiouny, H. M. and Bekheta, M., 2005. Effect of salt stress on relative water content, lipid peroxidation, polyamines, amino acids and ethylene of two wheat cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7(3), 363-368.
- Elstner, E., 1991. Oxygen radicals—biochemical basis for their efficacy. *Klinische Wochenschrift*, 69(21-23), 949-956.
- Elstner, E. F., 1987. Metabolism of activated oxygen species. *Biochemistry of metabolism*, Elsevier, 253-315.
- Eppler, B. and Dawson, R., 1998. The effects of aging on taurine content and biosynthesis in different strains of rats. *Taurine 3*, Ed: S. Schaffer, J. B. Lombardini and R. J. Huxtable. Springer, Boston, 55-61.
- Erdal, S., 2010. Memeli Cinsiyet Hormonlarının Arpa ve Nohut Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmeleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Erdal, S., 2011a. Alleviation of salt stress in wheat seedlings by mammalian sex hormones. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(7), 1411-1416.
- Erdal, S., 2011b. Exogenous mammalian sex hormones mitigate inhibition in growth by enhancing antioxidant activity and synthesis reactions in germinating maize seeds under salt stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 839-843.
- Erdal, S., 2012. Alleviation of salt stress in wheat seedlings by mammalian sex hormones. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(7), 1411-1416.
- Ericson, L. E. and Carlson, B., 1954. Studies on the occurrence of amino acids, niacin and pantothenic acid in marine algae. *Arkiv for Kemi*, 6(6), 511-522.
- Eyidoğan, F. and Öz, M. T., 2007. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(5), 485.
- Eyidoğan, F. I., Öktem, H. A. and Yücel, M., 2003. Superoxide dismutase activity in salt stressed wheat seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 25(3), 263-269.
- Fam, S. S. and Morrow, J. D., 2003. The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation-a review. *Current medicinal chemistry*, 10(17), 1723-1740.
- FAO-ITPS-GSP. 2015. *Status of the world's soil resources*, FAO-ITPS-GSP Main Report. FAO, Rome, Italy.
- Flowers, T. and Yeo, A., 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Functional Plant Biology*, 22(6), 875-884.
- Foreman, J., Demidchik, V., Bothwell, J. H., Mylona, P., Miedema, H., Torres, M. A., Linstead, P., Costa, S., Brownlee, C. and Jones, J. D., 2003. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 422(6930), 442-446.
- Foyer, C. H. and Halliwell, B., 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133(1), 21-25.
- Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M., 1997. Hydrogen peroxide-and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia plantarum*, 100(2), 241-254.
- Fridovich, I., 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual review of biochemistry*, 64(1), 97-112.
- Gapińska, M., Skłodowska, M. and Gabara, B., 2008. Effect of short-and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(1), 11.

- Garg, N. and Manchanda, G., 2009. ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosystems*, 143(1), 81-96.
- Gaur, A. and Gupta, S., 1994. Lipid components of mustard seeds (*Brassica juncea* L.) as influenced by cadmium levels. *Plant Foods for Human Nutrition*, 46(2), 93-102.
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V. and Minkov, I., 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(4), 708-714.
- Gill, S. S., Khan, N. A., Anjum, N. A. and Tuteja, N., 2011. Amelioration of cadmium stress in crop plants by nutrients management: morphological, physiological and biochemical aspects. *Plant Stress*, 5(1), 1-23.
- Gill, S. S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem*, 48(12), 909-930.
- Glazener, J. A., Orlandi, E. W. and Baker, C. J., 1996. The active oxygen response of cell suspensions to incompatible bacteria is not sufficient to cause hypersensitive cell death. *Plant physiology*, 110(3), 759-763.
- Gong, Y., Toivonen, P. M., Lau, O. and Wiersma, P. A., 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple is related to its browning disorder. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 42(4), 259-264.
- Gorai, M., Ennajeh, M., Khemira, H. and Neffati, M., 2011. Influence of NaCl-salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute accumulation in *Phragmites australis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 963-971.
- Gorcek, Z. and Erdal, S., 2015. Lipoic acid mitigates oxidative stress and recovers metabolic distortions in salt-stressed wheat seedlings by modulating ion homeostasis, the osmo-regulator level and antioxidant system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(14), 2811-2817.
- Görçek, Z., 2013. Buğdayda Tuz Stresi Kaynaklı Oksidatif Hasarın Yatıştırılması Üzerine Lipoik Asitin Moleküler ve Biyokimyasal Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- Greenway, H. and Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual review of plant physiology*, 31(1), 149-190.
- Güler, N. S., 2008. *Ctenanthe setosa*'da yaprak kıvrılması sırasında apoplastik ve simplastik alanlarda antioksidan sistemde meydana gelen değişimler. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Güneş, A., Alpaslan, M. and İnal, A., 2000. Bitki besleme ve gübreleme. Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayın, (1514), 199.
- Güneş, A., Alpaslan, M. and İnal, A. (2002). *Bitki Besleme ve Gübreleme. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın Nı: 1523, Ders Kitabı: 479*: ISBAN 975-482-516-5, Ankara.
- Halliwell, B., 1984. Toxic effect of oxygen on plant tissues. Chloroplast metabolism, 180-206.
- Halliwell, B., 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant physiology, 141(2), 312-322.
- Halliwell, B. and Gutteridge, M. C., 1999. *Free Radical and Other Reactive Species and Disease* (3rd ed.). Oxford University Press, Oxford.
- Hanson, A. D., Rathinasabapathi, B., Rivoal, J., Burnet, M., Dillon, M. O. and Gage, D. A., 1994. Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: a natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(1), 306-310.
- Hao, L., He, P., Liu, C., Chen, K. and Li, G., 2004. Physiological effects of taurine on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Zhi wu sheng li yu fen zi sheng wu xue xue bao= Journal of plant physiology and molecular biology, 30(5), 595-598.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. and Charoensataporn, R., 2003. Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. Science Asia, 29(2), 109-113.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J.-K. and Bohnert, H. J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual review of plant biology, 51(1), 463-499.
- Hasegawa, P. M., Bresson, R. A. and Handa, A. V., 1986. Cellular mechanisms of salinity tolerance. Hort. Sci, 21(13), 17-1324.
- Hayes, K., 1976. A review on the biological function of taurine. Nutrition Reviews, 34(6), 161-165.
- Hayes, K. C., Carey, R. E. and Schmidt, S. Y., 1975. Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat. Science, 188(4191), 949-951.
- Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics, 125(1), 189-198.
- Hernández, J. A., del Río, L. A. and Sevilla, F., 1994. Salt stress-induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *Vigna unguiculata* (L.) Walp. New phytologist, 126(1), 37-44.

- Hernhdeza, J., Olmosa, E., Corpasb, F., Sevilla, F. and de1 Riob, L., 1995. Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science*, 105(151167), 04047-04048.
- Hoffmann, R., Tufariello, J. and Bisson, M. A., 1989. Effect of divalent cations on Na⁺ permeability of *Chara corallina* and freshwater grown *Chara buckellii*. *Journal of Experimental Botany*, 40(8), 875-881.
- Holländer-Czytko, H., Grabowski, J., Sandorf, I., Weckermann, K. and Weiler, E. W., 2005. Tocopherol content and activities of tyrosine aminotransferase and cystine lyase in *Arabidopsis* under stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 162(7), 767-770.
- Hsu, Y. T. and Kao, C. H., 2007. Heat shock-mediated H₂O₂ accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings. *Plant and soil*, 300(1-2), 137-147.
- Huang, S., Van Aken, O., Schwarzländer, M., Belt, K. and Millar, A. H., 2016. The roles of mitochondrial reactive oxygen species in cellular signaling and stress response in plants. *Plant physiology*, 171(3), 1551-1559.
- Huxtable, R. J., 1992. Physiological actions of taurine. *Physiol Rev*, 72(1), 101-163.
- Huxtable, R. J. and Sebring, L. A., 1986. Towards a unifying theory for the actions of taurine. *Trends in pharmacological sciences*, 7, 481-485.
- Ivushkin, K., Bartholomeus, H., Bregt, A. K., Pulatov, A., Kempen, B. and De Sousa, L., 2019. Global mapping of soil salinity change. *Remote Sensing of Environment*, 231, 111260.
- Iyengar, E. R. R. and Reddy, M. P., 1996. Photosynthesis in highly salt-tolerant plants. . *Handbook of photosynthesis*. , Ed: M. Pesserkali. USA, 897–909.
- Jackson, A. E., Ayer, S. W. and Laycock, M. V., 1992. The effect of salinity on growth and amino acid composition in the marine diatom *Nitzschia pungens*. *Canadian journal of botany*, 70(11), 2198-2201.
- Jacobsen, J. G. and Smith, L., 1968. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. *Physiological Reviews*, 48(2), 424-511.
- Jaleel, C. A., Gopi, R., Manivannan, P. and Panneerselvam, R., 2007a. Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. to paclobutrazol treatment under salinity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(3), 205-209.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2007b. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(1), 7-11.

- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2007c. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(1), 110-116.
- Jaleel, C. A., Sankar, B., Sridharan, R. and Panneerselvam, R., 2008. Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology*, 32(2), 79-83.
- Jiménez, A., Hernández, J. A., Pastori, G., del Río, L. A. and Sevilla, F., 1998. Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. *Plant physiology*, 118(4), 1327-1335.
- Jong, C. J., Ito, T., Mozaffari, M., Azuma, J. and Schaffer, S., 2010. Effect of β -alanine treatment on mitochondrial taurine level and 5-taurinomethyluridine content. *Journal of biomedical science*, 17(1), S25.
- Karafakıoğlu, Y. S., 2010. Antioksidanlar ve Bir Antioksidan Olarak Taurin. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 3(1), 55-61.
- Karaoğlu, M. and Yalçın, A. M., 2018. Toprak Tuzluluğu ve Iğdır Ovası Örneği. *Journal of Agriculture*, 1(1), 27-41.
- Kataoka, H. and Ohnishi, N., 1986. Occurrence of taurine in plants. *Agricultural and biological chemistry*, 50(7), 1887-1888.
- Kataoka, H., Ohnishi, N. and Makita, M., 1985. Electron-capture gas chromatography of taurine as its N-pentafluorobenzoyl di-n-butylamide derivative. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 339, 370-374.
- Keha, E. E. and Küfrevioğlu, Ö. İ., 2000. *Biyokimya*. Safak Yayınları, Erzurum.
- Kendler, B. S., 1989. Taurine: an overview of its role in preventive medicine. *Preventive Medicine*, 18(1), 79-100.
- Khan, A. and Ashraf, M., 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and experimental botany*, 63(1-3), 224-231.
- Khan, M., Shirazi, M., Ali, M., Mumtaz, S., Sherin, A. and Ashraf, M., 2006. Comparative performance of some wheat genotypes growing under saline water. *Pak. J. Bot*, 38(5), 1633-1639.
- Khan, N., Samiullah, Singh, S. and Nazar, R., 2007. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193(6), 435-444.

- Kong, X., Luo, Z., Dong, H., Li, W. and Chen, Y., 2017. Non-uniform salinity in the root zone alleviates salt damage by increasing sodium, water and nutrient transport genes expression in cotton. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
- Kong, X., Tian, H., Yu, Q., Zhang, F., Wang, R., Gao, S., Xu, W., Liu, J., Shani, E. and Fu, C., 2018. PHB3 maintains root stem cell niche identity through ROS-responsive AP2/ERF transcription factors in *Arabidopsis*. *Cell Reports*, 22(5), 1350-1363.
- Koyro, H.-W., Ahmad, P. and Geissler, N., 2012. Abiotic stress responses in plants: an overview. *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*, Springer, 1-28.
- Krieger-Liszkay, A., Fufezan, C. and Trebst, A., 2008. Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. *Photosynthesis Research*, 98(1-3), 551-564.
- Kronzucker, H. J., Coskun, D., Schulze, L. M., Wong, J. R. and Britto, D. T., 2013. Sodium as nutrient and toxicant. *Plant and soil*, 369(1), 1-23.
- Krupa, Z. and Baszynski, T., 1989. Acyl lipid composition of thylakoid membranes of cadmium-treated tomato plants. *Acta Physiologiae Plantarum* (Poland),
- Kukreja, S., Nandwal, A., Kumar, N., Sharma, S., Unvi, V. and Sharma, P., 2005. Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biologia Plantarum*, 49(2), 305-308.
- Kumar, R., Goswami, S., Kumar, N., Pandey, S., Pandey, V., Sharma, S., Pathak, H. and Rai, R., 2011. Expression of novel ascorbate peroxidase isoenzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to heat stress. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(11), 188-194.
- Kuru, H. İ., 2007. Arseniğin insan ve bazı canlılarda oksidatif enzimler üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lal, R., 2003. Soil erosion and the global carbon budget. *Environment international*, 29(4), 437-450.
- Lee, D.-H., 2015. In vitro analysis of taurine as anti-stress agent in tomato (*Solanum lycopersicum*)-Preliminary study. *Taurine 9*, Springer, 75-85.
- Lee, Y.-B. and Lee, S.-M., 2000. Effect of S-adenosylmethionine on hepatic injury from sequential cold and warm ischemia. *Archives of Pharmacal Research*, 23(5), 495-500.

- Levitt, J., 1980. *Responses of Plants to Environmental Stresses: Chilling, freezing, and high temperature stresses*. Academic Press,
- Liu, E. H., 1973. A simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extract. *Analytical biochemistry*, 56(1), 149-154.
- Maathuis, F. J. and Amtmann, A., 1999. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Annals of Botany*, 84(2), 123-133.
- Malik, D., Sheoran, I. and Singh, R., 1992. Carbon metabolism in leaves of cadmium treated wheat seedlings. *Plant physiology and biochemistry (Paris)*, 30(2), 223-229.
- Malkin, R. and Niyogi, K., 2000. Photosynthesis. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Ed: B. B. Buchanan, W. Gruissem and R. L. Jones. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, 568–628.
- Mangum, C. and Towle, D., 1977. Physiological adaptation to unstable environments. *American Scientist*, 65, 67-75.
- McCue, K. F. and Hanson, A. D., 1990. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology*, 8, 358-362.
- McCusker, S., Buff, P. R., Yu, Z. and Fascetti, A. J., 2014. Amino acid content of selected plant, algae and insect species: a search for alternative protein sources for use in pet foods. *Journal of nutritional science*, 3
- McNeil, S. D., Nuccio, M. L. and Hanson, A. D., 1999. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant physiology*, 120(4), 945-949.
- Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H. and Foyer, C., 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. *FEBS letters*, 378(3), 203-206.
- Miflin, B., 2000. Crop improvement in the 21st century. *Journal of experimental botany*, 51(342), 1-8.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. and Mittler, R., 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Minibaeva, F. and Gordon, L. K., 2003. Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions. *Russian journal of plant physiology*, 50(3), 411-416.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410.

- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F., 2004a. Questions and future challenges. *Trends in plant science*, 10(9), 490-498.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F., 2004b. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9(10), 490-498.
- Mittler, R. and Zilinskas, B., 1992. Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 267(30), 21802-21807.
- Mobin, M. and Khan, N. A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 601-610.
- Montillet, J.-L., Chamnongpol, S., Rust  ruci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J.-P., Battesti, C., Inz  , D., Van Breusegem, F. and Triantaphylid  s, C., 2005. Fatty acid hydroperoxides and H₂O₂ in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves. *Plant physiology*, 138(3), 1516-1526.
- Morris, J., Rogers, Q. and Pacioretty, L., 1990. Taurine: an essential nutrient for cats. *Journal of Small Animal Practice*, 31(10), 502-509.
- Moyer, M. S., Goodrich, A. L., Rolfes, M. M. and Suchy, F. J., 1988. Ontogenesis of intestinal taurine transport: evidence for a beta-carrier in developing rat jejunum. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 254(6), G870-G877.
- Mullineaux, P. M. and Rausch, T., 2005. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. *Photosynthesis Research*, 86(3), 459-474.
- Munns, R. and Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.
- Mutlu, S., 2009. Salisilik asidin arpada (*Hordeum vulgare* L.) soğuk toleransını sağlama ve apoplastik ile simplastik proteinler üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Nakagawa, K. and Kuriyama, K., 1975. Effect of taurine on alteration in adrenal functions induced by stress. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 25(6), 737-746.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.

- Nakano, Y. and Asada, K., 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28(1), 131-140.
- Nemat Alla, M., Abogadallah, G., Badran, E., Nada, R. and Hassan, N., 2013. Supplementary CaCl₂ ameliorates wheat tolerance to NaCl. *Genetics and Plant Physiology*, 3(3-4), 163-178.
- Nemat Alla, M., Abogadallah, G., Hassan, N., Nada, R. and Badran, E., 2016. Role of CaCl₂ in osmoregulation and up-regulation of the salt stress related genes NHX1 and SOS1 in wheat during NaCl stress. Role of CaCl₂ in osmoregulation and up-regulation of the salt stress related genes NHX1 and SOS1 in wheat during NaCl stress., 29-42.
- Neves, G., Marchiosi, R., Ferrarese, M., Siqueira-Soares, R. and Ferrarese-Filho, O., 2010. Root growth inhibition and lignification induced by salt stress in soybean. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 196(6), 467-473.
- Nieves-Cordones, M., Al Shiblawi, F. R. and Sentenac, H., 2016. Roles and transport of sodium and potassium in plants. The alkali metal ions: Their role for life, Springer, 291-324.
- Nishiyama, Y., Ikeda, H., Haramaki, N., Yoshida, N. and Imaizumi, T., 1998. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *American heart journal*, 135(1), 115-120.
- Noctor, G. and Foyer, C. H., 1998. A re-evaluation of the ATP: NADPH budget during C₃ photosynthesis: a contribution from nitrate assimilation and its associated respiratory activity? *Journal of experimental botany*, 49(329), 1895-1908.
- Nouairi, I., Ammar, W. B., Youssef, N. B., Daoud, D. B. M., Ghorbal, M. H. and Zarrouk, M., 2006. Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of Brassica juncea and Brassica napus leaves. *Plant Science*, 170(3), 511-519.
- O'Flaherty, L., Stapleton, P. P., Redmond, H. P. and Bouchier-Hayes, D. J., 1997. Intestinal taurine transport: a review. *European Journal of Clinical Investigation*, 27(11), 873-880.
- Ouariti, O., Boussama, N., Zarrouk, M., Cherif, A. and Ghorbal, M. H., 1997. Cadmium-and copper-induced changes in tomato membrane lipids. *Phytochemistry*, 45(7), 1343-1350.
- Özkutlu, F. and İnce, E., 1999. Harran ovasının mevcut tuzluluğu ve potansiyel yayılım alanı. GAP I. Tarım Kongresi., Harran Üniv. Ziraat Fak, 26-28.
- Padh, H., 1990. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochemistry and Cell Biology*, 68(10), 1166-1173.

- Pan, Y., Wu, L. J. and Yu, Z. L., 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*, 49(2-3), 157-165.
- Parida, A. K. and Das, A. B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.
- Pasantes-Morales, H., Wright, C. E. and Gaull, G. E., 1985. Taurine protection of lymphoblastoid cells from iron-ascorbate induced damage. *Biochemical Pharmacology*, 34(12), 2205-2207.
- Peng, C., Ou, Z., Liu, N. and Lin, G., 2005. Response to high temperature in flag leaves of super high-yielding rice Pei'ai 64S/E32 and Liangyoupeijiu. *Rice Sci*, 12(3), 179-186.
- Pion, P. D., Kittleson, M. D., Rogers, Q. R. and Morris, J., 1987. Myocardial failure in cats associated with low plasma taurine: a reversible cardiomyopathy. *Science*, 237(4816), 764-768.
- Pitcher, L. H., Brennan, E., Hurley, A., Dunsmuir, P., Tepperman, J. M. and Zilinskas, B. A., 1991. Overproduction of petunia chloroplastic copper/zinc superoxide dismutase does not confer ozone tolerance in transgenic tobacco. *Plant physiology*, 97(1), 452-455.
- Polidoros, A. N. and Scandalios, J. G., 1999. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiologia plantarum*, 106(1), 112-120.
- Postel, S. (2000). Redesigning irrigated agriculture, in state of the world 2000: The Worldwatch Institute, New york.
- Puntarulo, S., Sánchez, R. A. and Boveris, A., 1988. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. *Plant physiology*, 86(2), 626-630.
- Quan, L. J., Zhang, B., Shi, W. W. and Li, H. Y., 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(1), 2-18.
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., Pagliari, M. and di Toppi, L. S., 2005. Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(1), 45-54.
- Rao, A. C. and Reddy, A. R., 2008. Glutathione reductase: a putative redox regulatory system in plant cells. *Sulfur assimilation and abiotic stress in plants*, Springer, 111-147.

- Rasool, S., Hameed, A., Azooz, M., Siddiqi, T. and Ahmad, P., 2013. Salt stress: causes, types and responses of plants. *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*, Springer, 1-24.
- Rausch, T. and Wachter, A., 2005. Sulfur metabolism: a versatile platform for launching defence operations. *Trends in plant science*, 10(10), 503-509.
- Reddy, A. R. and Raghavendra, A. S., 2006. Photooxidative stress. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*, Ed: K. V. Madhava Rao, A. S. Raghavendra and R. K.J. Springer, The Netherlands, 157-186.
- Reddy, M., Sanish, S. and Iyengar, E., 1992. Photosynthetic studies and compartmentation of ions in different tissues of *Salicornia brachiata* under saline conditions. *Photosynthetica (CSFR)*, 26, 173-179.
- Reynoso, G. and De Gamboa, B., 1982. Salt tolerance in the freshwater algae *Chlamydomon as reinhardtii*: effect of proline and taurine. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 73(1), 95-99.
- Rhodes, D. and Hanson, A., 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual review of plant biology*, 44(1), 357-384.
- Romero-Puertas, M. C., Corpas, F. J., Rodríguez-Serrano, M., Gómez, M., Luis, A. and Sandalio, L. M., 2007. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *Journal of Plant Physiology*, 164(10), 1346-1357.
- Romero-Puertas, M. C., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Leterrier, M., Rodríguez-Serrano, M., Del Río, L. A. and Palma, J. M., 2006. Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New phytologist*, 170(1), 43-52.
- Ron, M., 2017. Ros are good. *Trends in plant science*, 22(1), 11-19.
- Sairam, R. and Srivastava, G., 2000. Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, 43(3), 381-386.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046.
- Sandalio, L. and Romero-Puertas, M., 2015. Peroxisomes sense and respond to environmental cues by regulating ROS and RNS signalling networks. *Annals of Botany*, 116(4), 475-485.
- Sanderson, S. L., 2006. Taurine and carnitine in canine cardiomyopathy. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 36(6), 1325-1343.

- Sarowar, S., Kim, E. N., Kim, Y. J., Ok, S. H., Kim, K. D., Hwang, B. K. and Shin, J. S., 2005. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhances tolerance to oxidative stress and pathogens. *Plant Science*, 169(1), 55-63.
- Scandalios, J. G., 1993. Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. *Plant Physiol*, 101(1), 7-12.
- Schippers, J. H., Foyer, C. H. and van Dongen, J. T., 2016. Redox regulation in shoot growth, SAM maintenance and flowering. *Current opinion in plant biology*, 29, 121-128.
- Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F. and Mornhinweg, D. W., 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop science*, 28(3), 526-531.
- Schützendübel, A., Nikolova, P., Rudolf, C. and Polle, A., 2002. Cadmium and H₂O₂-induced oxidative stress in *Populus× canescens* roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(6-8), 577-584.
- Schweiger, R. G., 1967. Low-molecular-weight compounds in *Macrocystis pyrifera*, a marine alga. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 118(2), 383-387.
- Serin, Y., Gökkuş, A., Tan, M., Koç, A. and Çomaklı, B., 1998. Suni çayır tesisinde kullanılabilecek uygun yem bitkileri ve karışımlarının belirlenmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22(1), 13-20.
- Shahbaz, M. and Ashraf, M., 2008. Does exogenous application of 24-epibrassinolide ameliorate salt induced growth inhibition in wheat (*Triticum aestivum* L.)? *Plant Growth Regulation*, 55(1), 51-64.
- Shalata, A. and 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*. *Physiologia plantarum*, 104(2), 169-174.
- Simova-Stoilova, L., Vaseva, I., Grigorova, B., Demirevska, K. and Feller, U., 2010. Proteolytic activity and cysteine protease expression in wheat leaves under severe soil drought and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(2-3), 200-206.
- Singh, S., Anjum, N., Khan, N. and Nazar, R., 2008a. Metal-binding peptides and antioxidant defence system in plants: significance in cadmium tolerance. *Abiotic stress and plant responses*. IK International, New Delhi, 159-189.
- Singh, S., Khan, N. A., Nazar, R. and Anjum, N. A., 2008b. Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress. *Am J Plant Physiol*, 3, 25-32.

- Skórzyńska-Polit, E., Dra, M. and Krupa, Z., 2003. The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana*. *Biologia Plantarum*, 47(1), 71-78.
- Smirnoff, N., 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current opinion in plant biology*, 3(3), 229-235.
- Smirnoff, N., 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*, 53-86.
- Smirnoff, N. and Cumbes, Q. J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060.
- Squires, V. R. and Glenn, E. P., 2004. Salination, desertification, and soil erosion. *The Role of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries in Human Nutrition*, Ed: V. R. Squires. UNESCO, EOLSS Publishers, Oxford, UK,
- Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H., Shekar-Shetty, H., Savithri, H. and Sudhakar, C., 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. *Plant Science*, 141(1), 1-9.
- Srivastava, A. K., Bhargava, P. and Rai, L. C., 2005. Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(6-7), 1291-1298.
- Steduto, P., Albrizio, R., Giorio, P. and Sorrentino, G., 2000. Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. *Environmental and experimental botany*, 44(3), 243-255.
- Stockle, C. O. (2001). *Environmental impact of irrigation*. . Paper presented at the IV International Congress of agricultural engineering.
- Streb, P., Michael-Knauf, A. and Feierabend, J., 1993. Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II are common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions. *Physiologia plantarum*, 88(4), 590-598.
- Sturman, J. A., 1988. Taurine in development. *The Journal of Nutrition*, 118(10), 1169-1176.
- Sturman, J. A., Hepner, G. W., Hofmann, A. F. and Thomas, P. J., 1975. Metabolism of [35S] taurine in man. *The Journal of nutrition*, 105(9), 1206-1214.
- Şimşek, Ö., Dönmez, D. and Kaçar, Y., 2018. Bazı turuncğil anaçlarının in vitro kuraklık stresi koşullarında performanslarının araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(3), 305-310.

- Taiz, L. and Zeiger, E., 2002. *Plant Physiology* (3rd ed.). Sinauer Associates, 690,
- Tanou, G., Molassiotis, A. and Diamantidis, G., 2009. Hydrogen peroxide-and nitric oxide-induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl-stress and stress-free conditions in citrus plants. *Journal of Plant Physiology*, 166(17), 1904-1913.
- Taşğın, E., 2004. Düşük sıcaklık ve salisilik asidin kışlık buğday yapraklarındaki donma toleransı, oksidatif enzim aktiviteleri ve apoplastik proteinler üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Tattini, M., Coradeschi, M., Ponzio, C. and Traversi, L., 1994. Responses of olive plants to salt stress. *Abstr. XXIVth Int. Hort. Congr. Kyoto-Japan ISHS*,
- Terry, R., 1997. Soil salinity. Brigham young university, collage of biology and agriculture publishing, (282)
- Tester, M. and Davenport, R., 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91(5), 503-527.
- Tognetti, V. B., Bielach, A. and Hrtyan, M., 2017. Redox regulation at the site of primary growth: auxin, cytokinin and ROS crosstalk. *Plant, cell & environment*, 40(11), 2586-2605.
- Trachtman, H., Del Pizzo, R., Sturman, J. A., Huxtable, R. J., Finberg, L. and Mizner, W., 1988. Taurine and osmoregulation: II. Administration of taurine analogues affords cerebral osmoprotection during chronic hypernatremic dehydration. *American Journal of Diseases of Children*, 142(11), 1194-1198.
- Triantaphylides, C., Krischke, M., Hoeberichts, F. A., Ksas, B., Gresser, G., Havaux, M., Van Breusegem, F. and Mueller, M. J., 2008. Singlet oxygen is the major reactive oxygen species involved in photooxidative damage to plants. *Plant physiology*, 148(2), 960-968.
- Tsakagoshi, H., Busch, W. and Benfey, P. N., 2010. Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. *Cell*, 143(4), 606-616.
- Vassilev, A., Lidon, F., Scotti, P., Da Graca, M. and Yordanov, I., 2004. Cadmium-induced changes in chloroplast lipids and photosystem activities in barley plants. *Biologia Plantarum*, 48(1), 153-156.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
- Wagner, D., Przybyla, D., op den Camp, R., Kim, C., Landgraf, F., Lee, K. P., Würsch, M., Laloi, C., Nater, M. and Hideg, E., 2004. The genetic basis of singlet oxygen-induced stress responses of *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 306(5699), 1183-1185.

- Wang, Y. and Nii, N., 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(6), 623-627.
- Wang, Y., Wisniewski, M., Meilan, R., Uratsu, S. L., Cui, M., Dandekar, A. and Fuchigami, L., 2007. Ectopic expression of Mn-SOD in *Lycopersicon esculentum* leads to enhanced tolerance to salt and oxidative stress.
- Wang, Y., Ying, Y., Chen, J. and Wang, X., 2004. Transgenic *Arabidopsis* overexpressing Mn-SOD enhanced salt-tolerance. *Plant Science*, 167(4), 671-677.
- Wicke, B., Smeets, E., Dornburg, V., Vashev, B., Gaiser, T., Turkenburg, W. and Faaij, A., 2011. The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils. *Energy & Environmental Science*, 4(8), 2669-2681.
- Witham, F. H., Feung, C.-S. and Hamilton, R. H., 1971. Metabolism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid by soybean cotyledon callus tissue cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(3), 475-479.
- Wu, Q.-S., Zou, Y.-N. and He, X.-H., 2010a. Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(2), 297-304.
- Wu, Q. S., Zou, Y. N., Liu, W., Ye, X., Zai, H. and Zhao, L., 2010b. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with mycorrhiza: changes in leaf antioxidant defense systems. *Plant, Soil and Environment*, 56(10), 470-475.
- Xiang, C., Werner, B. L., E'Lise, M. C. and Oliver, D. J., 2001. The biological functions of glutathione revisited in *Arabidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels. *Plant physiology*, 126(2), 564-574.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B. and Wang, J., 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(4), 433-440.
- Yannarelli, G. G., Fernández-Alvarez, A. J., Santa-Cruz, D. M. and Tomaro, M. L., 2007. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochemistry*, 68(4), 505-512.
- Ye, Y., Tam, N. F., Wong, Y. and Lu, C., 2003. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and experimental botany*, 49(3), 209-221.
- Yeo, A., 1998. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. *Scientia Horticulturae*, 78(1-4), 159-174.

- Yeo, A. R., 1983. Salinity resistance: Physiologies and prices. *Physiologia Plantarum*, 58, 214-222.
- Yılmaz, S. and Ozan, S., 2003. Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki. *Türk Biyokimya Dergisi*, 28(4), 252-256.
- Yordanova, R. Y., Christov, K. N. and Popova, L. P., 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and experimental botany*, 51(2), 93-101.
- Zafra, A., Rodríguez-García, M. I. and de Dios Alché, J., 2010. Cellular localization of ROS and NO in olive reproductive tissues during flower development. *BMC Plant Biology*, 10(1), 1-14.
- Zeid, I., 2009. Effect of arginine and urea on polyamines content and growth of bean under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(1), 65.
- Zeng, J., Dong, Z., Wu, H., Tian, Z. and Zhao, Z., 2017. Redox regulation of plant stem cell fate. *The EMBO journal*, 36(19), 2844-2855.
- Zhang, F., Shi, W., Jin, Z. and Shen, Z., 2002. Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. *Journal of plant nutrition*, 26(9), 1779-1788.
- Zhang, Q., Liu, H., Wu, X. and Wang, W., 2020. Identification of drought tolerant mechanisms in a drought-tolerant maize mutant based on physiological, biochemical and transcriptomic analyses. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1-14.
- Zhu, J.-K., 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current opinion in plant biology*, 6(5), 441-445.
- Zlatev, Z., Lidon, F., Ramalho, J. and Yordanov, I., 2006. Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.