

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TUZ STRESİ ALTINDAKİ MISIR (*Zea mays* L.) BİTKİSİNDE
ASKORBİK ASİT UYGULAMALARININ FİZYOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru TORLAK

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ
Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Ali DOĞRU

Haziran 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TUZ STRESİ ALTINDAKİ MISIR (*Zea mays* L.) BİTKİSİNDE
ASKORBİK ASİT UYGULAMALARININ FİZYOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru TORLAK

Enstitü Anabilim Dalı

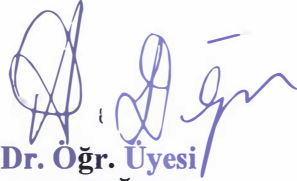
BİYOLOJİ

Bu tez 13.06.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



Doç. Dr.
Özlem AKSOY

Jüri Başkanı



Dr. Öğr. Üyesi
Ali DOĞRU

Üye



Doç. Dr.
Tuğba ONGUN
SEVİNDİK

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Ebru TORLAK

12.06.2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Ali DOĞRU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın başından sonuna kadar manevi açıdan desteğini ve yardımını esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Ayşe Gül TEKBABA, Muhammed HAS ve Muharrem GÜRER'e teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteğini hiç eksik etmeyen annem Hikmet TORLAK ve babam Hasan TORLAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
 BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
 BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	6
2.1. Bitkinin Yapısı	6
2.2. Bitkilerde Büyüme ve Gelişme	6
2.3. Bitki Büyümesini Etkileyen Faktörler.....	7
2.3.1. Eksojen (dışsal) faktörler	7
2.3.1.1. Işık	7
2.3.1.2. Sıcaklık	8
2.3.1.3. Su ve nem	8
2.3.1.4. Mineraller	9
2.3.1.5. Yer çekimi etkisi.....	9
2.3.1.6. Endüstriyel ürünler	9
2.3.2. Endojen (içsel) faktörler	9
2.3.2.1. Oksinler.....	10
2.3.2.2. Sitokininler	10
2.3.2.3. Giberellinler	11

2.3.2.4. Absisik asit.....	11
2.3.2.5. Etilen.....	12
2.4. Bitki Stres Kavramı ve Sınıflandırılması	12
2.4.1. Stres toleransı	14
2.4.2. Stres aklimasyonu ve adaptasyonu.....	15
2.4.3. Stresten kaçınma	15
2.4.4. Stresten sakınma.....	15
2.5. Tuz Stresi.....	16
2.5.1. Toprakta primer ve sekonder tuzluluk.....	16
2.5.2. Tuz stresinin bitki büyümesi üzerine etkisi	17
2.5.3. Tuz stresinin organ düzeyindeki etkileri	17
2.5.4. Tuz stresinin hücre düzeyindeki etkileri.....	18
2.5.5. Tuz stresinin hücre düzeyindeki diğer etkileri	18
2.5.6. Tuz stresinin fotosentez üzerine etkisi	19
2.5.7. Fotosentetik mekanizmaya etkisi	20
2.6. Bitkilerde Tuz Toleransı Sağlayan Mekanizmalar	21
2.6.1. Tuzdan sakınma ve yapısına almama	21
2.6.2. Tuzun eliminasyon yoluyla uzaklaştırılması	21
2.6.3. Sukkulent yapılarla tuzun seyreltilmesi ve yeniden dağılımı.....	22
2.7. Tuz Toleransı Sağlayan Mekanizmalar	22
2.7.1. İyon dengesinin düzenlenmesi ve tuza aşırı duyarlı sinyal iletim yolu (SOS)	22
2.7.2. Düzenleyici osmolitlerin biyosentezi	24
2.8. Tuz Stresine Karşı Gen Cevapları	26
2.8.1. Efektör moleküller.....	26
2.8.2. Regülatör moleküller.....	27
2.9. Oksidatif Stres	27
2.9.1. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$).....	28
2.9.2. Süperoksit radikali (O_2^-)	29
2.9.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2).....	29
2.9.4. Hidroksil radikali (OH^-)	29
2.10. Bitkilerde Antioksidant Sistem.....	30

2.10.1. Enzimatik antioksidanlar	31
2.10.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	31
2.10.1.2. Askorbat peroksidaz (APOD)	32
2.10.1.3. Katalaz (KAT)	32
2.10.1.4. Glutasyon redüktaz (GR)	33
2.10.1.5. Guaiakol peroksidaz (GPOD)	34
2.10.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar	35
2.10.2.1. Askorbik asit	35
2.10.2.2. Tokoferoller	35
2.10.2.3. Karotenoidler	36
2.10.2.4. Glutasyon	37
2.10.2.5. Fenolik bileşikler	37
2.11. Askorbik Asit	38
2.11.1. Askorbik asitin bitkilerdeki biyosentezi	39
2.11.2. Askorbik asit ve tuz stresi	40
2.12. Mısır Hakkında Genel Bilgiler	41

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE YÖNTEM	43
3.1. Bitki Materyali	43
3.2. Yöntem	43
3.2.1. Kullanılan araç ve gereçler	43
3.3. Bitki Yetiştirme Yöntemi	43
3.4. Analizler	45
3.4.1. Fotosentetik pigment miktarının belirlenmesi	45
3.4.2. Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi	46
3.4.3. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	46
3.4.4. Serbest prolin miktarının belirlenmesi	46
3.5. Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	47
3.5.1. Toplam süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi ..	47
3.5.2. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesinin belirlenmesi	47
3.5.3. Toplam glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesi	48

3.5.4. Toplam guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesinin belirlenmesi	48
3.5.5. Askorbik asit miktarının belirlenmesi	49
3.6. İstatistik Analizler	49

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI	50
4.1. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosentetik Pigment Üzerine Etkisi.....	50
2.3.3. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının klorofil a miktarı üzerine etkisi	50
2.3.4. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının klorofil b miktarı üzerine etkisi	51
2.3.5. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının toplam klorofil miktarı üzerine etkisi	52
2.3.6. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi	53
4.2. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....	54
4.3. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının H ₂ O ₂ Miktarı Üzerine Etkisi.....	55
4.4. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Serbest Prolin Miktarı Üzerine Etkisi.....	56
4.5. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	57
4.6. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam APOD Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	58
4.7. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam GR Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	59
4.8. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam GPOD Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	60
4.9. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Askorbik Asit Miktarı Üzerine Etkisi.....	61

BÖLÜM 5.

TARTIŞMA VE SONUÇ	63
-------------------------	----

KAYNAKLAR.....	69
----------------	----

ÖZGEÇMİŞ	82
----------------	----



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

$^1\text{O}_2$	: Tekli uyarılmış (singlet) oksijen
ABA	: Absisik asit
AOT	: Aktif oksijen türleri
APOD	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
CBL4	: Kalsinerium B-benzeri protein
CDPK	: Kalsiyum iyonuna bağlı protein kinazlar
Cl^-	: Klor iyonu
DHAR	: Dehidroaskorbat redüktaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dS m^{-1}	: Desisiemens metre ⁻¹
ESP	: Değişebilir sodyum yüzdesi
FSI	: Fotosistem I
FSII	: Fotosistem II
GA	: Giberellik asit
GB	: Glisinbetain
GPOD	: Guaiakol peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSG	: Okside olmuş glutasyonu
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
HCA	: Hidrosinamik asit
HKT	: Na^+ ya karşı seçici olmayan
HSP	: Isı şok proteinleri
IAA	: İndol-3-asetik asit
ITK	: Işık toplayıcı kompleksi

K ⁺	: Potasyum iyonu
LEA	: Geç embriyogenez proteinleri
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinazları
MAPKK	: MAPK kinaz
MAPKKK	: MAPK kinaz kinaz
MDA	: Malondialdehit
MDHA	: Monodehidroaskorbik asid
mM	: Milimolar
Na ⁺	: Sodyum iyonu
NaCl	: Sodyum klorür
NADPH	: Nikotinadenin amid dinükleotid fosfat
NADP ⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
Nax	: Na ⁺ 'ya karşı seçici olmayan
NHX	: Na ⁺ /H ⁺ taşıyıcıları
nm	: Nanometre
NSCC	: Seçici olmayan katyon kanalı
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH ⁻	: Hidroksil radikali
P5CS	: Prolin-5-karboksilaz sentetaz
P5CR	: Prolin-5-karboksilaz redüktaz
ppm	: Milyonda bir birim
RNA	: Ribonükleik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbitürik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
-SH	: Sülfhidril

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bitki büyümesi ve gelişmesinde etkili olan stres faktörleri.....	13
Şekil 2.2. Çeşitli faktörlere bağlı olarak bitkilerin oluşturabileceği stres cevapları.....	14
Şekil 2.3. Askorbat-glutasyon döngüsü.....	34
Şekil 4.1. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki klorofil a miktarı üzerine etkisi.....	51
Şekil 4.2. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki klorofil b miktarı üzerine etkisi.....	52
Şekil 4.3. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.....	53
Şekil 4.4. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi.....	54
Şekil 4.5. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki MDA miktarı üzerine etkisi.....	55
Şekil 4.6. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki H ₂ O ₂ miktarı üzerine etkisi.....	56
Şekil 4.7. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki serbest prolin miktarı üzerine etkisi.....	57
Şekil 4.8. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki SOD aktivitesi üzerine etkisi.....	58
Şekil 4.9. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki toplam APOD aktivitesi üzerine etkisi.....	59

Şekil 4.10. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki GR aktivitesi üzerine etkisi.....	60
Şekil 4.11. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki GPOD aktivitesi üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.12. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki indirgenmiş AsA miktarı üzerine etkisi.....	62



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Bazı antioksidant bileşikler ve temel görevleri.....	31
Tablo 3.1. Hoagland besin çözeltisi.....	45



ÖZET

Anahtar kelimeler: Antioksidant sistem, askorbik asit, foliar uygulama, mısır, tuz stresi, *Zea mays*

Bu çalışmada tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) altındaki bir mısır genotipinde (*Zea mays* L. cv. Ada 9510) foliar askorbik asit (100 ppm) uygulamasının etkisi bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler yardımıyla araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm tuz konsantrasyonları mısır yapraklarındaki süperoksid dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz ve guaiakol peroksidaz aktivitesini ve indirgenmiş askorbik asit miktarını ilgili kontrollerle karşılaştırıldığında azaltmıştır. Düşük süperoksid dismutaz aktivitesi tuz stresinin mısır yapraklarındaki süperoksid radikali birikimini artırdığını göstermektedir. Benzer şekilde düşük askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitesi ile indirgenmiş askorbik asit miktarı H_2O_2 'nin parçalanmasından sorumlu olan askorbat-glutatyon döngüsünün aktivitesinin de azaldığını işaret etmektedir. Bu sonuçlara uygun olarak, tuz stresi (75 ve 100 mM) altındaki mısır yapraklarında H_2O_2 miktarının arttığı belirlenmiştir. Bu da aynı tuz konsantrasyonlarında, yüksek MDA miktarı ile gösterildiği gibi, lipid peroksidasyon derecesini artırmıştır. Tuz stresi altındaki mısır yapraklarında aynı zamanda muhtemelen düşük antioksidant aktivite, yüksek H_2O_2 miktarı ve lipid peroksidasyonu nedeniyle fotosentetik pigment (klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid) miktarı da azalmıştır. Foliar askorbik asit uygulaması ise tuz stresi (75 ve 100 mM) altındaki mısır yapraklarındaki süperoksid dismutaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitesini ve indirgenmiş askorbik asit miktarını artırmıştır. Bu sonuçlar, foliar askorbik asit uygulamalarının tuz stresi altındaki mısır yapraklarında süperoksid radikali birikimini azalttığını ve askorbat-glutatuon döngüsü enzimlerini indüklediğini ispat etmektedir. Sonuçta yüksek antioksidant enzim aktiviteleri tuz stresi altındaki mısır yapraklarında H_2O_2 ve MDA miktarının azalmasına ve fotosentetik pigment miktarının artmasını sağlamıştır.

Sonuçlarımıza göre foliar askorbik asit uygulamasının antioksidant kapasite ve fotosentetik pigment miktarını artırarak, H_2O_2 miktarı ve membran hasarını azaltarak tuz stresinin mısır yapraklarında neden olduğu olumsuz etkileri iyileştirdiği söylenebilir.

INVESTIGATION OF THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF ASCORBIC ACID APPLICATIONS IN CORN (*Zea mays* L.) PLANT UNDER SALT STRESS

SUMMARY

Keywords: Antioxidant system, ascorbic acid, foliar application, maize, salt stress, *Zea mays*

In this study, the effect of foliar ascorbic acid (100 ppm) application on maize genotype (*Zea mays* L. Ada 9510) under salt stress (50, 75 and 100 mM NaCl) was investigated through some physiological and biochemical parameters. All salt concentrations used in this study decreased superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, glutathione reductase, guaiacol peroxidase activity and reduced ascorbic acid content in the leaves of maize plants as compared to respective controls. Lower superoxide dismutase activity showed that salt stress increased superoxide radical accumulation in the leaves of maize. Similarly, decreased level of ascorbate peroxidase and glutathione reductase activity and reduced ascorbic acid content may indicate lower efficiency of ascorbate-glutathione cycle which is responsible for the degradation of H_2O_2 . In consistent with these results, higher level of H_2O_2 was detected in the leaves of maize seedlings under salt stress (75 and 100 mM) and therefore the degree of lipid peroxidation was found to increase, as indicated by higher MDA content at the same salt concentrations. Photosynthetic pigment (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and total carotenoid) content was also lower in the salt-stressed maize leaves as compared to controls, probably due to lower antioxidant activity, higher H_2O_2 accumulation and lipid peroxidation. Foliar ascorbic acid application, on the other hand, increased superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase activity and reduced ascorbic acid content in the leaves of maize under salt stress (75 and 100 mM). These results confirmed that foliar ascorbic acid application decreased superoxide radical accumulation and induced ascorbate-glutathione cycle enzymes in the leaves of maize genotype under salt stress. Therefore, higher activity of antioxidant enzymes led to the lower H_2O_2 and MDA content, and higher photosynthetic pigment content.

According to these results, it may be concluded that, foliar ascorbic acid application ameliorates the negative effects of salt stress in maize leaves by increasing antioxidant capacity and photosynthetic pigment content and by decreasing H_2O_2 accumulation and membrane damage.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Dokuların kendine özgü özellikleri ve organlardaki özelleşmiş hücreler bir bitkinin sürekli büyüme ve gelişmesiyle doğrudan ilişkilidir. Büyüme, hücrelerin bölünmesi, genişlemesi ve farklılaşmasından kaynaklanan kuru madde, hacim, uzunluk veya alandaki artıştır (Lambers ve ark., 2008). Bitki hücresindeki anabolik olayların katabolik olaylardan daha hızlı bir şekilde meydana gelmesi bitkideki büyümeyi sağlamaktadır (Larcher, 1995). Bitkinin yapısal olarak değişmesine ise farklılaşma denir. Büyüme ve farklılaşma olaylarının bütünü olarak tanımlanan gelişme, bitkinin tüm yaşam döngüsünü kapsayan süreçteki karmaşık olayları içermektedir (Sebanek, 1992).

Bitkinin büyüme ve gelişme olayları bulunduğu ortamın çeşitli şartları ve her bitkinin kendine ait özelliklerine bağlıdır. Ortam şartlarından oluşan etmenler eksojen (dışsal) faktörler, kendine özgü özelliklerden oluşan etmenler endojen (içsel) faktörler olarak adlandırılmaktadır (Vardar, 1985).

Bitkilerde stres, abiyotik ve biyotik faktörlerle ilgilidir. Abiyotik faktörler; ışık, pH, sıcaklık, su, gazlar, mineral maddeler, mekanik etkiler, radyasyon ve kimyasallar gibi etmenlerdir. Biyotik faktörler ise yabancı otlar, patojenler, böcekler, mikroorganizmalar (mantar, virüs, bakteri), hayvanlar ve insanların oluşturdukları olumsuz etkilerdir.

Bitkiler stres şartlarını ortadan kaldırmak veya stresten minimum derecede etkilenecek yaşamlarını sürdürebilmek için çeşitli direnç ve dayanıklılık mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlar; stres toleransı, stres adaptasyonu ve aklimasyonu, stresten kaçma ve stresten sakınma olarak açıklanmaktadır.

Doğal koşullar altında, deniz suyu ile tatlı suların birbirine karıştığı alanlarda ve gelgitlerle yer değiştirdiği haliçlerde yetişen bitkiler yüksek konsantrasyonlarda tuza maruz kalmaktadır.

Tuzluluk, oluşma sebeplerine göre primer (doğal) ve sekonder tuzluluk olarak iki grupta incelenir. Tuzların yağışlarla birlikte atmosferden toprağa geçmesi, minerallerin parçalanması ve ayrışmasıyla ortaya çıkan tuzlar ve tuzlu su kaynaklarından toprağa geçen tuzlar primer tuzluluğun nedenleri arasındadır. Sekonder tuzluluk ise zayıf toprak drenajı, tarımsal alanlarda tek yıllık bitki kullanımı, tuz bakımından zengin yer altı sularının varlığı, yoğun tarımsal sulama ve bu suda tuz bileşiklerinin bulunması ve topraktaki hidrolik yapının değişmesi nedeniyle meydana gelmektedir. Ayrıca toprakların bazı kimyasallarla kontaminasyonu ve doğal arazilerin kontrolsüz bir şekilde tarıma açılması sekonder tuzluluk nedenlerindendir (Yılmaz, 2014).

Toprak tuzluluğu bitkilerde yavaş ve yetersiz tohum çimlenmesi, turgor kaybı, solma ve kuruma, bodurluk, küçük yaprak oluşumu, gövde büyümesinin yavaşlaması, mavimsi yeşil yaprak oluşumu, çiçeklenmenin gecikmesi, çiçek sayısının azalması, daha küçük tohum oluşumu gibi olumsuzluklara neden olmaktadır. Ayrıca tuzlanmış tarımsal alanlarda tuza dayanıklı yabancı otların gelişimi de gözlenmektedir.

Hücre uzamasına ve bölünmesine direkt etki eden tuz stresi; bitkinin ağırlığında ve kök ile gövdenin büyüme hızında azalmaya neden olmaktadır (Çulha ve Çakırlar, 2011). Toprak çözeltisindeki çözünmüş madde miktarının artması, ozmotik basıncı da artırdığından bitkinin su alımını da olumsuz etkilemektedir. Tuz stresinde hücre organellerinde de değişimler gözlenmektedir. Stresten en çok etkilenen organel kloroplast olarak bilinmektedir. Yüksek tuz varlığında kloroplastlarda üretilen aktif oksijen türleri, tilakoidlerin şişmesine ve dalgali bir yapı almasına neden olmaktadır.

Mitokondriler de tuz stresinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Kristalarda azalma, vakuol oluşumunda artış, organelde şişme, elektron taşınım hızında azalma gibi değişimler oluşmaktadır (Koyro, 2002).

Tuz stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması dolaylı olarak kloroplastların tilakod membranlarında meydana gelen elektron taşınım reaksiyonlarını da etkilemektedir. Tuz stresi özellikle fotosistem II' nin (FSII) yapısında bulunan D1 proteininin zarar görmesine ve hatta parçalanmasına neden olmaktadır (Ferroni ve ark., 2007).

Bitkiler tuz stresine maruz kaldıklarında osmotik korucuyucu bileşikler yapılarında biriktirmektedirler ve bu bileşenler birbirinin yerini alabilen (compatible) yapılardır (Hussein ve ark., 2008). Bu yapıların büyük çoğunluğunu organik maddeler oluştururken, bir kısmını ise K^+ (potasyum) gibi temel iyonlar oluşturmaktadır (Parvaiz ve Satyawati, 2008). Diğer bir adı osmolit olan bu bileşenler bitkiyi dehidrasyona karşı koruyabilmektedir. Bu yapılar nötral olup, toksik etki yaratmayan, hücre yapısına zarar vermeyen ve molekül ağırlığı düşük moleküllerdir (Djilianov ve ark., 2005).

Tuz stresi koşullarında bitki hücrelerinde birçok aminoasitle karşılaştırıldığında en fazla biriken osmolit prolindir (Ábrahám ve ark., 2003). Prolin normal koşullarda sitozolde birikim göstererek osmotik regülasyon sağlamaktadır (Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Tuz stresinin etkin olduğu durumlarda düzenleyici proteine bağlanarak gen ekspresyonunu başlatan moleküllerin ifadesi artmaktadır. Bu moleküller görevlerine göre iki başlık altında incelenmektedir. Bunlardan ilki efektör (koruyucu) moleküller, diğeri ise regülatör (düzenleyici) moleküllerdir. Efektör moleküller çevreden gelen stres faktörlerine karşı koruma görevi yaparken, regülatör moleküller gen ekspresyonunu ve strese verilen cevaplarla ilgili sinyal iletimini düzenleyici olarak görev yapmaktadırlar. LEA proteinleri, şaperonlar, iyon taşıyıcılar, detoksifikasyonda görevli enzimler ve bazı proteazlar, düzenleyici osmolit oluşumunda etkili enzimler efektör moleküller grubunda yer almaktadır. Düzenleyici moleküllerin protein fosforilasyonunda ve sinyal iletiminde görev alan önemli grubu protein kinazlardır.

Radikal veya aktif oksijen türleri (AOT) olarak adlandırılan bileşiklerin dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron çiftleri bulunmaktadır. Yarı ömürleri kısa olan ve elektron konfigürasyonları normal olmayan AOT'ler çevresindeki diğer moleküllere elektron verebilir ve etkileşime girerek elektron alabilmektedir. Yapısal olarak kararsız olan AOT'ler kararlı hale gelebilmek için diğer atom veya moleküllerle etkileşime girer ve bunların molekül yapılarını bozabilir. Bu moleküller diğer moleküllerle elektron alışverişi yapabildikleri için yükseltgeyici ve indirgeyici özelliğe sahiptirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

AOT'ler radikaller ve nonradikaller olarak iki gruba ayrılmaktadır. Radikaller eşleşmemiş elektronlara sahip olan bileşiklerdir. Bu sebeple diğer moleküllerle hızlıca tepkimeye girebilmektedir. Bunlara örnek olarak hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) ve süperoksit radikali ($\text{O}_2^\cdot$) verilebilir. Nonradikaller ise radikallere göre daha kararlı yapıya sahiptir ve yapılarındaki elektronlar çiftler halinde bulunmaktadır. Bu yüzden radikallere göre diğer moleküllerle tepkimeye girme eğilimleri daha azdır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Buna örnek olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülü verilebilir (Genişel, 2010).

Antioksidantlar, canlı organizmalarda bulunan ve AOT'leri detoksifiye ederek oksidatif stresin istenmeyen etkisini önlemekten ya da azaltmaktan sorumlu olan bir sistemdir (He ve ark., 2017; Rahal, 2014).

Antioksidant sistem enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden meydana gelmektedir. Bu sistemin enzimatik bileşenleri arasında süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve guaiakol peroksidaz; enzimatik olmayan bileşenleri arasında ise askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler, glutatyon ve fenolik bileşikler sayılabilir. Bütün bitki türlerinin belli oranda bir antioksidant potansiyele sahip olduğuna inanılmaktadır (Hassan, 2017; Kasote ve ark., 2015).

Bitkilerde güçlü bir antioksidant olan askorbik asit (AsA), $176.12 \text{ g mol}^{-1}$ 'lük bir moleküler kütleye sahiptir. Suda çözünür ve beyaz ile açık sarı kristaller veya toz şeklinde görünmektedir. Vitamin suda çözünür olduğu için, taze meyvelerde, özellikle de portakal, limon ve mandalina ağırlıklı, narenciye ailesinde bulunur ve ayrıca yeşil

yapraklı sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır. Güçlü indirgeme kabiliyeti nedeniyle askorbik asit, sıvı ve katı gıda maddelerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Mahmoud ve ark., 2013). Eski Yunanlılar, Mısırlılar ve Romalılar, C vitamini eksikliğinin insanlar arasında iskorbüt hastalığına neden olduğunu bildirmişlerdir. 1750'lerde, James Lind günlük taze meyve ve sebze tüketiminin hastalığın iyileşmesinde yardımcı olduğunu keşfetmiştir (Davey ve ark., 2000).

Askorbik asit, diğer antioksidantlarla birlikte, H_2O_2 ve diğer AOT'leri detoksifiye ederek oksidatif hasarın minimum seviyeye indirilmesine ve membranların stabilize edilmesine yardımcı olur. Askorbik asidin tuz stresi altındaki bitkilere uygulanması, çimlenme döneminde askorbat ve glutatyon içeriğinde bir artışa yol açmaktadır (Asada, 1999). Tuz stresi altında askorbik asit, büyüme düzeninde ve bitki metabolizmasında, su ve besin maddelerinin erişilebilirliğini arttırmada önemli bir rol oynamaktadır.

Bu çalışmada, mısırın (*Zea mays* L.) Ada 9510 genotipinin tuz stresi (50, 75, 100 mM) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının etkisi, bazı fizyolojik büyüme parametreleri, oksidatif hasar indikatörleri (MDA ve H_2O_2 miktarı) ve bazı içsel dayanıklılık mekanizmaları (prolin miktarı ve bazı antioksidant enzim aktiviteleri) yoluyla araştırılmış ve askorbik asit uygulamaları ile tuz toleransı arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitkinin Yapısı

Bitkiler karasal ortamların yarattığı özel sorunlara sudan karaya geçtiği süre boyunca evrimsel olarak uyum sağlamışlardır. Bir bitkinin yapısı, çevreyle olan ilişkisini yansıtmaktadır. Tüm bitki türleri uzun dönemde seleksiyonla birlikte içinde büyüdükleri ve geliştikleri ortamda yaşama ve üreme başarısını arttıran adaptasyonları geliştirmiştir. Örneğin, çöl bitkilerinde gövdenin fotosentetik organ halini almasının nedeni yaprağın indirgenmiş olmasıdır. Buradaki morfolojik adaptasyon sayesinde yaprağın su kaybı en aza indirgenmiştir. Bitkiler dinamik bir yapıya sahip olduklarından dolayı kısa dönemde özel ortamlara yapısal olarak çok hızlı yanıt vermektedir. Fakat çevresel değişikliklere karşı verdikleri fizyolojik cevaplar yapısal cevaplarından daha hızlıdır. Genellikle çöl bitkileri hariç diğer çoğu bitki kuraklık koşullarına çok az maruz kalmaktadır. Oluşan bu stresle başa çıkmak için bitkiler öncelikle fizyolojik olarak cevap vermektedir (Campbell ve Reece, 2010).

2.2. Bitkilerde Büyüme ve Gelişme

Bitkilerin çoğu yaşamı boyunca büyümeye devam etmektedir. Bu özelliğe bitkilerde sınırsız büyüme adı verilmektedir. Dokuların kendine özgü özellikleri ve organlardaki özelleşmiş hücreler bir bitkinin sürekli büyüme ve gelişmesiyle doğrudan ilişkilidir. Büyüme, hücrelerin bölünmesi, genişlemesi ve farklılaşmasından kaynaklanan kuru madde, hacim, uzunluk veya alandaki artıştır (Lambers ve ark., 2008). Bitki hücresindeki anabolik olayların katabolik olaylardan daha hızlı bir şekilde meydana gelmesi bitkideki büyümeyi sağlamaktadır (Larcher, 1995). Bitkinin yapısal olarak değişmesine ise farklılaşma denir. Büyüme ve farklılaşma olaylarının bütünü olarak tanımlanan gelişme, bitkinin tüm yaşam döngüsünü kapsayan süreçteki karmaşık

olayları içermektedir (Sebanek, 1992). Büyüme ve gelişme bitkideki özel yapılar sayesinde gerçekleşmektedir. Bunlar büyüme bölgelerinde bulunan ve devamlı olarak bölünebilme özelliğinde olan meristem olarak adlandırılan yapılardır. Bölünen meristematik hücrelerden bir kısmı bitkinin büyüyen organlarına katılırken diğer kısmı yeni hücreler oluşturmak üzere bu bölgede kalmaktadır.

Bitki büyümesinde meristemlerin konumu önemli rol oynamaktadır. Primer büyümeden sorumlu olan apikal meristemler, kök uçları ve gövde tomurcuklarında bulunmaktadır ve bitkinin boyuna büyümesini sağlar. Lateral (yanal) meristemler ise kök ve gövde çapında artışa neden olarak bitkinin enine büyümesini sağlar. Bu nedenle sekonder büyümeden sorumludur (Campbell ve Reece, 2010).

2.3. Bitki Büyümesini Etkileyen Faktörler

Bitkinin büyüme ve gelişme olayları bulunduğu ortamın çeşitli şartları ve her bitkinin kendine ait özelliklerine bağlıdır. Ortam şartlarından oluşan etmenler eksojen (dışsal) faktörler, kendine özgü özelliklerden oluşan etmenler endojen (içsel) faktörler olarak adlandırılmaktadır (Vardar, 1985).

2.3.1. Eksojen (dışsal) faktörler

Büyüme ve gelişme üzerinde farklı etkiler gösteren çeşitli eksojen faktörler bulunmaktadır. Bunlar ışık, sıcaklık, su ve nem, mineraller, yer çekimi etkisi ve endüstriyel ürünlerdir.

2.3.1.1. Işık

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi ışığın yoğunluğu, dalga boyu ve süresi etkilemektedir. Işık elektromanyetik bir radyasyon veya fotonlardan oluşur. Görünür ışığın dalga boyu 400-700 nm arasında olup bu bölgede bulunan mavi-mor ve kırmızı-turuncu ışıklar fotosentetik elektron taşınım reaksiyonları için gereklidir. Yüksek ışık yoğunluğu fotosentez üzerinde fotoinhibisyon etkisi yaparak bitkilerde büyümeyi olumsuz yönde

etkilemektedir (Kadıoğlu, 2011). Fazla ışık alan bitkilerin bodur oluşu bu olaya bir örnektir.

Bitkiler için uygun olan ışık yoğunluğu bitkinin türüne bağlı olarak değişmektedir. Gün uzunluğu (fotoperiyodizma) da bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerinde etkilidir. Örneğin bazı bitki türleri kısa, bazıları da uzun fotoperiyotlara maruz kaldıkları zaman çiçeklenir. Bu bitkiler sırasıyla kısa gün bitkileri ve uzun gün bitkileri olarak adlandırılmaktadır. Diğer yandan bazı bitki türleri fotoperiyodizmadan bağımsız olarak çiçeklenebilmektedir. Bu bitkiler çiçeklenmek için başka faktörlere bağlı kalmaktadır. Mısırında içinde bulunduğu bu gruba nötr bitkiler denir (Vardar, 1985). Bitkilerde tek yönlü ışığa maruz kalma durumunda fototropizma (ışığa yönelim) hareketi gözlemlenmektedir.

2.3.1.2. Sıcaklık

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen önemli dışsal faktörlerden biri de sıcaklıktır. Bitkilerde büyüme hızına olumsuz etki eden düşük sıcaklık değerine minimum, yüksek sıcaklık değerine maksimum sıcaklık denir. Optimum sıcaklık ise büyüme hızının en yüksek olduğu değerdir. Örneğin, gündüz 26,5 °C'lik gece 17-19 °C'lik ısı periyodunda domates bitkisinin en iyi meyve verdiği ve en iyi büyüme gösterdiği saptanmıştır. Bitkiler için sıcaklık değişimleri soğuk aklimasyonu, çiçeklenme ve tomurcuk dormansisi için bir uyarı oluşturmaktadır (Vardar, 1985).

2.3.1.3. Su ve nem

Bitkilerin büyümesi ve gelişmesi uygun miktarda suya ihtiyaç göstermektedir. Bitkiler su gereksinimlerinin büyük bir kısmını topraktan karşılamaktadır. Su miktarının toprakta optimum değer altına düşmesi kuraklığa, yükselmesi ise sel stresine neden olmaktadır. Her iki durumda da bitki büyümesi ve gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir.

2.3.1.4. Mineraller

Toprakta çözülmüş halde bulunan mineralleri bitkiler kendi bünyelerine su yoluyla almaktadırlar. Bitkiler için kullanım gereksinimi fazla olan minerallere makroelement, kullanım gereksinimi az olan minerallere mikroelement denir. Her iki grup mineralin topraktaki eksikliği ya da fazlalığı durumunda bitki büyümesi ve gelişmesi olumsuz etkilenmektedir. Ayrıca çeşitli faktörler nedeniyle topraklarda tuzlanma görülebilmektedir. Bu sebeple bitki su alma kapasitesinde azalma ve buna bağlı olarak büyüme ve gelişmesinde yavaşlama meydana gelebilmektedir.

2.3.1.5. Yer çekimi etkisi

Bitkilerin reproduktif gelişmelerinde yer çekiminin etkisi üzerine yapılan çalışmalardan yatay büyütülen bir elma ağacının sürgünündeki çiçeklenmenin dikey büyüme göre tipik bir hızlanma göstermiştir. Fakat bitkiden bitkiye gravimorfik hassasiyetin değiştiğini ve bu olayların metabolik yollarla kontrol edildiği sonucuna varılmıştır.

2.3.1.6. Endüstriyel ürünler

Endüstriyel faaliyetlerin insan gereksinimlerinin karşılanmasını sağlamak amacıyla çeşitlilik kazanması sonucu doğal ortamlara verilen atıklar bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkilemektedir. Bunlar üretim sonunda atmosfere verilen kirletici ve zehirli gazlar, ağır metaller ve sanayi atık maddeleridir. Ayrıca tarım alanında kullanılan herbisit, pestisit, insektisit gibi maddeler büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir.

2.3.2. Endojen (içsel) faktörler

Bitkilerdeki birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde görevli olan hormonlar endojen faktör olarak değerlendirilmektedir. Bu fizyolojik olaylar tohum oluşması, tohum olgunlaşması, tohum çimlenmesi, çiçeklenme, yaprak oluşması, yaprak gelişmesi, yaprak dökülmesi ve bunun engellenmesi, fide gelişmesi, meyve oluşması ve

olgunlaşması, dormansi, apikal dominansi, senses ve vernalizasyon gibi bitki yaşamı boyunca gerçekleşen olaylardır. Bitkiler, bu fizyolojik olayları bizzat kendi sentezledikleri hormonlar (düzenleyiciler) ile kontrol etmektedir. Bitkisel hormonlar veya bitki büyüme düzenleyicileri olarak adlandırılan bu kimyasal maddeler oksinler, sitokininler, giberellinler, absisik asit ve etilenin yanında brassinosteroidler, poliaminler, salisilik asit ve jasmonatlardır.

2.3.2.1. Oksinler

Bitki büyüme düzenleyicileri içinde ilk keşfedilen grup oksinlerdir. Oksinler hücrelerin uzamasını ve bölünmesini arttırarak bitkiyi büyümeye teşvik etmektedir. Bu büyüme düzenleyicileri bitkide yapraklarda, tepe tomurcuklarında ve çiçeklerde bulunan meristematik dokularda sentezlenmektedir. Oksinler bitkide yukarıdan aşağıya doğru taşınmaktadır.

Oksinler grubunda bulunan ve bitki dokularında doğal olarak sentezlenen tek bitki düzenleyici indol-3-asetik asit (IAA)'dır. Fakat sentetik olarak IAA ile benzer etkileri gösteren maddeler sentezlenmiştir (Grunewald ve ark., 2009).

2.3.2.2. Sitokininler

Adından da anlaşılacağı üzere sitokininler (cytokinins=hücre bölünmesi) hücre bölünmesini kontrol ederek bitkilerde doku ve organ farklılaşmasında görev almaktadır. Sitokininler bitkide aktif olarak bölünmenin gerçekleştiği tüm dokularda yüksek oranda bulunmaktadır (Çetin, 2002). Sitokininler özellikle kök meristem dokularında sentezlenmektedir ve buradan bitkinin genç dokularına ksilem aracılığı ile taşınmaktadır. Oksinler bitkide kök oluşumunu teşvik ederken sitokininler ise sürgün oluşumuna teşvik ve katkı sağlamaktadır. Bitki tarafından sentezlenmekte olan bu büyüme düzenleyicisinin organ ve doku oluşum ve gelişimine etkisi bilindiğinden dolayı doku kültür çalışmalarında oksinler ile birlikte kullanılmaktadır (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

Bitkilerden elde edilen ilk sitokinin mısır tohumlarından elde edilen zeatindir. Doğal olarak sentezlenen diğer sitokininler ise dimetilaliladenin, dihidrozeatin ve izopentenil adenindir. Oksinler gibi sitokininlerinde yapay olarak sentezlenmiş türevleri vardır. Bunlar kinetin, tetrahidropiranilbenzil adenin ve uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan benziladenindir (Algül ve ark., 2016).

2.3.2.3. Giberellinler

Giberellinlerde oksinler gibi düşük dozlarda büyümeyi ve gelişmeyi teşvik edici hormonlardır. Gibberellinler ilk olarak 1926 yılında Japon araştırmacılar tarafından *Gibberella fujikuroi* adlı mantarda keşfedilmiş ve adını da bu mantardan almıştır. Giberellinler, *G. fujikuroi*'nin çeltik bitkisinde aşırı boy uzamasına sebep olduğunun gözlenmesi sonucu keşfedilmiştir. İzole edilen bu madde giberellik asit (GA) olarak isimlendirilmiştir (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

Büyümeyi ve gelişmeyi teşvik eden bitki düzenleyicilerden olan giberellinlerin günümüzde en az 126 çeşidi bilinmektedir. Giberellinler bitkide kambiyum dokuda, köklerde, tomurcuklarda, embriyolarda, genç yapraklarda ve meyvelerde bulunur. Giberellinlerin bitkilerde hücre uzaması teşvik etmesinin yanı sıra bodurluğun ortadan kaldırılmasında, tohum çimlenmesinde, tohum ve tomurcuk dormansisinin kırılmasında ve partenogenik meyve oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (Çetin, 2002).

2.3.2.4. Absisik asit

1960'lerde absisyon ve dormansi üzerine yapılan çalışmalar hormonal bir bitki büyüme engelleyicisinin keşfini sağlamıştır. 1963 yılında pamuk meyve yapraklarında bu inhibitörün kimyasal yapısı incelenmiş ve aynı yıl Wareing tarafından kimyasal yapısı belirlenerek absisik asit (ABA) olarak isimlendirilmiştir. Çevre koşullarına göre bitki dokularında az veya çok miktarda bulunan bu hormon miktar olarak en fazla yeşil yapraklarda bulunsa da diğer tüm bitki dokularında da bulunmaktadır (Çetin, 2002). Çevre şartlarına göre ABA çoğu bitki türünde stomaların kapanmasında, RNA ve buna bağlı olarak protein sentezini yavaşlatmada, depo organlarında büyümeyi

engellemede, depo proteini üretimini uyarmada ve tohumların erken çimlenmesinin engellenmesinde ve birçok tohumda dormansinin sağlanmasında etkili rol oynamaktadır. Oksinler ve sitokininler gibi absisik asit de yapay olarak sentezlenmektedir (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

2.3.2.5. Etilen

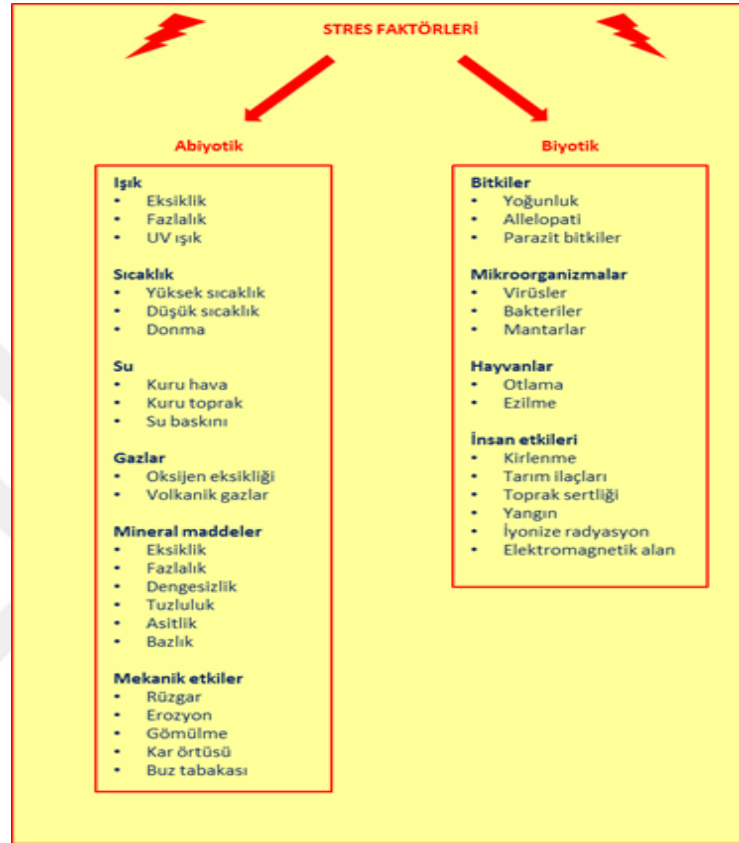
Etilen kimyasal olarak çok basit bir yapı gösteren ve bitkinin tüm dokularında bulunan organik bir moleküldür. Oda sıcaklığında gaz halinde bulunan etilen olgunlaştırma hormonu olarak bilinmektedir. Bitkide çok düşük konsantrasyonlarda bile fizyolojik etkilerini gösterebilmektedir. Etilen hem stres altındaki bitki organlarında hem de olgun ve yaşlanan dokularda sentezlenmektedir. Ancak tüm bitki organlarındaki etilen sentezi gelişimsel kontrol altındadır. Bitki köklerinde ise sentez hızı oldukça düşüktür. Etilen sentez hızı absisyona uğrayacak olan yaprak ve çiçeklerden yüksek seviyededir (Kumlay ve Eryiğit, 2011). Etilenin doğal şartlarda bitkilerde meyve olgunlaşması, dormansinin kırılması, yaprak ve çiçek absisyonunun uyarılması, dişi çiçek oluşumunun uyarılması, meyve absisyonunu teşvik ederek hasadın kolaylaştırılması, gövde uzamasının engellenmesi, adventif kök oluşumunun uyarılması, polar oksin taşınımının inhibe edilmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonu bulunmaktadır (Algül ve ark., 2016). Ticari olarak kullanım için sentetik olarak üretilen etilen formları da vardır.

2.4. Bitki Stres Kavramı ve Sınıflandırılması

Bitkiler hem doğal hem de tarımsal alanlarda sık sık çevresel streslere maruz kalmaktadır. Hava sıcaklığı gibi bazı çevresel faktörler sadece birkaç dakika içinde stres oluşturabilir; toprak suyu içeriğinin stres oluşturması haftalar alabilirken, toprakta mineral eksikliğinin bitkilerde stres oluşturacak seviyeye ulaşması aylar alabilmektedir (Taiz ve Zeiger, 2002). Ayrıca, stres faktörleri bitki türlerinin yeryüzündeki dağılımını da etkilemiştir. Bu nedenle, stres hasarının altında yatan fizyolojik süreçleri ve bitkilerin çevresel strese adaptasyon ve aklimasyon mekanizmalarını anlamak hem tarım hem de çevre için büyük önem taşımaktadır.

Bitki stres kavramını açıklamak için bazı tanımlamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Stres, genellikle bitki üzerinde dezavantajlı bir etkiye neden olan bir dış faktör olarak

tanımlanır. Bir başka deyişle bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi etkileyen ve metabolik faaliyetleri durduran biyotik ve abiyotik çevre şartları stres olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.1.).

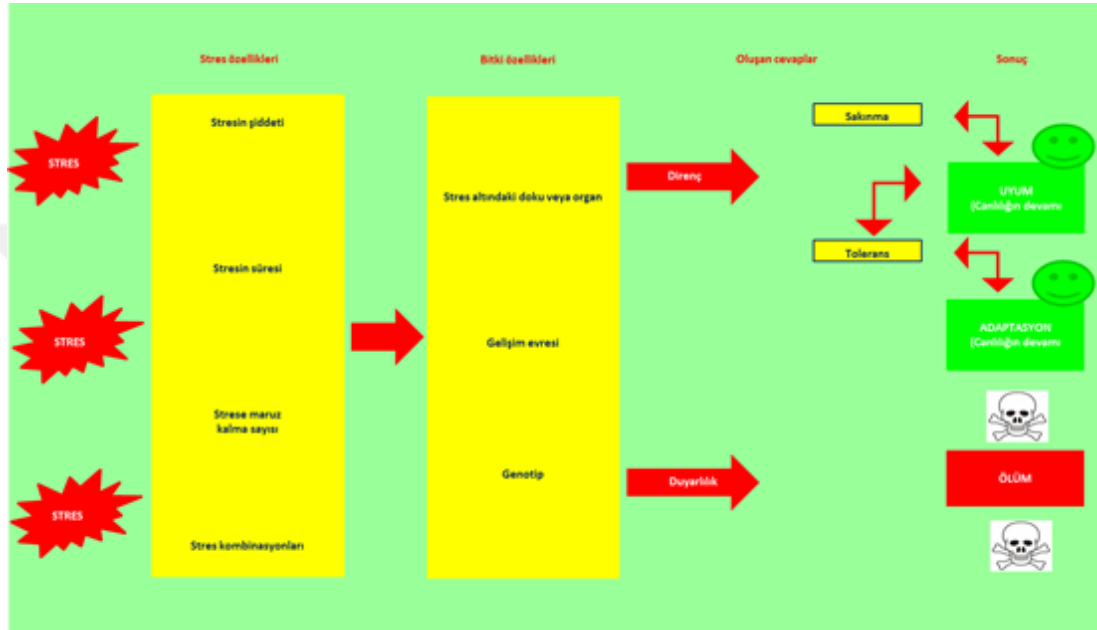


Şekil 2.1. Bitki büyümesi ve gelişmesinde etkili olan stres faktörleri (Larcher, 1995)

Stres ilk olarak fizik biliminde bir sistem üzerinde dışsal bir kuvvet tarafından oluşturulan gerilim olarak tanımlanmıştır (Larcher, 1995). Ancak zamanla biyolojik terim olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik olarak stresin tanımı; canlılık için optimum olan şartlarda meydana gelen önemli değişimlerdir. Bitkilerde stres; kuraklık, tuzluluk, donma, sıcaklık, oksijen eksikliği ve hava kirliliği gibi başlıklar altında incelenmektedir (Taiz ve Zeiger, 2002).

Bitkilerde stres, abiyotik ve biyotik faktörlerle ilgilidir. Abiyotik faktörler; ışık, pH, sıcaklık, su, gazlar, mineral maddeler, mekanik etkiler, radyasyon ve kimyasallar gibi etmenlerdir. Biyotik faktörler ise yabancı otlar, patojenler, böcekler, mikroorganizmalar

(mantar, virüs, bakteri), hayvanlar ve insanların oluşturdukları olumsuz etkilere. Bitkiler stres şartlarını ortadan kaldırmak veya stresten minimum derecede etkilenecek yaşamlarını sürdürebilmek için çeşitli direnç ve dayanıklılık mekanizmaları geliştirmişlerdir (Şekil 2.2.). Bunlar; stres toleransı, stres adaptasyonu ve aklimasyonu, stresten kaçma ve stresten sakınma olarak açıklanmaktadır (Doğru, 2006).



Şekil 2.2. Çeşitli faktörlere bağlı olarak bitkilerin oluşturabileceği stres cevapları (Doğru, 2006).

2.4.1. Stres toleransı

Stres toleransı, bitkinin elverişsiz ortam koşulları ile başa çıkma potansiyeli ile yakından ilişkilidir. Bir bitki için stresli olan bir ortam diğer bitkilere göre stresli olmayabilir. Örneğin, bezelye (*Pisum sativum*) ve soya fasülyesi (*Glycine max*), sırasıyla yaklaşık 20 °C ve 30 °C'de en uygun şekilde büyüme ve gelişme gösterir. Sıcaklık arttıkça bezelye, soya fasülyesinden çok daha erken dönemde sıcaklık stresi belirtileri gösterir. Böylece soya fasülyesinin daha yüksek sıcaklık toleransına sahip olduğu anlaşılmaktadır. Strese verilen hücresel tepkiler, hücre siklusundaki ve hücre bölünmesindeki değişiklikleri, endomembran sistemindeki değişiklikleri, hücrelerin vakuolizasyonunu ve hücre çeperindeki yapısal değişiklikleri içermektedir.

Biyokimyasal düzeyde, bitkiler prolin ve glisin betain gibi osmoregulator bileşiklerin üretilmesi dâhil olmak üzere çevresel streslere karşı metabolik aktivitelerini değiştirebilmektedir. Stres toleransı sağlayan genomik tepkilerle bir stres sinyalinin algılanması arasındaki bağlantıyı sağlayan moleküler olaylar son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Taiz ve Zeiger, 2002).

2.4.2. Stres aklimasyonu ve adaptasyonu

Aklımasyon ve adaptasyon birbirinden farklı kavramlardır. Aklımasyon, çevresel koşullara verilen ve bitkilerde genetik değişim olmaksızın gerçekleşen fenotipik değişimlerdir. Adaptasyon terimi ise gen ifadesindeki değişimlerle ilgili bir kavramdır ve uzun süreli stres koşullarında bitkilerin verdiği genotipik cevaplar sonucunda meydana gelen morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri ifade eder. Bu genotipik değişimler nesilden nesile aktarılmaktadır. Örneğin, kuraklık stresine cevap olarak yaprakların solması, yapraktaki su kaybını azaltır. Böylece yapraklar üzerindeki ısı stresini azaltılmış olur (Taiz ve Zeiger, 2002).

2.4.3. Stresten kaçınma

Bitkiler olumsuz çevre şartlarında yaşamlarını sürdüremeyeceği durumda kaçma mekanizmalarını kullanarak kendilerini stres etkilerinden korur. Örneğin; efemer bitkiler kısa süreli yağmur döneminde en az bir tohum oluşturur. Yaşam süreleri kısa olan bu bitkilerin tohumları kurak mevsimde dormant kalarak bir sonraki yağmur dönemini bekler ve bu şekilde kuraklık stresinden kaçınmış olur (Salisbury ve Ross, 1992).

2.4.4. Stresten sakınma

Bitkilerin olumsuz çevresel koşullar nedeniyle oluşabilecek stresten kendilerini sakınmak için geliştirdiği bir mekanizmadır. Stresin etkilerini azaltacak ve engelleyecek durumlar oluşturmaktır. Örneğin; çöl bitkilerinin bol yağış aldığı mevsimde sukkulent organlarına su depolamaları kuraklık stresinden etkilenmelerini azaltmaktadır veya engellemektedir (Hale ve Orcutt, 1987).

2.5. Tuz Stresi

Doğal koşullar altında, deniz suyu ile tatlı suların birbirine karıştığı alanlarda ve gelgitlerle yer değiştirdiği haliçlerde yetişen bitkiler yüksek konsantrasyonlarda tuza maruz kalmaktadır. İç kısımda, jeolojik deniz yataklarından kaynaklanan doğal tuz sızıntısı, yakındaki diğer toprakları tarım için kullanılamaz hale getirebilmektedir. Ancak, tarımda gözlenen daha yaygın bir sorun, sulama suyundaki tuzların tarımsal alanlarda birikmesidir. Buharlaşıma ve transpirasyon olayları suyun topraktan uzaklaşmasına ve toprak çözeltisinin daha konsantre hale gelmesine yol açmaktadır. Bu durumda toprakta tuz birikimi başlamaktadır. Toprağın drenajının zayıf olması durumunda topraktaki tuz birikimi artmaktadır ve tuza duyarlı türlere zarar verebilecek seviyelere ulaşabilmektedir. Dünyadaki sulanan tarımsal arazilerin yaklaşık üçte birinin tuzdan etkilendiği tahmin edilmektedir (Taiz ve Zeiger, 2002). Topraktaki tuz miktarının artması ile düşen osmotik potansiyel nedeniyle bitkilerdeki tohum çimlenmesi, hücre bölünmesi, büyüme, gelişme ve fotosentez gibi yaşamsal olaylar olumsuz şekilde etkilenmektedir.

2.5.1. Toprakta primer ve sekonder tuzluluk

Tuzluluk, oluşma sebeplerine göre primer (doğal) ve sekonder tuzluluk olarak iki grupta incelenmektedir. Tuzların yağışlarla birlikte atmosferden toprağa geçmesi, minerallerin parçalanması ve ayrışmasıyla ortaya çıkan tuzlar ve tuzlu su kaynaklarından toprağa geçen tuzlar primer tuzluluğun nedenleri arasındadır. Sekonder tuzluluk ise zayıf toprak drenajı, tarımsal alanlarda tek yıllık bitki kullanımı, tuz bakımından zengin yer altı sularının varlığı, yoğun tarımsal sulama ve bu suda tuz bileşiklerinin bulunması ve topraktaki hidrolik yapının değişmesi nedeniyle meydana gelmektedir. Ayrıca toprakların bazı kimyasallarla kontaminasyonu ve doğal arazilerin kontrolsüz bir şekilde tarıma açılması sekonder tuzluluk nedenlerindendir (Yılmaz, 2014).

2.5.2. Tuz stresinin bitki büyümesi üzerine etkisi

Toprakta bulunan çözünebilir tuzlar, bitki kökleri tarafından kolayca alınabilmektedir. Bitki dokularına alınan tuzlar, miktarına ve çeşidine göre belli bir konsantrasyondan sonra bitki için zararlı olmakta ve stres oluşturmaktadır. Metabolizmayı ve mineral beslenmeyi bozan bu maddeler zamanla bitki için toksik etki göstermektedir. Diğer bir önemli olayda artan tuz konsantrasyonu nedeniyle bitkinin topraktan su alımının azalması veya durmasıdır (Kanber ve ark., 1992).

Bazı bitkilerin toprakta yeterli miktarda su bulunmasına rağmen bazı koşullar altında turgorlarını kaybettikleri görülmüştür. Bunun nedeni toprakta bulunan yüksek tuz konsantrasyonundan kaynaklanan fizyolojik kuraklıktır. Fizyolojik kuraklıktan dolayı oluşan yüksek ozmotik basınç bitki köklerinin toprakta bulunan suyu almasını engellemektedir. Ozmotik basınç ve bitki gelişimi arasında ters bir orantı olduğu bilinmektedir. Düşük ozmotik basınç altında bitki gelişimi uygun şekilde devam ederken, basınç 20 atmosfere ulaştığında gelişim kısıtlanmakta, 40 atmosfere ulaştığında ise ölümler görülmektedir.

Toprak tuzluluğu bitkilerde yavaş ve yetersiz tohum çimlenmesi, turgor kaybı, solma ve kuruma, bodurluk, küçük yaprak oluşumu, gövde büyümesinin yavaşlaması, mavimsi yeşil yaprak oluşumu, çiçeklenmenin gecikmesi, çiçek sayısının azalması, daha küçük tohum oluşumu gibi olumsuzluklara neden olmaktadır. Ayrıca tuzlanmış tarımsal alanlarda tuza dayanıklı yabancı otların gelişimi de gözlenmektedir (Ekmekçi ve ark., 2011).

2.5.3. Tuz stresinin organ düzeyindeki etkileri

Toprak suyunda bulunan yüksek konsantrasyonlardaki tuz toprak verimini ve kalitesini doğrudan etkilemektedir. Bitkilerin kullanımı ve buharlaşma nedeniyle toprakta bir yandan su miktarı azalırken diğer yandan da tuz miktarı artmaktadır. Toprakta artan tuz, kök bölgesinde birikerek köklerin su alımını azaltıcı veya zamanla engelleyici etki yapmakta ve sonuçta ürün miktarı ve kalitesini azaltmaktadır (Kanber ve ark., 1992). Hücre uzamasına ve bölünmesine direkt etki eden tuz stresi; bitkinin ağırlığında

ve kök ile gövdenin büyüme hızında azalmaya neden olmaktadır. Ayrıca yapraklarda incelmeye ve küçülme, yaprak sayılarında azalma, kutikula tabakasında incelmeye ve vasküler dokuların gelişiminde azalma meydana gelmektedir (Çulha ve Çakırlar, 2011).

2.5.4. Tuz stresinin hücre düzeyindeki etkileri

Toprak çözeltisindeki çözünmüş madde miktarının artması, ozmotik basıncı da artırdığından bitkinin su alımını olumsuz etkilemektedir. Genellikle Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{+2} ve HCO_3^- iyonları tuzluluğa neden olan iyonlardır.

Bitkilerde hücrenin hacmini ve şeklini koruyan hücre duvarı, hücrenin en dışında bulunmaktadır. Yapısal olarak oligosakkaritler ve polimerlerden oluşmaktadır. Tuz stresi şartlarında apoplastta yüksek konsantrasyonda Na^+ iyonu birikir. Biriken bu Na^+ iyonu apoplastik enzimleri olumsuz yönde etkilemekte veya hücre duvarında bulunan pektin gibi yapısal elemanların iyonik bağlantılarını bozmaktadır. Bu durumda hücre duvarı temel işlevlerini yerine getiremeyebilir.

Tuz stresinin hücresel boyutta diğer bir olumsuz etkisi hücre zarı üzerinedir. Seçici geçirgen olan hücre zarı çift tabakalı fosfolipid yapısındadır. Bu tabaka içerisinde proteinler bulunmaktadır. Tuz stresine neden olan iyonlar hücre zarında lipid tabakasının yapısında değişime neden olmaktadır. Oluşan bu değişimle birlikte lipid sentezinde görevli enzimlerde parçalanmalar ve yıkımlar veya fosfolipidlerin hidrolizinde artışlar meydana gelmektedir. Sonuçta hücre zarının akışkanlığı ve seçici geçirgenlik özelliği bozulabilmektedir. Ayrıca hücre zarındaki fosfolipidlerin artışına ve oksidatif stres ile oluşan aktif oksijen türlerinin buradaki lipidlere saldırmasıyla lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Çulha ve Çakırlar, 2011).

2.5.5. Tuz stresinin hücre düzeyindeki diğer etkileri

Tuz stresinin hücre düzeyindeki diğer bir etkisi iyon alımıdır. K^+ ve Ca^{+2} iyonu bitki büyümesi ve gelişmesi için temel elementlerdendir. K^+ iyonu bitki hücrelerinde enzim aktivitesinin düzenlenmesi, stoma hareketleri ve osmotik dengenin korunması

gibi olaylarda görev almaktadır. Hücre içinde enzimlerin aktivite gösterebilmesi için belli bir Na^+ - K^+ dengesi vardır. Dış ortamda artan Na^+ iyonu K^+ iyonunun bağlanacağı alanlar için K^+ iyonu ile rekabete girerek dengeyi bozmaktadır (Tester ve Davenport, 2003). Benzer bir durum Ca^{+2} iyonu için de söz konusudur. Na^+ iyonu, hücre zarındaki Ca^{+2} ile yer değiştirerek zarın apoplast bölgesinde $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ dengesinin artması ile hücrenin Ca^{+2} miktarı etkilenmektedir (Yokoi ve ark., 2002).

Tuz stresinde hücre organellerinde de değişimler gözlenmektedir. Stresten en çok etkilenen organel kloroplast olarak bilinmektedir. Yüksek tuz varlığında kloroplastlarda üretilen aktif oksijen türleri, tilakoidlerin şişmesine ve dalgalı bir yapı almasına neden olmaktadır. Ayrıca kloroplastlarda plastoglobulinlerin boyut ve sayısının artışı, grana lamellerinin bozulması ve nişasta miktarındaki artış, tuz stresinin diğer etkileridir (Koyro, 2002).

Mitokondrilerde tuz stresinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Kristalarda azalma, vakoul oluşumunda artış, organelde şişme, elektron taşınım hızında azalma gibi değişimler oluşmaktadır (Koyro, 2002). Hücrenin diğer organellerinde tuz stresinden etkilenmektedir. Örneğin endoplazmik retikulumda bölgesel şişmeler, golgi aygıtında aşırı büyüme, çekirdek boyutunda değişimler ve bu değişimleri takiben yıkımlar ve tonoplastta vesikülasyon tuz stresi altındaki bitki hücrelerinin organellerinde gözlenen değişimler arasında sayılabilmektedir (Katsuhara ve Kawasaki, 1996).

2.5.6. Tuz stresinin fotosentez üzerine etkisi

Fotosentez bitkinin büyümesini ve gelişmesini sağlayan, bitkide biyokütleyi artıran fizyolojik bir olaydır. Bitkiler yüksek tuz konsantrasyonlarına maruz kalmaları durumunda fotosentetik aktiviteleri azalırken, maruz kaldıkları tuz konsantrasyonunun azalmasıyla fotosentetik aktivite artmaktadır. Bu sebeple tuz stresi altındaki bitkilerde fotosentetik aktivite bakımından stomaların kapanmasına bağlı olan veya olmayan kısıtlamalarla karşılaşmaktadır (Ashraf, 2004).

Bitki bulunduğu ortamda tuz stresiyile karşılaştığı anda osmotik basıncı artırıp kullandığı su miktarını azaltmaya çalışmaktadır. Böyle bir durumda bitki terlemeye

su kaybetmemek için stomalarını kapatmak durumunda kalmaktadır. Bu sebeple bir yandan terlemeyi engelleyen bitki diğer yandan stomaların iletkenlik derecesini en aza indirmiş olmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Böylelikle kloroplastlardaki CO₂ miktarı sınırlandırılmış ve bitkideki asimilasyon oranı azalmış olmaktadır (Degl'Innocenti ve ark., 2009).

Stomaların tuz stresi durumunda kapanması iki şekilde gerçekleşmektedir. Bunlar; hidroaktif ve hidropasif mekanizmalarla sağlanmaktadır. Hidroaktif mekanizmada tuz stresi altındaki bir bitki ilk olarak ABA sentezi gerçekleştirmektedir (Zhu, 2002). Daha sonra, çözünebilir nitelikteki bazı metabolitlerin etkisiyle stomalar kapanmaktadır (Mahajan ve Tuteja, 2005). Hidropasif mekanizmada ise bitkide su miktarının ve turgor basıncının azalması sebebiyle metabolik bir etki olmadan stomaların kapanması söz konusudur (Mahajan ve Tuteja, 2005).

2.5.7. Fotosentetik mekanizmaya etkisi

Tuz stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması dolaylı olarak kloroplastların tilakod membranlarında meydana gelen elektron taşıma reaksiyonlarını da etkilemektedir. Tuz stresi özellikle fotosistem II'nin (FSII) yapısında bulunan D1 proteininin zarar görmesine ve hatta parçalanmasına neden olabilmektedir (Ferroni ve ark., 2007). Buna bağlı olarak FSII'nin yapısında bulunan ve ışık toplayıcı kompleksi oluşturan (ITK) karotenoid ve klorofil pigmentlerinin miktarında da azalmaya sebep olmaktadır (Parida ve Das, 2005).

NaCl, FSII'de olduğu gibi FSI'deki elektron hareketlerini de bozmaktadır. Bunun nedeni tuz stresinin stomaların kapanmasına ve yaprak dokularındaki CO₂ miktarının azalmasına neden olması, Calvin döngüsündeki enzimleri belirli oranda inaktive etmesi, NADPH'nin kullanımı ve NADP⁺'nin rejenerasyon hızının azalmasıdır. Bu koşullar altında FSI'nin yapısındaki ferrodoksin ortamda yeterince NADP⁺ bulunmadığı için elektronunu NADP⁺ yerine O₂'ye vermektedir. Bu şekilde O₂'nin elektron alarak indirgenmesi sonucunda hücresel yapılar için son derece toksik olan O₂⁻ (süperoksit radikali) meydana gelmektedir (Asada, 1999; Apel ve Hirt, 2004). Tuz

stresinin fotosentetik aktivite üzerindeki diğer olumsuz etkisi de rubiloz-1,5-bisfosfat karboksilaz oksijenaz (Rubisco) enzimine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu enzim yaprak dokularındaki CO₂ konsantrasyonu O₂'ye göre daha yüksek olduğunda CO₂'yi bağlayarak Calvin döngüsünün aktive olmasını, O₂ konsantrasyonunun CO₂'ye göre daha yüksek olması durumunda da O₂'yi bağlayarak fotorespirasyon olayının gerçekleşmesini sağlamaktadır. Fotorespirasyon olayının hızlanması ise özellikle C3 bitkilerinde fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkilemektedir (Sivakumar ve ark., 2000). Bunun diğer bir sebebinin de stomalar kapandıktan sonra yaprak dokularında meydana gelen sıcaklık artışı olduğu rapor edilmiştir (Apel ve Hirt, 2004).

2.6. Bitkilerde Tuz Toleransı Sağlayan Mekanizmalar

Bitkiler tuz stresinden olumsuz şekilde etkilendikleri halde tuzlu topraklarda yaşayabilmektedir ve tuzun olumsuz etkilerinden sakınabilmektedir. Tuza karşı dayanıklılığı artırmak amacıyla farklı tolerans yöntemleri geliştirmişlerdir. Tuzlu ortamdaki bu bitkiler yapılarındaki tuz içeriğini ve iyon dengesini 3 şekilde düzenlemektedirler (Dajic, 2006).

2.6.1. Tuzdan sakınma ve yapısına almama

Bitkinin köklerdeki yüksek tuz yoğunluğu sebebiyle tuz iyonlarına (Na⁺, Cl⁻) geçirgenliğinin az olması durumudur. Fakat hücreler yapısına bir miktar tuzu almaktadır (Lüttge, 2002). Bazı bitki türleri kökteki endodermis hücrelerinin sahip olduğu kaspari şeridi adı verilen bir yapı yardımıyla tuzu bir anlamda filtrelemektedir (Botella ve ark., 2005). Bazı bitkiler bu yöntemle fazla tuzu kökte tutarak toprak üstü organlarına az miktarda tuzun ulaşmasını sağlamaktadır (Larcher, 1995). Kökte bulunan transport proteinleri gibi kontrol mekanizmaları da Na⁺ miktarının düzenlenmesini sağlamaktadır (Botella ve ark., 2005).

2.6.2. Tuzun eliminasyon yoluyla uzaklaştırılması

Bitkiler ortamdaki fazla tuzdan korunmak için tuz barındıran organlarından kurtulma (yaprak dökme vb.) yoluna gitmektedir. Bu uzaklaştırma yöntemi yaprağın üst

kısımında yer alan trikom kökenli salgı tüyleri ve üst tabakanın farklılaşmasıyla oluşmuş tuz bezleriyle yapılmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Salgı tüyleri tuzu yapısındaki vakuollerde tutarken, salgı bezleri tuzu dışarı salgılamaktadır. Tuz bu şekilde yaprak dokusundan fizyolojik şekilde uzaklaştırılmış olmaktadır (Breckle, 2002). Bu mekanizmaya sahip olmayan bitkilerde ise karakteristik özellik olan yaprak absisyonu ile tuzun atılması söz konusudur. Bu olay tuzlu ortama uyum sağlamış yaşlı yapraklarda gerçekleşmektedir (Cram ve ark., 2002).

2.6.3. Sukkulent yapılarla tuzun seyreltilmesi ve yeniden dağılımı

Sukkulentlik, genellikle halofit bitkilerde parankima hücrelerinin ve yaprak kalınlığının artmasıyla stomaların azalması ile meydana gelen morfolojik ve anatomik bir değişiklik olarak açıklanmaktadır (Dajic, 2006).

Yeniden dağılım işlemi genç yapılardaki fazla tuzun floeme geri taşınarak yapraktaki tuzun azaltılması olayıdır (Larcher, 1995). Bu iyonlar floemden ya yaşlı yapraklara tuzu biriktirmesi için gönderilerek ya da tuzun uzaklaştırılmasını sağlayan özel yapılara gönderilerek elimine edilmektedir (Botella ve ark, 2005).

2.7. Tuz Toleransı Sağlayan Mekanizmalar

Bitkiler tuz stresinin olumsuz etkilerine karşı birçok moleküler ve biyokimyasal mekanizma oluşturmuştur. Antioksidant sistem, hücrelerdeki iyon birikimi veya atılımı ve kökteki iyon alımı bunlara örnek olarak verilebilmektedir (Parida ve Das, 2005).

2.7.1. İyon dengesinin düzenlenmesi ve tuza aşırı duyarlı sinyal iletim yolu (SOS)

Bitkiler tuz stresinden kaynaklanan iyonik dengesizlikleri ortadan kaldırmak için osmotik dengeyle Na^+ iyonlarının dışarı atılması ve hücrelerdeki tuz toleransının sağlanabilmesi için birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar Na^+ 'nın hücre içinde toksik yoğunluğa ulaşmasını önlemektedir (Munns ve Tester, 2008).

Topraktaki Na^+ iyonunun köklerden alınımı pasif taşıma yoluyla olmaktadır. Pasif taşınım ise iyon kanalları ya da difüzyon ile gerçekleşmektedir. Bu iyon kanalları; seçici olmayan katyon kanalları ve sodyum taşıyıcı kanallarıdır. Na^+ iyonu taşıma kanalları bitki büyüme şartlarına ve türlerine göre değişmektedir. Fakat farklı taşıma sistemlerinin bir arada çalıştığı bilinmektedir (Apse ve Blumwald, 2007).

Na^+ iyonu bitki kökleri ile alındıktan sonra iki farklı yol izlemektedir. Önce taşıyıcılar yoluyla merkezi silindire daha sonra ksileme aktarılmaktadır. Bu taşımaya simplastik yol adı verilmektedir. Diğer bir yol ise apoplastik yoldur. Na^+ endodermise ulaşmak için önce hücre dışı matriksi kullanarak suya geçmektedir. Bu yolla hücre içine girmiş olan Na^+ iyonu simplastik yolu takip ederek kaspari şeridini geçmektedir (Botella ve ark., 2005).

Na^+ 'nın ksileme taşınımı sadece apoplastik yolla da gerçekleştirilmektedir. Bu ise katyon/ H^+ taşıyıcıların Na^+ 'yı endodermisdeki hücrelerden merkezi silindire taşınmasıyla sağlanmaktadır. Ksileme giden Na^+ iyonlarının miktarını azaltmak için vakuol tipi Na^+/H^+ taşıyıcıları (NHX) ile hücre vakuollerinde depolanmaktadır.

Merkezi silindirden gelen Na^+ 'nın ksileme aktarımı hücre zarına bağlı Na^+/H^+ taşıyıcıları (SOS1) ile yapılmaktadır. Ksilemden köke geri aktarımı Na^+ 'ya karşı seçici olmayan (HKT ve Nax) taşıyıcılarla, yapraktaki parankima hücrelerine ise HKT ve Nax'e ek olarak seçici olmayan katyon kanalı (NSCC) ile yapılmaktadır (Apse ve Blumwald, 2007).

Bitki hücrelerinde sitoplazmik Na^+ iyon konsantrasyonunun korunması iki ana faktöre bağlıdır. Bunlar; plazma zarında bulunan Na^+/H^+ antiportu olan SOS1 ve tonoplastta yer alan Na^+/H^+ çıkışı sağlayan NHX antiportudur (Blumwald ve Poole, 1985; Qiu ve ark., 2002).

Bitki tuz stresi ile karşılaştığında hücre sitoplazmasındaki Na^+ iyon yoğunluğu aynı zamanda sitozolik Ca^{+2} 'nin artmasına da sebep olmaktadır. Ca^{+2} 'nin artması hücredeki fazla tuzun dışarı atılması için SOS1 antiportunu aktifleştirmektedir. SOS1 yolu ise

Ca^{+2} 'nin aktive edildiği üç farklı gen ile sağlanmaktadır (Qiu ve ark., 2002). SOS2 geni serin/threonin protein kinazı kodlarken (Shi ve ark., 2000), SOS3 geni kalsinerium B-benzeri protein (CBL4) denilen geni kodlamaktadır. SOS3 geni, Ca^{+2} 'yi bağlayabileceği üç cebe sahiptir ve Ca^{+2} uyarıcısı olarak görev almaktadır (Bertorello ve Zhu, 2009). SOS2 geni ise SOS3 ve Ca^{+2} bağlandıktan sonra fizyolojik olarak SOS3 genine bağlanarak aktif hale gelmektedir (Shi ve ark., 2000). SOS1 proteininin sentezlenmesi, Na^{+} 'nin atılmasını sağlaması SOS3-SOS2 kinaz yapısının SOS1 genini aktive etmesiyle meydana gelmektedir. Ayrıca bu yapı SOS1 fosforilasyonunu da sağlamaktadır (Gong ve ark., 2004).

2.7.2. Düzenleyici osmolitlerin biyosentezi

Bitkiler tuz stresine maruz kaldıklarında osmotik korucuyucu bileşikler yapılarında biriktirmektedir ve bu bileşenler birbirinin yerini alabilen (compatible) yapılardır (Hussein ve ark., 2008). Bu yapıların büyük çoğunluğunu organik maddeler oluştururken bir kısmını ise K^{+} gibi temel iyonlar oluşturmaktadır (Parvaiz ve Satyawati, 2008). Diğer bir adı osmolit olan bu bileşenler bitkiyi dehidrasyona karşı koruyabilmektedir. Bu yapılar nötral olup, toksik etki yaratmayan, hücre yapısına zarar vermeyen ve molekül ağırlığı düşük moleküllerdir (Djilianov ve ark., 2005).

Organik yapıya sahip olan osmolitler çoğunlukla organellerde ve sitoplazmada birikirken, inorganik iyonlar vakuolde bulunmaktadır (Moghaieb ve ark., 2004). Bitkideki osmolit miktarı dış ortamdaki basınçla doğru orantılı olup, suyun hücre içine girişinin artırılmasını veya hücreden çıkışının azaltılmasını sağlamaktan sorumludur (Parida ve Das, 2005).

Osmolitler hücredeki pH seviyesini ve zar yapısını koruma, aktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunu sağlama, FSII'nin yapısına enzim ve protein desteği sağlama gibi fonksiyonlara da sahiptir (Chen ve ark., 2007; Vijayan, 2009). Osmolitler; karbohidratlar, polioller, aminoasitler ve kuarterner amonyum bileşikler olarak gruplandırılmaktadır (Djilianov ve ark., 2005).

Karbohidratlar tuz stresi durumunda biriktirilen ve sentezlenen osmolitlerden biridir. Yapılarına göre farklı görevleri vardır. Fruktoz, sukroz ve glukoz osmotik düzenlemeleri sağlamaktadır (Parida ve Das, 2005). Sadece bazı bitki türleri tarafından çok az miktarda sentezlenmesine rağmen tuzluluk da dahil birçok çevresel stres altındaki bitkilerde osmotik koruyucuların stabilizasyonunu sağlayan diğer bir karbohidrat disakkarit yapısındaki trehalozdur (Djilianov ve ark., 2005).

Bitkiler aleminde siklik ve asiklik şekilleriyle yayılım gösteren polioller, bitki dokularında tuz stresi sonucunda birikim gösteren ve osmotik basıncın korunmasında görev alan bir osmolit grubudur (Sun ve ark., 1999). Bitki hücre yapılarını radikallere karşı korumaktadır (Djilianov ve ark., 2005). Na^+ 'nın apoplastik bölgeye ve vakuollere gönderilmesini sağlayarak osmotik regülasyon sağlamaktadır (Bohnert ve ark., 1995).

Kuarterner amonyum bileşiklerinden en çok bilineni glisin betainidir (GB). GB amfoter özellik gösteren bileşiklerdir. Bitki hücrelerindeki konsantrasyonu tuz toleransı ile orantılıdır (Sakamoto ve Murata, 2002). GB'nin sentezi kloroplastlarda gerçekleşmektedir. Stres şartları ortadan kalktığında prolin gibi metabolize edilmemektedir (Hare ve ark., 1998).

Tuz stresi koşullarında bitki hücrelerinde birçok aminoasitle karşılaştırıldığında en fazla biriken osmolit prolindir (Ábrahám ve ark., 2003). Prolin normal koşullarda sitozolde birikim göstererek osmotik regülasyon sağlamaktadır (Parvaiz ve Satyawati, 2008). Prolin tuz stresi altındaki bitki dokularında azot ve karbonun depolanmasını da sağlamaktadır. Koşullar iyileştiğinde ise metabolize edilerek bitkinin büyümesine destek görevi görmektedir (Jain ve ark., 2001). Aynı zamanda hücrelerdeki indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarının düzenlenmesinde, serbest radikallerin detoksifikasyonunda (Vijayan, 2009), metabolizmanın $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ dengesinin korunmasında (Hare ve Cress, 1997), DNA'da meydana gelen hasarların engellenmesinde de görev yapmaktadır. Prolin, prolin-5-karboksilaz sentetaz (P5CS) ve prolin-5-karboksilaz redüktaz (P5CR) enzimlerinin sitoplazmada katalizlediği tepkimeler sonucu sentezlenmektedir. Prolinin bozulması ve parçalanması ise mitokondrilerde meydana gelmektedir. Stres faktörleri ortadan kalktığında prolinin

yükseltgenmesiyle açığa çıkan enerji stresin yarattığı hasarı azaltmaktadır (Hare ve Cress, 1997).

2.8. Tuz Stresine Karşı Gen Cevapları

Tuz stresinin etkin olduğu durumlarda düzenleyici proteine bağlanarak gen ekspresyonunu başlatan moleküllerin ifadesi artmaktadır. Bu moleküller görevlerine göre iki başlık altında incelenmektedir. Bunlardan ilki efektör (koruyucu) moleküller, diğeri ise regülatör (düzenleyici) moleküllerdir. Efektör moleküller çevreden gelen stres faktörlerine karşı koruma görevi yaparken, regülatör moleküller gen ekspresyonunu ve strese verilen cevaplarla ilgili sinyal iletimini düzenleyici olarak görev yapmaktadırlar.

İyon taşıyıcılar, düzenleyici osmolitlerin sentezinde yer alan enzimler, LEA (late embryogenesis abundant; geç embriyogenez) proteinleri, su kanal proteinleri, şaperonlar, detoksifikasyon enzimleri ve çeşitli proteazlar efektör molekülleri; protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri ve fosfoinositol metabolizmasında yer alan enzimler (fosfolipazlar) ise regülatör molekülleri oluşturmaktadır.

2.8.1. Efektör moleküller

LEA proteinleri, şaperonlar, iyon taşıyıcılar, detoksifikasyonda görevli enzimler ve bazı proteazlar, düzenleyici osmolit oluşumunda etkili enzimler bu grupta yer almaktadır.

LEA proteinleri sitozoldeki iyon yoğunluğunun düzenlenmesinde, yapısı bozulan proteinlerin yapılarını onarmada, hücre toleransında, dehidrasyonu engellemede ve zar yapısının korunmasında görev almaktadır. Şaperonlar, bir diğeri ismiyle ısı şok proteinleri çevresel stres durumlarında sentezi artan moleküllerdir. Bu proteinler hücre yapısının düzenlenmesinde, proteinlerin katlanması ve translokasyonunda görev almaktadır. HSP'ler proteinleri korurken bir yandan da hücre içindeki stres nedeniyle hücrede zararlı hale gelen protein yapılarını engelleyerek dengenin bozulmadan kalmasına destek sağlamaktadır (Dajic, 2006).

2.8.2. Regülatör moleküller

Düzenleyici moleküllerin protein fosforilasyonunda ve sinyal iletiminde görev alan önemli grubu protein kinazlardır. Protein kinazlar sinyal iletim yollarında mitojenle aktive edilen protein kinazlar (MAPK) olarak aktif halde bulunmaktadır. Osmotik stresin etkin olduğu durumlarda zar proteinlerinin yapılarında değişiklik yaparak sinyal iletimine katkıda bulunurlar (Dajic, 2006). MAPK'lar stres koşullarında antioksidant sistem tarafından da aktif hale getirilmektedirler (Apel ve Hirt, 2004).

MAPK yapısı üç kinazdan oluşmaktadır. MAPK, MAPKK (MAPK kinaz) ve MAPKKK (MAPK kinaz kinaz)'dır. Bu üç kinazdan MAPKKK, MAPKK'nın aktivasyonuna katılmaktadır. MAPK ise çift yönlü işlev gören, yapısında serin-treonin kinaz bulunan MAPKK tarafından fosforile edilmekte ve aktif hale getirilmektedir (Rodriguez ve ark., 2010).

MAPK basamakları, hücre bölünmesi (Komis ve ark., 2011), bitki büyümesi ve gelişmesi (Xu ve Zhang, 2015), bitki patojenlerine karşı direnç (Bigear ve ark., 2015) ve bitkilerin abiyotik streslere karşı tepkisi (Liu, 2012) dâhil olmak üzere bitki fizyolojisinin birçok yönüne katılmakta ve kritik rol oynamaktadır (Bigear ve ark., 2015).

CPDK'lar, hücredeki taşıyıcıların (SOS1, H⁺-ATPaz ve akuaporinler) düzenlenmesini stres durumunda miktarı artan Ca⁺²'yi indükleyerek yapmaktadırlar (Dajic, 2006).

2.9. Oksidatif Stres

Radikal veya aktif oksijen türleri (AOT) olarak adlandırılan bileşiklerin dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron çiftleri bulunmaktadır. Yarı ömürleri kısa olan ve elektron konfigürasyonları normal olmayan AOT'ler çevresindeki diğer moleküllere elektron verebilmektedir ve etkileşime girerek elektron alabilmektedir. Yapısal olarak kararsız olan AOT'ler kararlı hale gelebilmek için diğer atom veya moleküllerle etkileşime girmekte ve bunların molekül yapılarını bozabilmektedir. Bu moleküller

diğer moleküllerle elektron alışverişi yapabildikleri için yükseltgeyici ve indirgeyici özelliğe sahiptirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

AOT'ler radikaller ve nonradikaller olarak iki gruba ayrılmaktadır. Radikaller eşleşmemiş elektronlara sahip olan bileşiklerdir. Bu sebeple diğer moleküllerle hızlıca tepkimeye girebilmektedir. Bunlara örnek olarak hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) ve süperoksit radikali ($\text{O}_2^\cdot$) verilebilmektedir. Nonradikaller ise radikallere göre daha kararlı yapıya sahiptirler ve yapılarındaki elektronlar çiftler halinde bulunmaktadır. Bu yüzden radikallere göre diğer moleküllerle tepkimeye girme eğilimleri daha azdır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Buna örnek olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülü verilmektedir (Genişel, 2010).

AOT'ler stres altında olmayan bitkilerde normal metabolizma sırasında pek çok reaksiyon aracılığıyla oluşturulmaktadır (Kılınç ve Kılınç, 2002). Ancak tuz stresi de dâhil tüm biyotik ve abiyotik stres faktörleri bitki dokularında AOT'lerin oluşum hızını artırmaktadır. Bu durumda AOT'ler antioksidant sistem tarafından elimine edilerek hücresel yapılara zarar vermesi önlenmektedir. Ancak stres faktörlerinin süresine ve şiddetine bağlı olarak antioksidant sistem AOT'lerin detoksifikasyonu konusunda etkisiz kalabilmekte ve böylece hücre ve dokulardaki AOT konsantrasyonu artmaya başlamaktadır (Breusegem ve ark., 2001). Sonuçta hücrelerde oksidatif hasar, yağ asitlerinin peroksidasyonu ve hücre ölümleri meydana gelmektedir (Mittler, 2002).

2.9.1. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) bitkilerde metabolik bozulmalara ve hücre ölümlerine yol açabildiği gibi çevresel stres koşullarına uyum sağlamada fonksiyonel olan sinyal iletim yollarında da rol oynamaktadır (Apel ve Hirt, 2004). Bu yapı molekül oksijenin ilk uyarılmış halidir (Clo, 2007). Elektronları çift halde ya aynı yörüngede ya da karşılıklı olarak farklı yörüngelerde bulunmaktadır. Singlet oksijen çift elektron bulundurması sebebiyle bir AOT'dir. Çünkü O_2 'ye elektron transferi ile ilgili değil enerji aktarımıyla meydana gelmekte ve fotoaktivasyonla üretilmektedir. Birçok molekülü kolayca okside edebilmekte ve bu sebeple hücreler için toksik bir etki yaratabilmektedir (Clo, 2007; Güler, 2008; Creissen ve ark., 1996).

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

Bir elektron ilavesiyle moleküler oksijenden oluşturulan süperoksit radikali, serbest radikal olmasına rağmen yüksek oranda reaktif değildir. Hücresel membranları geçemediği için üretildiği hücre bölümü içinde kalmaktadır. Süperoksit, flavoenzimler tarafından endojen olarak da üretilmektedir (Laitonjam, 2012).

Kararsız bir yapıya sahip olan süperoksit radikali tek başına tehlikeli değildir. Fakat hidrojen peroksit kaynağı olarak kullanılması nedeniyle hücresel toksisite etkisine sahiptir. Hücrede DNA zincir kırılmalarına ve yağların yükseltgenerek parçalanmasına sebep olarak hasar yaratmaktadır (Fridovich, 1995).

2.9.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), iki süperoksit radikalının bir araya gelmesiyle oluşmaktadır (Hagar ve ark., 1997). Katalitik özelliği fazla olan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin etkisiyle oksijene ihtiyaç duyan (aerobik) canlıların hücrelerinde oluşum göstermektedir (Harbinson ve Hedley, 1993). Bitkiler için toksik etkiye sahiptir ve kloroplast stromasındaki bazı enzimlerin aktifliğini kaybetmesine sebep olmaktadır. Ayrıca DNA zincirinde kırılmalara ve proteinlerin parçalanarak denatüre olmasına da sebep olmaktadır (Hagar ve ark., 1997).

Hidrojen peroksit serbest bir radikal olmadığı halde hücresel membranlardan geçme yeteneğinden dolayı oldukça önemlidir. Ayrıca geçiş metallerinin varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açmaktadır. H_2O_2 'nin bir başka önemli fonksiyonu da, hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. H_2O_2 , katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksin gibi enzim sistemleriyle detoksifiye edilmektedir (Laitonjam, 2012).

2.9.4. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)

Hücrelerde hidroksil radikalini detoksifiye eden herhangi bir enzim yoktur. Bu nedenle hidroksil radikali biyomoleküllerle kuvvetli bir şekilde tepkimeye girebilen en reaktif

radikaldır (Haber ve Weiss, 1934) ve biyolojik sistemlere diğer herhangi bir reaktif oksijen türünden daha fazla zarar verebilmektedir. Hatta hücreyi ölüme kadar götürebilmektedir. Hidroksil radikali (OH^-), metal iyonları (Fe^{+2} veya Cu^+) tarafından katalizlenen bir reaksiyondaki hidrojen peroksitten oluşmaktadır (Laitonjam, 2012).

Geçiş metalleri olan Fe^{+2} ve Cu^+ hidroksil radikallerinin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Uygun geçiş metallerinin varlığında, özellikle Fe^{+2} , OH ayrıca nötral pH'da ve çevre sıcaklıklarında demir katalizli, Fenton reaksiyonu ile O_2 ve H_2O_2 'den de üretilmektedir (Vranova ve ark., 2002). Canlı hücrelere özgü olan ve hücre içinde gerçekleşen bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilmektedir (Laitonjam, 2012).

2.10. Bitkilerde Antioksidant Sistem

Antioksidantlar, canlı organizmalarda bulunan ve AOT'leri detoksifiye ederek oksidatif stresin istenmeyen etkisini önlemekten ya da azaltmaktan sorumlu olan bir sistemdir (He ve ark., 2017; Rahal, 2014). Oksidatif stresin biyokimyasal temelinde, AOT'lerin aşırı üretimi yatmaktadır. Bu üretim ile antioksidant savunma sisteminin performansı arasındaki dengenin sağlanması hayati bir önem taşımaktadır. Antioksidant sistem enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden meydana gelmektedir. Bu sistemin enzimatik bileşenleri arasında süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve guaiakol peroksidaz; enzimatik olmayan bileşenleri arasında ise askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler, glutatyon ve fenolik bileşikler yer almaktadır. Bazı antioksidantlar ve görevleri Tablo 2.1.'de verilmiştir. Bütün bitki türlerinin belli oranda bir antioksidant potansiyele sahip olduğuna inanılmaktadır (Hassan, 2017; Kasote ve ark., 2015).

Tablo 2.1. Bazı antioksidant bileşikler ve temel görevleri

Bileşikler	Görevleri
Süperoksit Dismutaz (SOD)	$O_2^{\bullet-}$ 'i H_2O_2 'ye dönüştürür.
Askorbat Peroksidaz (APOD)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.
Katalaz (KAT)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.
Glutasyon Redüktaz (GR)	GPOD ile birlikte H_2O_2 'den $OH^{\bullet-}$ 'in oluşmasını engeller.
Glutasyon Peroksidaz (GPOD)	H_2O_2 'i ve lipit peroksitlerini etkisiz hale getirir.
Askorbik Asit	Direkt olarak $O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'i temizler.
Tokoferoller	Lipit peroksitlerini $O_2^{\bullet-}$ ve $OH^{\bullet-}$ 'i temizler.
Karotenoidler	Peroksi radikalleri ile $O_2^{\bullet-}$ ve $OH^{\bullet-}$ 'i temizler.
Glutasyon	GPOD ile birlikte H_2O_2 'den $OH^{\bullet-}$ 'in oluşmasını engeller.
Fenolik Bileşikler	1O_2 'i temizler.

2.10.1. Enzimatik antioksidanlar

2.10.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), aerobik organizmaların tümünde bulunan, oksidatif strese karşı ilk enzimatik savunma hattı olarak kabul edilen ve yapısında metal iyonu bulunduran bir enzimdir (Gratão ve ark., 2015). Süperoksit radikalının bir dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 'ye dönüşümünü sağlayan reaksiyonu katalizlemektedir. Bu nedenle SOD, hem $O_2^{\bullet-}$ hem de H_2O_2 'nin hücresel seviyesini etkilemektedir ve $O_2^{\bullet-}$ ile ilişkili toksisiteyi önleyerek AOT'lerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahip olmaktadır (Abouzari ve Kakheri, 2015). Aynı zamanda Haber-Weiss reaksiyonu ile gerçekleşen $OH^{\bullet-}$ üretimini de sıkı bir şekilde koordine etmektedir (Gupta ve ark., 2018).

Metaloenzim olarak bilinen SOD, aktif merkezinde bulunan iyona bağlı olarak yüksek bitkilerde üç grupta incelenmektedir. Bunlar; bakır-çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD), mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD) ve demir süperoksit dismutaz (Fe-SOD)'dır (Perry ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2012).

Yapısal olarak, Fe-SOD ve Mn-SOD birbiriyle ilişkilidir. Cu/Zn-SOD, yapısında iki metalik iyon bulunduğundan, yapısal seviyede farklılıklara neden olan farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir (Scandalios, 1997).

2.10.1.2. Askorbat peroksidaz (APOD)

Askorbat peroksidaz (APOD), askorbik asitten (AsA) aldığı elektronu indirgeyici güç olarak kullanmakta ve H_2O_2 'yi su ve oksijene dönüştürmektedir. Bu arada askorbik asit de monodehidroaskorbik aside (MDHA) dönüşmektedir (Sharma ve ark., 2012). Bu sebeple, APOD'un aktivitesi büyük ölçüde askorbik asidin kullanılabilirliğine bağlıdır (Foyer ve Noctor, 2003). APOD, bitkilerde olduğu gibi pek çok farklı organizmada da bulunabilen bir enzimdir (Mittler ve ark., 2004).

Katalazdan farklı olarak APOD, H_2O_2 için yüksek bir afiniteye sahiptir ve bu yüzden düşük AOT seviyelerinde de işlevini yerine getirebilmektedir. APOD'un bu özelliği H_2O_2 'nin neden olduğu hücresel zararın önlenmesini sağlamaktadır. Öncelikle bitki hücrelerindeki H_2O_2 seviyesini kontrol altında tutarak gerekli sinyal iletim olaylarının fonksiyon göstermesine yardımcı olmaktadır (Mittler, 2002).

APOD; transkripsiyon oranları, H_2O_2 konsantrasyonu ve redoks sinyalleri gibi farklı uyarıcılar tarafından düzenlenen küçük bir grup gen tarafından kodlanmaktadır (Shigeoka ve ark., 2002). Amino asit dizilimlerine dayanarak, bitkilerde 5 ayrı APOD sınıfı tanımlanmış ve hücre içindeki lokalizasyonlarına göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflar; sitozolde bulunan sitozolik APOD (cAPOD), kloroplastta bulunan stromal APOD (sAPOD), tilakoid membranlarda tilakoidal APOD (tAPOD) ve sırasıyla mitokondri ve peroksizomal zarlara bağlı olan (mitAPOD) ve (pAPOD) izoenzimlerini içermektedir (Gill ve Tuteja, 2010; Sharma ve ark., 2012; Gupta ve ark., 2015).

2.10.1.3. Katalaz (KAT)

Aerobik organizmaların peroksizomlarında bulunan ve tetramerik yapıya sahip olan katalaz (KAT), ilk keşfedilen ve işlevsel olarak karakterize edilen antioksidant bir

enzimdir (Sharma ve ark., 2012). Katalaz, H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye ayrıştırılmasından ve hücre içi detoksifikasyonundan sorumludur (Gill ve Tuteja, 2010; Weydert ve Cullen, 2010). H_2O_2 'nin ayrışmasında yer alan birkaç enzim olmasına rağmen, katalaz, bu detoksifikasyon işleminde merkezi bir rol oynamaktadır (Gill ve Tuteja, 2010).

Katalaz ile H_2O_2 arasındaki yüksek spesifikliğe rağmen, bu enzimin aktivitesi ancak yüksek H_2O_2 seviyeleri mevcut olduğunda etkilidir. Çünkü katalazın H_2O_2 'ye olan afinitesi askorbat peroksidaz ve diğer peroksidazlar gibi enzimlerden nispeten daha düşüktür (Mittler, 2002). Ayrıca bazı araştırmacılar katalazın yüksek oranda peroksizomlarda bulunması ve ışığın etkili olduğu durumlarda da etkisini kaybettiğini açıklamışlardır (Foyer ve Mullineaux, 1994).

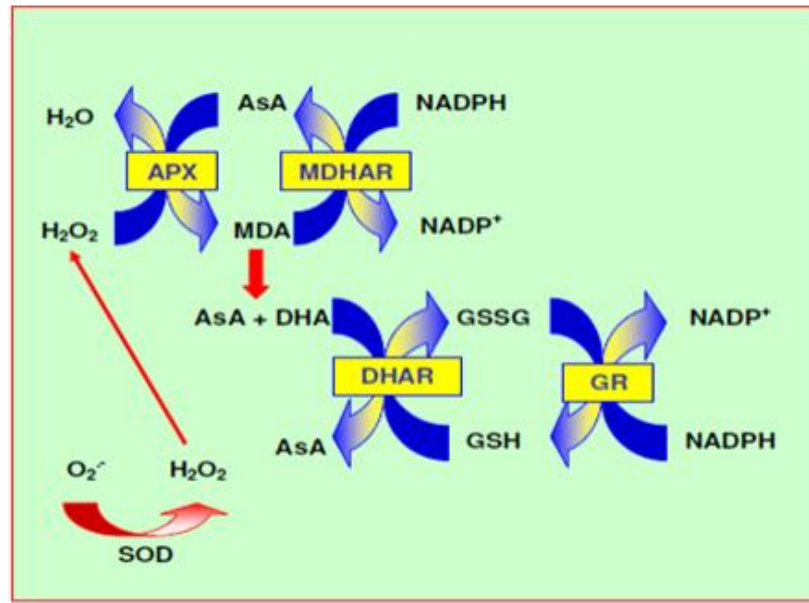
2.10.1.4. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz (GR) esas olarak kloroplastlarda yer alan ancak mitokondri, sitozol ve peroksizomlarda da bulunabilen, glutasyonun (GSH) indirgenmesi, AOT detoksifikasyonu ve hücre proliferasyonu gibi çeşitli hücresel işlemlerde anahtar rol oynayan, flavo-protein oksidoredüktaz grubundaki önemli bir antioksidant enzimdir (Jozefczak ve ark., 2012; Yu ve Zhou, 2007).

Bitkilerde askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü, AOT'lerin olumsuz etkileriyle mücadelede merkezi bir rol oynamaktadır (Şekil 2.3.). GSH ve GR, AsA-GSH döngüsünün önemli bileşenleridir. GSH, bir sülfhidril (-SH) grubu içeren suda çözünebilen birçok fonksiyona sahip olan bir tripeptittir ve AsA-GSH yolundaki dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) enzimi için bir substrattır (Anjum ve ark., 2010).

GR, okside olmuş glutasyonu (GSSG) NADPH molekülünden aldığı elektronu kullanarak indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüştürmektedir. Böylece çeşitli abiyotik stres faktörleri altındaki bitki hücrelerinde yüksek GSH/GSSG oranının korunmasına yardımcı olmaktadır (Yu ve Zhou, 2007). Böylece GR, proteinlerin aktif çalışması için çok önemli olan GSH havuzunun korunmasına da katkı sağlamış olmaktadır.

GR'nin katalizlediği reaksiyon sonucunda GSSG'nin GSH'ye indirgenmesi, bu reaksiyon sırasında elektron kaynağı olarak kullanılan NADPH miktarının azalmasını ve NADP^+ miktarının artmasını da sağlamaktadır (Tandoğan ve Ulusu, 2007; Edwards ve ark., 1990). Bu da $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ oranının CO_2 fiksasyon reaksiyonlarını destekleyecek seviyede kalmasını sağlamaktadır. (Aono ve ark., 1995; Creissen ve ark., 1996; Güler, 2008).



Şekil 2.3. Askorbat-glutasyon döngüsü (O_2^- , süperoksit radikali; SOD, süperoksit dismutaz; H_2O_2 , hidrojen peroksit; APX, askorbat peroksidaz; AsA, askorbik asit; MDA, monodehidroaskorbik asit; MDHAR, monodehidro askorbat redüktaz; DHA, dehidroaskorbik asit; DHAR, dehidroaskorbat redüktaz; GSSG, okside glutasyon; GSH, indirgenmiş glutasyon; GR, glutasyon redüktaz) (Mittler 2002' den değiştirilerek alınmıştır.).

2.10.1.5. Guaiakol peroksidaz (GPOD)

Guaiakol peroksidaz (GPOD), tüm canlı organizmalarda, özellikle bitki hücrelerinin sitozollerinde ve hücre çeperinde bulunan bir enzimdir (Sharma ve ark., 2012). GPOD, guaiakol veya pirogallol gibi farklı bileşikler kullanarak H_2O_2 'yi su ve oksijene kadar parçalamakta ve böylece H_2O_2 'nin hücre içi seviyesini düzenlemektedir. Ayrıca hem hücre içi hem de hücre dışı enzimatik aktivitesi nedeniyle, farklı çalışmalar GPOD'un H_2O_2 detoksifikasyonunda anahtar enzim olduğunu göstermektedir (Das ve Roychoudhury, 2014; Gill ve Tuteja, 2010).

GPOD, bitkilerde oksidatif stres toleransındaki rolünün yanı sıra, ayrıca diğer bazı temel biyosentetik olaylarda da önemli fonksiyonlara sahip olan bir enzimdir. Bunlar; hücre duvarının lignifikasyonu, IAA katabolizması ve etilen biyosentezidir (Sharma ve ark., 2012).

2.10.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.10.2.1. Askorbik asit

Askorbik asit (C vitamini), bitkilerde en bol bulunan ve üzerinde en çok araştırma yapılan antioksidant bileşiktir. Bu bileşikler çok çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlara katılabilmektedir. Bitki hücrelerindeki askorbik asit, mitokondride bulunan L-galactano-y-lakton dehidrojenaz enzimi tarafından katalize edilirken, bir kısmı da D-galakturonik asitten üretilen Smirnoff-Wheeler yoluna katılmaktadır. Askorbik asit havuzunun %90'ı sadece sitozolde değil, aynı zamanda büyük ölçüde apoplastta konsantre halde bulunmaktadır. Böylece AOT'lerin saldırısına karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır (Barnes ve ark., 2002). Ayrıca metal bağlayıcı enzimlerin aktivitelerini de korumaktadır. İndirgenmiş haldeki askorbik asit birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapmakta ve aşırı uyarma enerjisinin dağıtılmasını sağlamaktadır (Smirnoff, 2000). FSII aktivitesinin fotooksidasyonunun önlenmesinde de önemli rol oynadığı bilinmektedir.

2.10.2.2. Tokoferoller

Tokoferoller plastidlerde, kloroplastların tilakoid membranlarında ve plastoglobulinlerde bulunmaktadır (Blokhina ve ark., 2003). Tokoferoller sadece fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenmektedir. Bu nedenle sadece bitkilerin yeşil dokularında bulunmaktadır (Igamberdiev ve ark., 2004).

Dört izomer içeren tokoferoller (α -, β -, γ -, δ -tokoferol), 2-metil-6-kromanol halkasında belirli bir sayı ve metil gruplarının pozisyonu ile karakterize edilmektedir (Blokhina ve ark., 2003; Foyer ve Noctor, 2003). α -tokoferol, dört izomer arasında antioksidant

etkisi en yüksek olanıdır. α -tokoferol, γ -tokoferolden γ -tokoferol-metil transferaz (*VTE4* geni tarafından kodlanan γ -TMT) enzimi ile katalizlenen reaksiyon sonucunda sentezlenmektedir. Tokoferoller oksitlenebilen lipitleri koruyarak membran özelliklerini, belirli membran bölgelerinde yerleşen reseptörleri ve sinyal yollarını değiştirebilmektedir (Tengerdy, 1990). Ayrıca kloroplast lipitleri ve diğer membran bileşenlerinin, O_2 ile reaksiyona girmesini sağlayarak FSII'nin hem yapısal hem de fonksiyonel olarak korumasını sağladığı bilinmektedir (Igamberdiev ve ark., 2004).

α -Tokoferol, özellikle 1O_2 , OH^- ve ayrıca çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda meydana gelen bazı lipit radikalleriyle doğrudan etkileşime girebildiği için tilakoid membranlarda özellikle aktiftir. Farklı kinonların ve epoksitlerin üretimine yol açan bir enerji aktarma mekanizması yoluyla 1O_2 'yi detoksifiye edebilmektedir. Bu ürünlerden biri olan α -tokoferol kinon, α -tokoferol ile aynı antioksidant özelliğe sahiptir ve FSII'deki enerji dağılımında rol oynamaktadır (Munné-Bosch ve Alegre, 2002).

2.10.2.3. Karotenoidler

Karotenoidler, hem fotosentetik (siyanobakteriler, bitkiler ve algler) hem de fotosentetik olmayan (bazı bakteriler, mantarlar ve omurgasızlar) canlılarda ve bitki dokularının plastidlerinde bulunan lipofilik antioksidantlar grubuna aittir (Nisar ve ark., 2015). Bunlar 450-570 nm'de ışık absorpsiyonu yapan ve enerjiyi klorofil molekülüne aktaran bir grup anten molekülü olarak görev yapmaktadır. Karotenoidler, fotosentetik aktiviteyi dört farklı mekanizma ile koruyarak antioksidant aktivitelerini göstermektedir. Bunlar; zincir reaksiyonlarını sonlandırmak için lipid peroksidasyon ürünleri ile reaksiyona girmek, 1O_2 'yi detoksifiye etmek ve bir yan ürün olarak ısı üretmek, $^3Chl^*$ (triplet klorofil) ve Chl^* (tekli uyarılmış klorofil) ile reaksiyona girmek ve ksantofil döngüsü yoluyla fazla uyarılma enerjisini dağıtmaktır (Fini ve ark., 2011).

2.10.2.4. Glutasyon

Glutasyon, sitozol, endoplazmik retikulum, mitokondri, kloroplastlar, vakuoller, peroksizomlar ve hatta apoplast gibi hemen hemen tüm hücrel yapılar da bol miktarda bulunan düşük moleküler ağırlıklı tiyol tripeptit yapı lı bir antioksidant tır (Mullineaux ve Rausch, 2005). Etkili bir radikal temizleyici olarak işlev gören glutasyon, $^1\text{O}_2$, OH^- ve H_2O_2 ile kimyasal olarak reaksiyona girebilmektedir (Sharma ve ark., 2012). Glutasyon ayrıca hem normal hem de stres koşulları altında hücre bileşenlerinin durumunun korunmasına katkıda bulunan hücrel bir tampon görevi gören bir antioksidant tır (Foyer ve Noctor, 2005a; Foyer ve Noctor, 2005b). Glutasyon, sitozol ve kloroplastlarda spesifik enzimler olan glutamil sistein ligaz ve glutasyon sentetaz ile sentezlenmektedir (Gill ve Tuteja, 2010).

2.10.2.5. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler yaygın olarak yapraklarda, çiçeklerde ve polen tanelerinde bulunan antioksidant bileşikleridir. Fenolik bileşikler yapıları bakımından, flavanoidler, hidrosinamik asit (HCA), taninler ve antosiyaninler olmak üzere dört sınıfa ayrılmaktadır. Bitkilerde üreme ve polenlerin çimlenmesinde, bitki patojenlerine karşı savunmada, çiçek, meyve ve tohumlarda pigmentasyon sağlamada çeşitli rollere sahiptir. Fenolik bileşikler, aşırı uyarma enerjisinden dolayı fotosentetik aygıt a zarar veren sekonder AOT'leri yok etme sistemi olarak kabul edilmektedir (Fini ve ark., 2011). Fenolik bileşikler, $^1\text{O}_2$ 'nin detoksifikasyonunda rol oynamaktadır ve kloroplastik zarın dış tabakasında meydana gelen hasarları azaltmaktadır (Agati ve ark., 2012). Ayrıca farklı peroksidazlar için substrat olarak görev alma özellikleri bulunmaktadır (Pourcel ve ark., 2007; Hernández ve ark., 2009).

Fenolik bileşikler fosfolipidlerin kutupsal bölgesi ile etkileşime girebildiğinden, membranlardaki lipit homeostazına katkıda bulunmaktadır, böylece oksidatif hasarı önlemektedir (Erlejman ve ark., 2004). Ek olarak, nukleuslarda bulunan kuersetin türevleri, yüksek H_2O_2 konsantrasyonlarında bile OH^- üretimini engelleyebilmekte,

böylece DNA üzerindeki AOT'lerin sebep olduğu hasarı önleyebilmektedir (Brown ve ark., 1998).

2.11. Askorbik Asit

Bitkilerde güçlü bir antioksidant olan askorbik asit (AsA), $176.12 \text{ g mol}^{-1}$ 'lük bir moleküler kütleye sahiptir. Suda çözünebilmektedir ve beyaz ile açık sarı kristaller veya toz şeklinde görünmektedir. Vitamin suda çözünür olduğu için, taze meyvelerde, özellikle de portakal, limon ve mandalina ağırlıklı, narenciye ailesinde bulunur ve ayrıca yeşil yapraklı sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır. Güçlü indirgeme kabiliyeti nedeniyle, AsA sıvı ve katı gıda maddelerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Mahmoud ve ark., 2013). Eski Yunanlılar, Mısırlılar ve Romalılar, C vitamini eksikliğinin insanlar arasında iskorbüt hastalığına neden olduğunu bildirmişlerdir. 1750'lerde, James Lind günlük taze meyve ve sebze tüketiminin hastalığın iyileşmesinde yardımcı olduğunu keşfetmiştir (Davey ve ark., 2000).

1932'de Haworth, C vitamini yapısını doğrulamış ve ilk kez 1933'te Reichstein ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir (Reichstein ve ark., 1933). Kimyasal olarak, vitamin L-askorbik asit, D-arabo-askorbik asit ve L-arabo-askorbik asit olmak üzere üç izomerik formda bulunmaktadır. Bunlar arasında, ticari olarak kullanılan sadece L-askorbik asittir (L-AsA).

L-askorbik asidin yapısı basit bir altı karbonlu halkadır (bir heksonik asidin aldono-1,4-lakton) (Davey ve ark., 2000). L-askorbik asit, ters hidrokarbonik asit olarak bilinen D-askorbik aside dönüştürülebilmektedir. Askorbik asit hemen hemen tüm yüksek bitki türleri tarafından sentezlenmekte, hayvanlarda ise sadece L-gulukano-1,4-laktonu oksitleme kapasitesine sahip olanlar askorbik asidi sentezleyebilmektedir. Askorbik asit güçlü bir biyolojik antioksidanttır ve esas olarak antioksidant özellikleri ile bilinmektedir. Bitkileri, askorbat peroksidaz enziminin katalize ettiği reaksiyonlarda elektron vericisi olarak rol oynayarak oksidatif hasardan korumaktadır. Askorbik asit AOT'lere karşı koruma sağlama dışında başka bazı ek özelliklere de

sahiptir. Bu nedenle hücrelerde her zaman yeterli miktarda bulunmalı ve yeniden üretilmelidir (Arrigoni ve Tullio, 2002).

Askorbat içeriği meristematik dokularda (Loewus ve Loewus, 1987; Smirnoff ve Pallanca, 1996), çiçekler ve genç meyvelerde (Alhagdow ve ark., 2007; Hancock ve ark., 2007), kök uçlarında (Arrigoni, 1994) ve yumru köklerde (Tedone ve ark., 2004) yüksektir. *Myrciaria dubia*'nın meyvesi (Familya: Myrtaceae) askorbat içeriği bakımından en zengin meyvelerden biri olarak kabul edilmektedir (Justr ve ark., 2000).

2.11.1. Askorbik asitin bitkilerdeki biyosentezi

Bitkiler, askorbik asit sentezi için üç farklı biyosentetik yol izlemektedir. Farklı yollarla meydana gelen bu sentez işlemi, hücrenin özelliğine ve metabolik düzenlemesine bağlıdır. Askorbik asidin biyosentezini sağlayan mekanizmalardan biri enerjiye bağlı bir yol olan Smirnoff-Wheeler yoludur. Bu yol farklı basamaklardan oluşmaktadır. GDP-D-mannozun GDP-L-galaktoza dönüşümü, GDP-mannoz-3',5'-epimeraz enzimi ile sağlanmaktadır (Wheeler ve ark., 1998). GDP-L-galaktoz, L-galaktono-1,4-laktonun öncüsü olan L-galaktoza dönüştürülür ve bu bileşikte, galaktono-1,4-lakton dehidrojenaz ile L-askorbik aside dönüştürülmektedir. Galaktono-1,4-lakton dehidrojenaz enzimi, mitokondrinin iç zarı üzerinde yer alırken, diğerleri sitoplazmada bulunmaktadır (Smirnoff ve ark., 2001). Bu sentez mekanizması çilek meyvelerinde deneysel olarak gösterildiği gibi karbon zincirinin terse çevrilmesini içermemektedir (Loewus ve ark., 1956). GDP-mannoz-3',5'-epimeraz tarafından GDP-L-galaktoz oluşturmak yerine, enzimin moleküler formuna bağlı olarak GDP-L-glukoz da oluşturabilmektedir (Wolucka ve Montagu, 2003; Vapuesta ve Botella, 2004). Wolucka-Van Montagu (WVM) yolu olarak bilinen diğer bir mekanizma bazı hayvanlarda askorbik asidin biyosentezini sağlamaktadır. Bunun dışında D-galakturonik asidin metil esterinden başlayan diğer bir mekanizma da üronik asit yoludur (Isherwood ve ark., 1954). Bu sentez mekanizmasında karbon zincirinin tersine çevrilmesi söz konusudur (Agius ve ark., 2003). Ayrıca, büyük miktarlarda L-askorbik asit, tere bitkisinde olduğu gibi, D-galakturonik asidin metil esterinden sentezlenmektedir (Isherwood ve ark., 1954).

2.11.2. Askorbik asit ve tuz stresi

Bitkilerde tuz stresi, bitkilerin topraktan fazla miktarda absorbe ettiği NaCl'den kaynaklanmaktadır. Bitkilerin çoğu için, Na⁺ esansiyel bir mineral değildir. Tohum çimlenmesi ve bitki gelişimi gibi çeşitli fizyolojik süreçler tuz stresinden etkilenmekte ve bu nedenle bitkinin üretim potansiyelini sınırlamaktadır (Bohnert ve ark., 1995). Tuz stresinin ana hedefi, fotosentetik mekanizmanın bileşenleridir.

Bitkilerde tuz stresine cevap olarak ABA üretilmektedir ve stoma hücrelerindeki ozmotik değişimler sonucunda stomalar kapanmaktadır. Sonuçta yaprak dokularına giren CO₂ miktarı ve fotosentetik aktivite azalmaktadır (Leung ve ark., 1994). Tuz stresi altındaki bitkilerde AOT üretiminin artması yüzünden lignin üretimi de artmaktadır (Lee ve ark., 2007). AsA ile GSH, tuz toleransının sağlanması için çok önemli olan hücrenin redoks durumunun korunmasında rol oynamaktadır (Gossett ve ark., 1996; Shalata ve ark., 2001).

Tuza toleranslı bitkilerle karşılaştırıldığında, tuza duyarlı bitkilerde, askorbat-glutasyon döngüsünün aktivitesinde bir azalma gözlenmektedir. Tuza duyarlı türler hem GSH sentezi hem de GSH'nin kullanımının yeniden düzenlenmesi bakımından, toleranslı bitkilerle karşılaştırıldığında yetersizdir (Mittova ve ark., 2003).

Tuz stresi, AsA'nın biyosentezinde bir azalmaya neden olmaktadır (Song ve ark., 2005). AsA'nın katabolizması, tuzluluk sırasındaki sentezi ve yenilenmesi ile karşılaştırıldığında artmaktadır (Shalata ve ark., 2001; Amor ve ark., 2006). Tuz stresine uyum sağlayan bazı bitkilerde, askorbat içeriğinin arttığı gözlenmiştir (Shalata ve ark., 2001). Tuz stresi altındaki bitki dokularında AsA/DHA oranının şiddetli bir şekilde azalması, APOD'un AOT'lerin detoksifikasyonu sırasında AsA'yı sürekli kullanmasından ve dokulardaki AsA'nın azalmasından kaynaklanmaktadır. APOD aktivitesinin AsA'nın düşük konsantrasyonlarında önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir; bu nedenle APOD'un aktivitesinin korunması için AsA'nın bitki dokularındaki miktarının artması gerekmektedir (Asada, 1999). Askorbat-glutasyon döngüsünde rol oynayan bazı antioksidant enzimlere ait genlerin ekspresyonlarının

manipölasyonu ile, tuzluluğa bir miktar tolerans kazanmış transgenik bitkiler üretilmiştir (Ashraf, 2009).

Askorbik asit, diğer antioksidantlarla birlikte, H_2O_2 ve diğer AOT'leri detoksifiye ederek oksidatif hasarın minimum seviyeye indirilmesine ve membranların stabilize edilmesine yardımcı olmaktadır (Shao ve ark., 2008). Bitki dokularındaki IAA içeriği, hücre bölünmesini ve genişlemesini teşvik eden askorbik asit uygulaması nedeniyle artmakta, bu da bitki büyümesinin iyileştirilmesine neden olmaktadır (Hassanein ve ark., 2009).

Bununla birlikte askorbik asidin uygulanması bitkilerde lignin miktarını önemli ölçüde azaltmaktadır (Mazid ve ark., 2011). Askorbik asidin tuz stresi altındaki bitkilere uygulanması, çimlenme döneminde askorbat ve glutatyon içeriğinde bir artışa yol açmaktadır (Asada, 1997). Tuz stresi altında askorbik asit, büyüme düzeninde ve bitki metabolizmasında, su ve besin maddelerinin erişilebilirliğini arttırmada önemli bir rol oynamaktadır (Barakat, 2003).

2.12. Mısır Hakkında Genel Bilgiler

Mısır (*Zea mays* L.), pirinçten sonra dünyada en bol üretilen ikinci tahıldır. Mısır, Antarktika hariç her kıtada yetiştirilmektedir. Kuzey Amerika, dünya mısır mahsulünün %43'ünden fazlasının yetiştirildiği bölgedir. “Corn Belt (Mısır Kemer Bölgesi)” ise Amerika Birleşik Devletleri'nde üretilen toplam mısırın %90'ını karşılamaktadır. Bunun dışında dünya genelinde mısır üretimi bakımından Çin %18, Avrupa Birliği %7, Brezilya %6, Balkan ülkeleri %3, Meksika %3, Arjantin, Hindistan ve Güney Afrika'nın her biri %2'lik paya sahiptir. Kurutulmasının, depolanmasının ve taşınmasının kolaylığı, mısırı hayvansal gıdalar için büyük bir enerji kaynağı ve nişasta bazlı endüstriyel ürünlerin üretimi için güvenilir ve tercih edilen bir hammadde haline getirmiştir. Mısır, Güney Amerika, Orta Amerika ve Afrika dahil, dünyanın pek çok bölgesinde öğütme, alkali işleme, kaynatma/pişirme veya fermentasyon yoluyla doğrudan gıda ürünlerine dönüştürülen başlıca gıda kaynağıdır.

Mısır taneleri mısır bitkisinin tohumlarını oluşturmaktadır. Mısır tohumlarının ortalama %12'si embriyo, %82'si endosperm, %6'sı da perikarptan oluşmaktadır. Bu bölümlerin her birinin kendine özgü görevi vardır. Mısır tohumları, üreme için ana kaynak olan embriyoyu, gerekli tüm enzimleri, genetik materyali, organik ve inorganik maddeleri içermektedir.

Embriyo yaklaşık %34 yağ, %19 protein, %28 çözünebilir maddeler (şekerler, suda çözünür proteinler, mineral ve vitaminler) ve %19 oranında çözünmeyen maddeleri içermektedir. Embriyo protein açısından nispeten zengin olmasına rağmen, çalışmalarda yağ içeriği asıl ilgilenilen konudur. Mısır yağı, göreceli olarak yüksek düzeyde linolenik asit içerir ve bu yüzden sahip olduğu ideal lezzet nedeniyle rağbet gören bir bitkisel yağdır. Embriyo, tohumun albüminlerinin %65'inden fazlasını (suda çözünür proteinler), globülinleri (tuzda çözünen proteinler), toplam tohum proteininin %25'ini, çözünür şekerleri, vitaminleri ve mineralleri yüksek oranda içermektedir (Eckhoff ve ark., 2003).

BÖLÜM 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Araştırmada, mısır (*Zea mays* L.) bitkisine ait Ada 9510 genotipi kullanılmıştır. Ada 9510 mısır genotipine ait tohumlar Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan araç ve gereçler

Çalışmada kullanılan başlıca ekipmanlar, Radwag AS220/C/12 hassas terazi, Centurion Scientific K3 Series soğutuculu santrifüj, DragonLab MS-H-Pro manyetik karıştırıcı, IsoLab vorteks, Hanna HI2211 pH metre, Nüve sıcak su banyosu, Elga saf su cihazı, JEIOTECH etüv, Shimadzu mini UV 1240 spektrofotometre ve JSR JSPC-200C iklim dolabıdır.

3.3. Bitki Yetiştirme Yöntemi

Eşit büyüklükte ve sağlam olan tohumlar seçilerek cam petri kaplarında bidistile su ile ıslatılmış kurutma kağıtları arasına yerleştirilmiştir. Petri kapları 24 °C sıcaklık ve %40-50 oransal neme sahip olan iklim dolabında karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır. Üç gün sonra bu genotipe ait uniform fideler ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi içeren saksılara transfer edilerek 18/25 °C sıcaklık (gece/gündüz), 16/8 saat fotoperiyot (gündüz/gece), %50±5 oransal nem ve 200 µmol foton m⁻² s⁻¹ ışık şiddetine sahip iklim dolabına yerleştirilmiştir. Ongünlük olan bitkiler gruplara ayrılarak aşağıdaki uygulamalar gerçekleştirilmiştir:

1. Kontrol (NaCl içermeyen besin çözeltisi)
2. T₁ (50 mM NaCl)
3. T₂ (75 mM NaCl)
4. T₃ (100 mM NaCl)
5. AsA_y (Yapraktan 100 ppm askorbik asit)
6. T₁ + AsA_y
7. T₂ + AsA_y
8. T₃ + AsA_y

Birinci grupta bulunan kontrol bitkileri denemenin sonuna kadar ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi ile sulanmıştır. Çalışmada kullanılan bütün tuz çözeltileri Hoagland besin çözeltisi içinde, yapraktan uygulanan askorbik asit çözeltisi ise saf su ile hazırlanmıştır. Beş günlük uygulamanın sonunda biyokimyasal analizlerde kullanılacak olan yaprak örnekleri analizlere kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir. Çalışmada kullanılan Hoagland besin çözeltisinin kimyasal içeriği Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Hoagland besin çözeltisi (Hoagland, 1920).

Bileşikler	Stok çözeltiler	½ Hoagland besin çözeltisi
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	118,1 g L ⁻¹	50 mL
MgSO ₄ .7H ₂ O	26,6 g L ⁻¹	
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	16,4 g L ⁻¹	
KNO ₃	50,4 g L ⁻¹	
Al ₂ (SO ₄) ₃ .18H ₂ O	0,105 g 25 mL ⁻¹	37,5 µL
KI	0,0139 g 25 mL ⁻¹	
KBr	0,0139 g 25 mL ⁻¹	
SnCl ₂ .2H ₂ O	0,0139 g 25 mL ⁻¹	
LiCl	0,0139 g 25 mL ⁻¹	
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,1944 g 25 mL ⁻¹	
H ₃ BO ₃	0,3055 g 25 mL ⁻¹	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,0494 g 25 mL ⁻¹	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0277 g 25 mL ⁻¹	
NiSO ₄ .7H ₂ O	0,0297 g 25 mL ⁻¹	
Co(NO ₃) ₂ .H ₂ O	0,0277 g 25 mL ⁻¹	
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,0834 g 100 mL ⁻¹	10 mL
C ₄ H ₆ O ₆ (tartarik asit)	0,0450 g 100 mL ⁻¹	

3.4. Analizler

3.4.1. Fotosentetik pigment miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularındaki klorofil a, klorofil b, toplam klorofil (klo a+b) ve toplam karotenoid (x+c) miktarları Lichtenthaler (1987)'ye göre belirlenmiştir. Yapraklardan çıkarılan 0,5 cm çapındaki 3 adet disk tartıldıktan sonra, cam deney tüplerine alınarak üzerine 3 mL saf aseton ilave edilerek bir hafta buzdolabında (4 °C) bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda elde edilen özüt 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantın absorbans değerleri 661,1, 644,8 ve 470 nm'de spektrofotometrik (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spektrofotometre) olarak belirlenmiştir.

3.4.2. Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularındaki lipid peroksidasyonunu belirlemek için malondialdehit (MDA) miktarı Ohkawa ve ark. (1979)'nın metodu kullanılarak saptanmıştır. Kontrol ve tuz stresine maruz bırakılmış bitki yapraklarından alınan yaklaşık 0,3 g örnek 6 mL %5'lik trikloroasetik asit (TCA) ile havanda dövülerek homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sırasında ve sonrasında numunelerin soğuk tutulmasına dikkat edilmiştir. Bu karışım 4 °C'de 4.100 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanttan 0,5 mL alınarak yeni tüplere, içinde %0,5 tiobarbütrik asit (TBA) bulunan %20'lik TCA çözeltisinden 1 mL ve 0,1 M 0,5 mL Tris tamponu (pH 7,6) eklenmiş, daha sonra 95 °C'de 60 dakika su banyosunda tutulmuştur. Su banyosundan çıkarılan tüplerdeki reaksiyonları durdurmak için tüpler buz banyosuna konulmuştur. Spektrofotometrede 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbanları ölçülmüştür. Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g taze ağırlık⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

3.4.3. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularındaki hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı Ohkawa ve ark. (1979)'nın metodu kullanılarak saptanmıştır. Kontrol ve tuz stresine maruz bırakılmış bitki yapraklarından alınan yaklaşık 0,3 g örnek 6 mL %5 trikloroasetik asit (TCA) ile havanda dövülerek homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sırasında ve sonrasında numunelerin soğuk tutulmasına dikkat edilmiştir. Bu karışım 4 °C'de 4.100 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanttan 0,5 mL alınarak yeni tüplere, içinde 0,1 M 0,5 mL Tris tamponu (pH 7,6) ve 1 M 1 mL potasyum iyodür (KI) eklenmiştir. Spektrofotometrede 390 nm dalga boyunda absorbanları ölçülmüştür. Kör olarak %0,1'lik TCA çözeltisi kullanılmıştır. Yaprak dokularındaki hidrojen peroksit miktarı standart grafik yardımıyla nmol g taze ağırlık⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

3.4.4. Serbest prolin miktarının belirlenmesi

Etüvde kurutulduktan sonra havanda ezilerek ince toz haline getirilen yaprak örneklerinde prolin miktarını belirlemek için Bates ve ark. (1973)'nin metodu kullanılarak özütler hazırlanmıştır. 10 mg kuru materyal üzerine 4 mL distile su ilave

edildikten sonra tüpler sıcak su banyosunda (100 °C) 10 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda örnek soğutulup süzölmüş ve çökelti üzerine 3 mL distile su konulup tekrar sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Soğutma ve süzme aşamasından sonra aynı işlemler bir kez daha tekrarlanarak süzöntülerin toplam hacmi 10 mL' ye tamamlanmış ve vorteksle karıştırılmıştır. Süzöntüden alınan örneklerle prolin miktarı ($\mu\text{mol g kuru ağırlık}^{-1}$) asit-ninhidrin metoduna göre 520 nm'de yapılan ölçümlerle spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

3.5. Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.5.1. Toplam süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

Toplam SOD aktivitesi Beyer ve Fridovich (1987)'e göre belirlenmiştir. Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütölmüş ve 1,5 mL, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0) tamponu, %2'lik PVP (polivinilpirolidon) ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1.030 μL olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,8), $9,9 \times 10^{-3}$ M metionin, $5,7 \times 10^{-5}$ M NBT (nitroblue tetrazolyum), %1'lik Triton X-100 ve enzim karışımından oluşan bir reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon 0,9 μM riboflavin ilavesi ile başlatılmış, bu karışım 15 dakika boyunca $375 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ şiddetinde ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm'de absorbans değeri belirlenmiştir. Toplam SOD aktivitesi daha önce hazırlanmış olan standart grafikten faydalanarak hesaplanmıştır (U mg protein^{-1}).

3.5.2. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesinin belirlenmesi

Toplam APOD aktivitesi Wang ve ark. (1991)'na göre belirlenmiştir. Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütölmüş ve 1,5 mL, 50 mM Tris-HCl (pH 7,2) tamponu, %2'lik PVP, 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 12.000 rpm ve 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1.000 μL olacak şekilde 50 mM K-PO₄ tamponu (pH 6,6), 2,5 mM askorbat, 10 mM H₂O₂ ve 100 μg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂'nin eklenmesiyle başlatılmıştır.

Askorbat konsantrasyonundaki azalma, spektrofotometrede 290 nm’de yapılan ölçümlerle enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2,8 mM cm. 290 nm⁻¹) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol askorbat dakika⁻¹ mg protein⁻¹).

3.5.3. Toplam glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesi

Toplam GR aktivitesi Sgherri ve ark. (1994)’na göre belirlenmiştir. Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 mL, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0) tamponu, %2’lik PVP ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1.000 µL olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,8), 2 mM Na₂EDTA, 0,5 mM okside glutatyon (GSSG), 0,2 mM NADPH ve 100 µg protein içeren enzimkarışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, NADPH’nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 320 nm’de ölçülmüştür. Düzeltme, NADPH yokluğunda GSSG oksidasyonu ile yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH’nin ekstinksiyon katsayısı (6,2 mM cm. 340 nm⁻¹) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol NADPH dakika⁻¹ mg protein⁻¹).

3.5.4. Toplam guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesinin belirlenmesi

Toplam GPOD aktivitesi Sanchez-Romero (1993)’ya göre belirlenmiştir. Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 mL, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0), tamponu %2’lik PVP ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 3.180 µL olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,0), 0,316 mM guaiakol, 0,116 mM H₂O₂ ve 100 µL enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂’nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 470 nm’de ölçülmüş ve guaiakolün ekstinksiyon katsayısı (26,6 mM cm. 470 nm⁻¹) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol H₂O₂ dakika⁻¹ mg protein⁻¹).

3.5.5. Askorbik asit miktarının belirlenmesi

Askorbik asit miktarı Fe^{+3} iyonlarının Fe^{+2} iyonlarına indirgenmesi esasına göre belirlenmiştir (Law ve ark., 1983). Bu amaçla belirli miktarda yaprak dokusu %10'luk TCA içinde ekstrakte edildikten sonra santrifüj edilmiş ve süpernatantlar kullanılmıştır. 400 μL süpernatant üzerine, %10'luk TCA, 5 M NaOH, 150 mM NaPO_4 tamponu (pH 7.4), 10 mM ditiotreitol, %0,5'lik N-etilmaleimid, %44'lük H_3PO_4 ve %3'lük FeCl_3 ilave edildikten sonra karışım 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiş ve 525 nm'de spektrofotometrik olarak absorbansları belirlenmiştir.

3.6. İstatistik Analizler

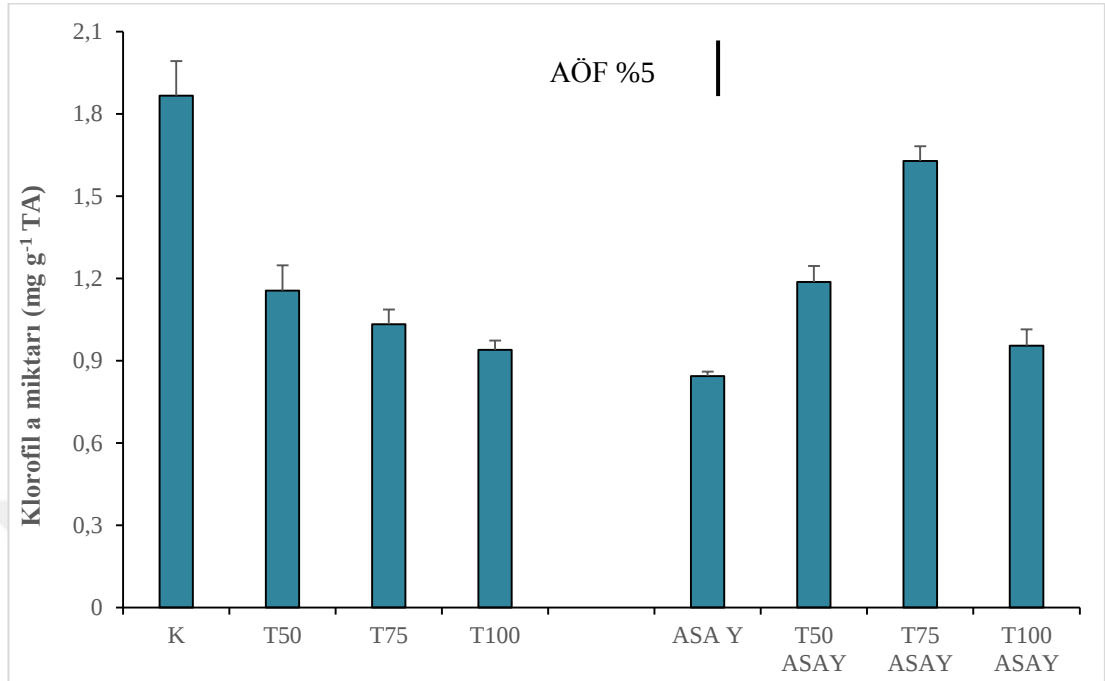
Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 20.0 paket programı kullanılarak, istatistiksel varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole göre neden olduğu farkın önem kontrolü (LSD, least significant difference; AÖF, anlamlı önemli fark) %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosentetik Pigment Üzerine Etkisi

2.3.3. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının klorofil a miktarı üzerine etkisi

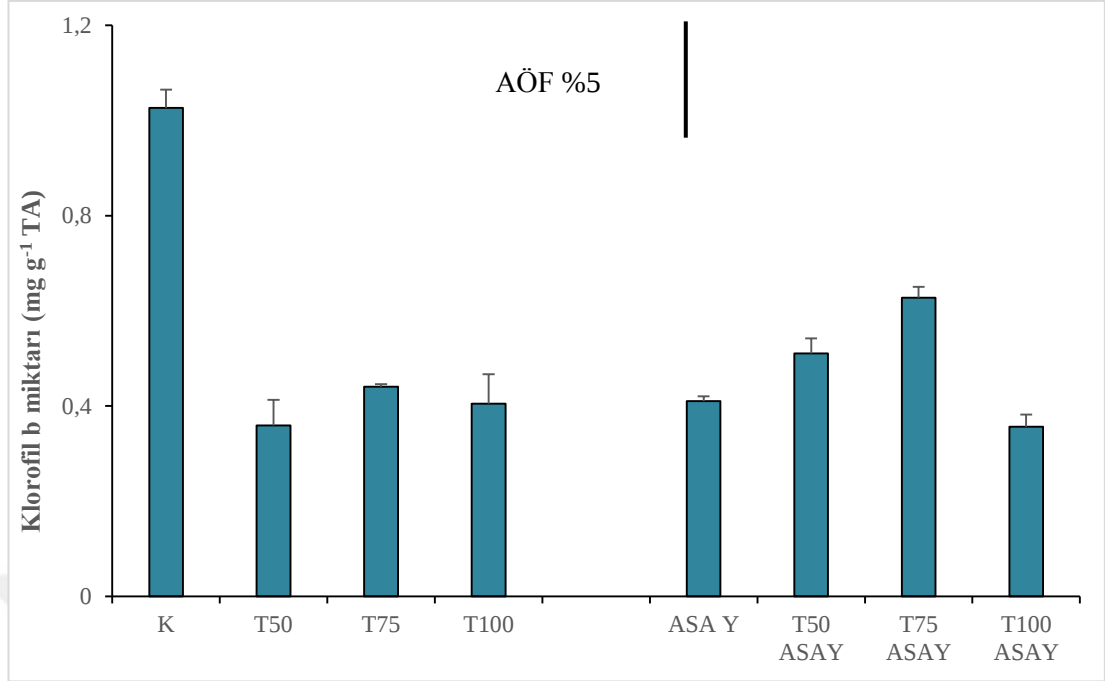
50, 75 ve 100 mM tuz (NaCl) uygulamaları mısır yapraklarındaki klorofil a miktarını kontrole göre önemli derecede azaltmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.1.). Mısır bitkilerine yapraktan uygulanan 100 ppm' lik askorbik asit de klorofil a miktarını kontrolle karşılaştırıldığında belirgin derecede azaltmıştır ($P \leq 0,05$). 50 ve 100 mM tuz stresi altındaki bitkilere yapraktan uygulanan askorbik asit klorofil a miktarını sadece 50 ve 100 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak etkilememiş ($P \geq 0,05$) ancak 75 mM tuz ve yapraktan askorbik asit uygulaması klorofil a miktarını sadece 75 mM tuz verilen bitkilere göre önemli oranda artırmıştır ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.1. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki klorofil a miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

2.3.4. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının klorofil b miktarı üzerine etkisi

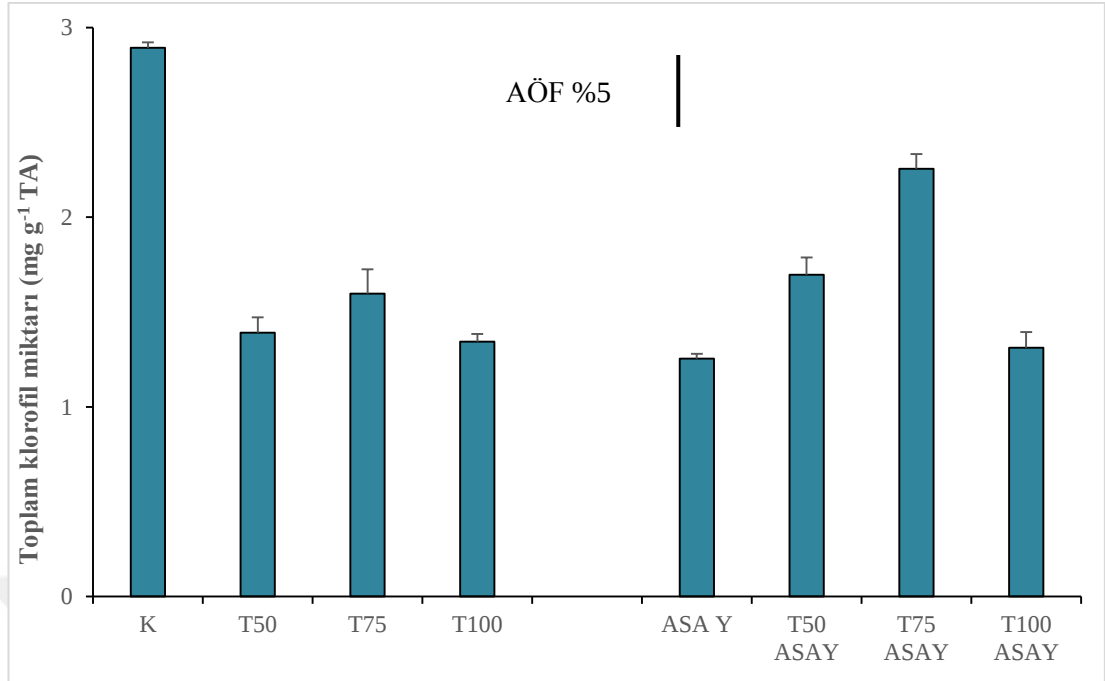
Çalışmamızda kullanılan tüm tuz konsantrasyonları (50, 75 ve 100 mM) mısır yapraklarındaki klorofil b miktarını kontrole göre belirgin oranda azaltmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.2.). Mısır bitkilerine yapraktan uygulanan askorbik asit de klorofil b miktarını kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda azaltmıştır ($P \leq 0,05$). 50, 75 ve 100 mM tuz stresi uygulanan mısır bitkilerine yapraktan verilen askorbik asit klorofil b miktarını sadece tuz stresi (50, 75 ve 100 mM) uygulanan bitkilere göre önemli derecede etkilememiştir ($P \geq 0,05$).



Şekil 4.2. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki klorofil b miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

2.3.5. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının toplam klorofil miktarı üzerine etkisi

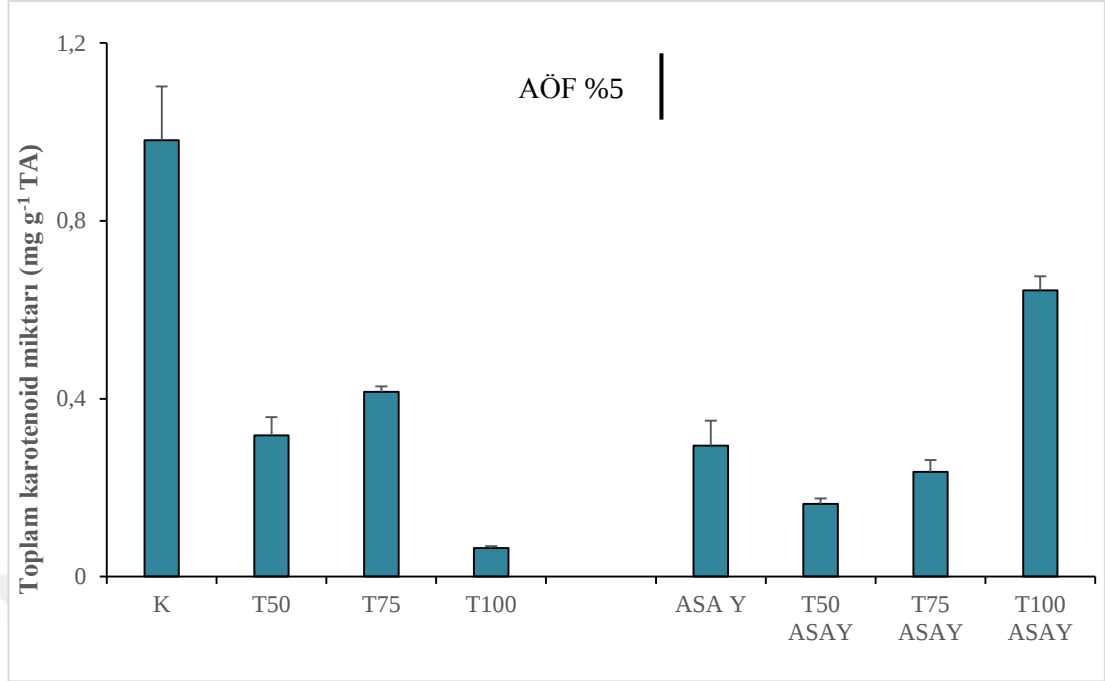
50, 75 ve 100 mM tuz stresi altındaki ve yapraklardan askorbik asit uygulanan mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarı kontrolle karşılaştırıldığında önemli derecede azalmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.3.). 50 ve 100 mM tuz uygulanan mısır bitkilerinde yaprak yoluyla uygulanan askorbik asit toplam klorofil miktarını sadece 50 ve 100 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında etkilememiştir ($P \geq 0,05$). Ancak 75 mM tuz stresi uygulanan mısır yapraklarına verilen askorbik asit toplam klorofil miktarının sadece 75 mM tuz uygulanan bitkilere göre belirgin oranda artmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.3. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki toplam klorofil miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

2.3.6. Tuz stresi ve askorbik asit uygulamalarının toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi

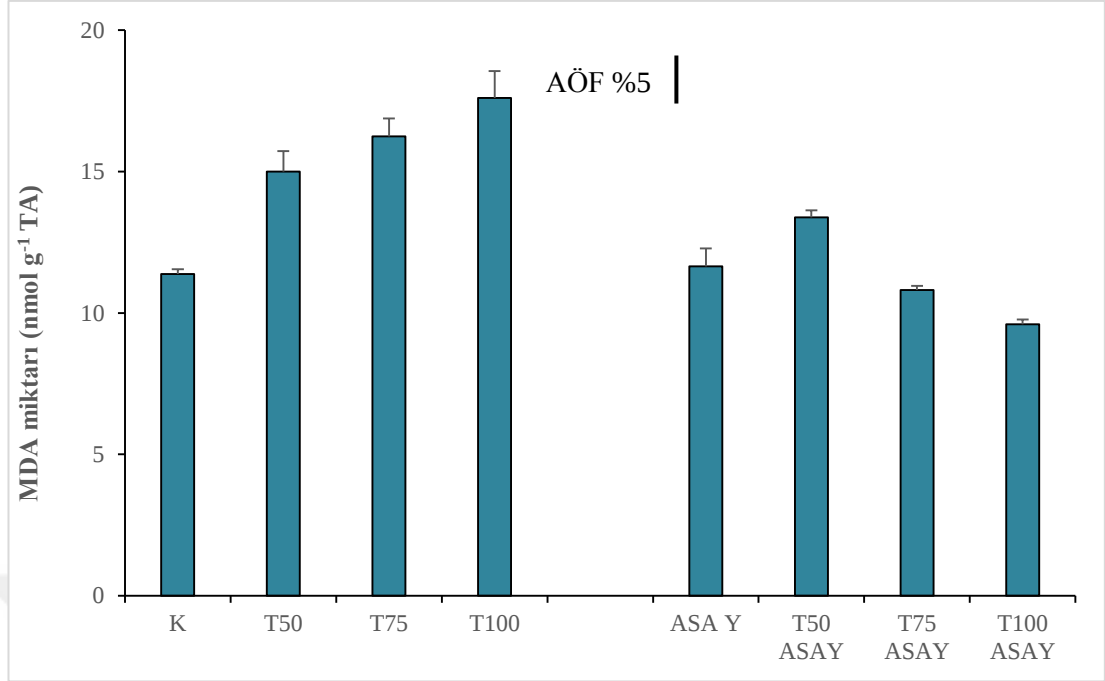
50, 75 ve 100 mM tuz stresi ve yaprak yoluyla verilen askorbik asit mısır yapraklarındaki toplam karotenoid miktarının kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmasına yol açmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.4.). 50 mM tuz uygulaması yapılan mısır bitkilerine yapraktan verilen askorbik asit toplam karotenoid miktarını sadece 50 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında etkilememiştir ($P \geq 0,05$). 75 mM tuz stresi altındaki bitkilerde yaprak yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması toplam karotenoid miktarını sadece 75 mM tuz uygulanan bitkilere göre önemli derecede azaltırken ($P \leq 0,05$), 100 mM tuz ve askorbik asit uygulanan mısır yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı sadece 100 mM tuz uygulaması ile karşılaştırıldığında belirgin derecede artırmıştır ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.4. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.2. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının MDA Miktarı Üzerine Etkisi

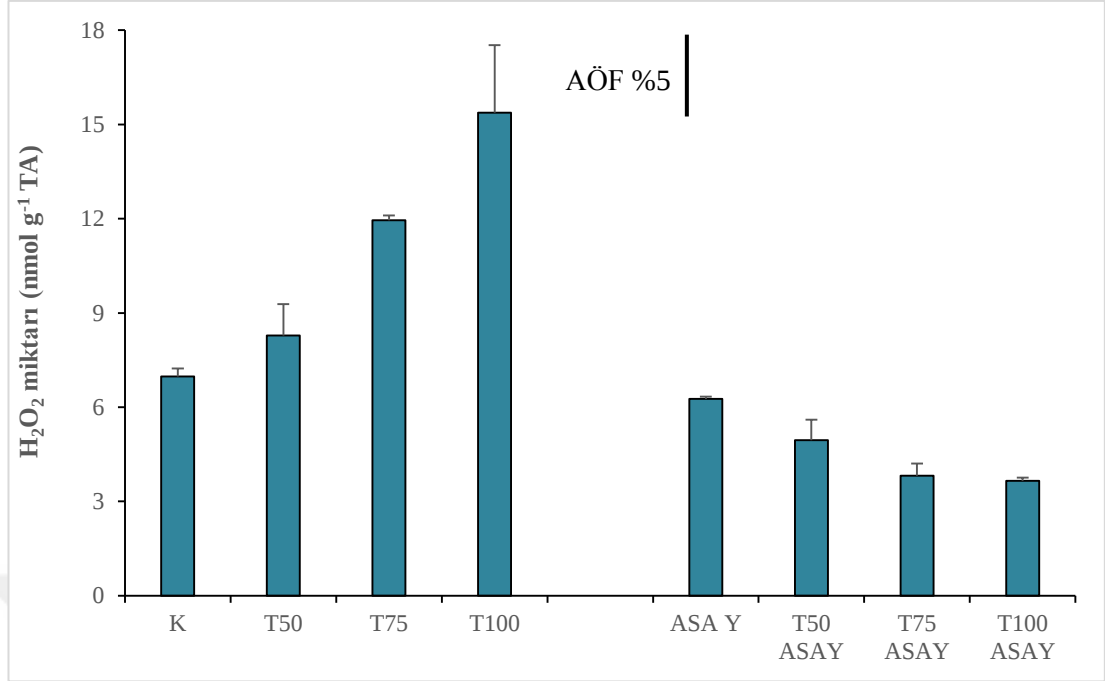
50, 75 ve 100 mM tuz stresi uygulanan mısır yapraklarındaki MDA miktarı kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.5.). Yapraktan gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması ise MDA miktarını kontrole göre istatistiksel anlamda etkilememiştir ($P \geq 0,05$). 50 mM tuz stresi uygulanan mısır bitkilerine yapraktan verilen askorbik asit sadece 50 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında MDA miktarını etkilememiştir ($P \geq 0,05$). Ancak 75 ve 100 mM tuz verilen mısır bitkilerinde yapraktan gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması yapraklardaki MDA miktarının sadece 75 ve 100 mM tuz uygulanan bitkilere göre önemli oranda azalmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.5. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki MDA miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.3. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının H₂O₂ Miktarı Üzerine Etkisi

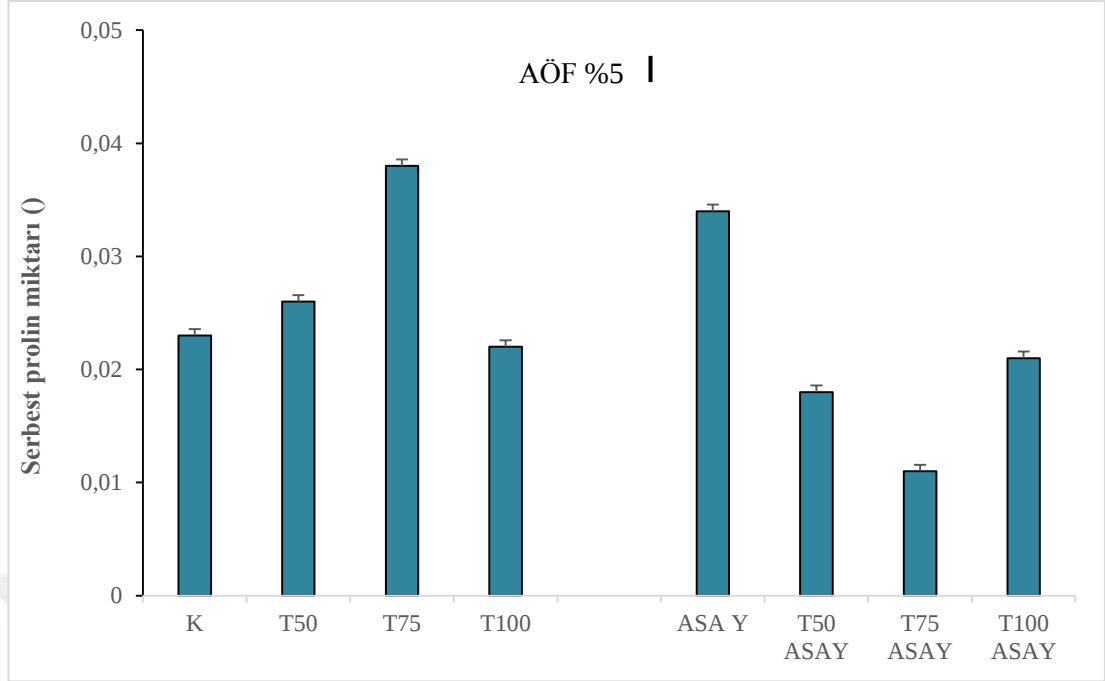
50 mM tuz uygulaması mısır yapraklarındaki H₂O₂ miktarını kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak etkilememiş ($P \geq 0,05$) ancak 75 ve 100 mM tuz uygulaması önemli oranda artırmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.6.). Yaprak yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması sonucunda da yapraklardaki H₂O₂ miktarı bakımından kontrole göre anlamlı bir fark bulunamamıştır ($P \geq 0,05$). 50, 75 ve 100 mM tuz stresi uygulanan mısır bitkilerinde yapraktan verilen askorbik asit H₂O₂ miktarının sadece 50, 75 ve 100 mM tuz uygulanan bitkilere göre önemli derecede azalmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.6. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki H₂O₂ miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.4. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Serbest Prolin Miktarı Üzerine Etkisi

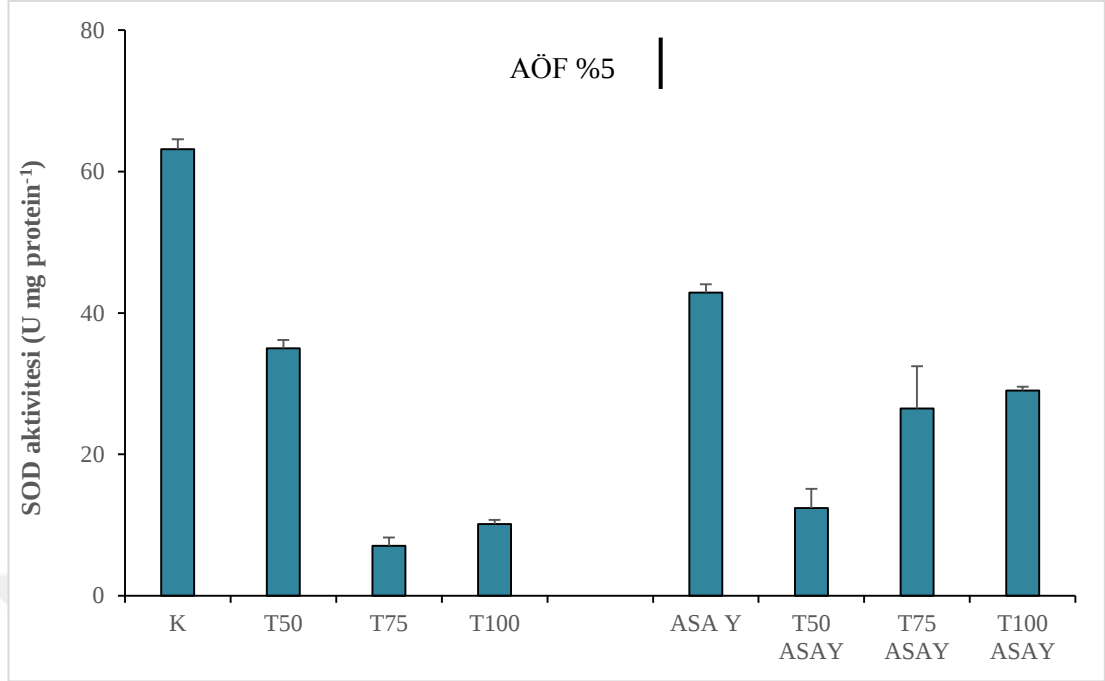
50 ve 75 mM tuz uygulamaları ve yaprak yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması mısır yapraklarındaki serbest prolin miktarını kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda artırırken ($P \leq 0,05$), 100 mM tuz uygulaması etkilememiştir ($P \geq 0,05$) (Şekil 4.7.). 50 ve 75 mM tuz uygulanan bitkilere yapraktan verilen askorbik asit serbest prolin miktarını sadece 50 ve 75 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında serbest prolin miktarını önemli derecede azaltmıştır ($P \leq 0,05$). Ancak 100 mM tuz ve askorbik asit verilen mısır yapraklarındaki serbest prolin miktarı sadece 100 mM tuz verilen bitkilere göre anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($P \geq 0,05$).



Şekil 4.7. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki serbest prolin miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.5. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

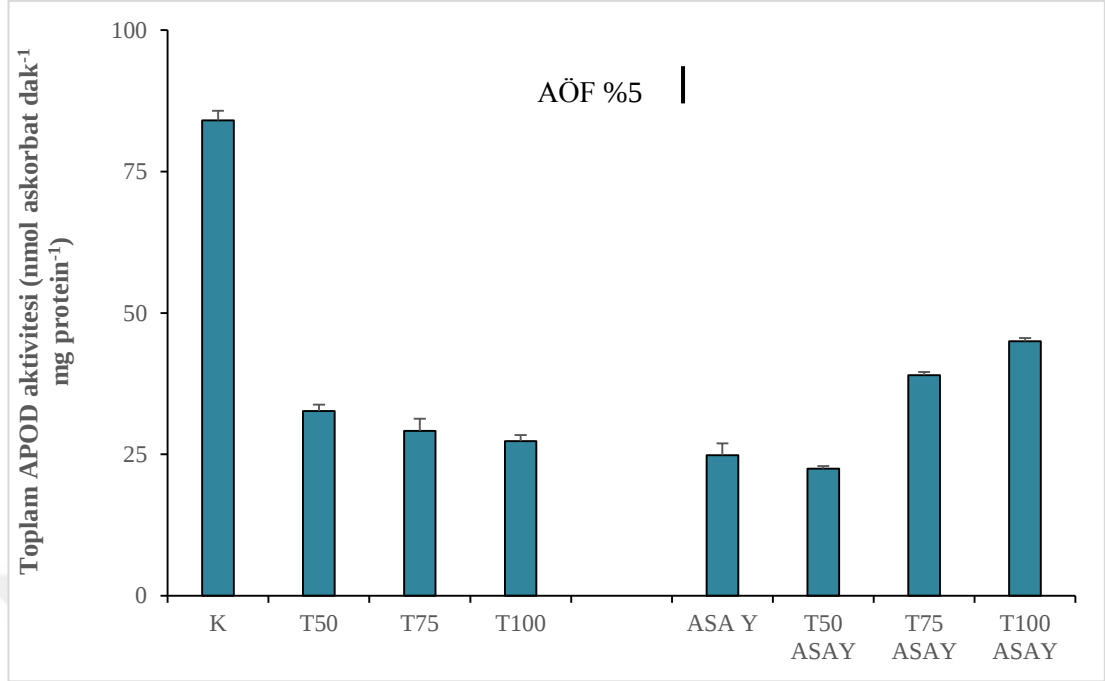
50, 75 ve 100 mM tuz stresi ve yaprak yoluyla yapılan askorbik asit uygulaması mısır yapraklarındaki toplam SOD aktivitesinin kontrole göre istatistiksel olarak azalmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.8.). 50 mM tuz uygulanan mısır bitkilerinde yapraktan yapılan askorbik asit uygulaması toplam SOD aktivitesinin sadece 50 mM tuz uygulamasına göre önemli oranda azalmasına yol açmıştır ($P \leq 0,05$). Ancak 75 ve 100 mM tuz uygulanan mısır yapraklarına verilen askorbik asit toplam SOD aktivitesini sadece 75 ve 100 mM tuz uygulanan bitkilere göre önemli oranda artırmıştır ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.8. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki SOD aktivitesi üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.6. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam APOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

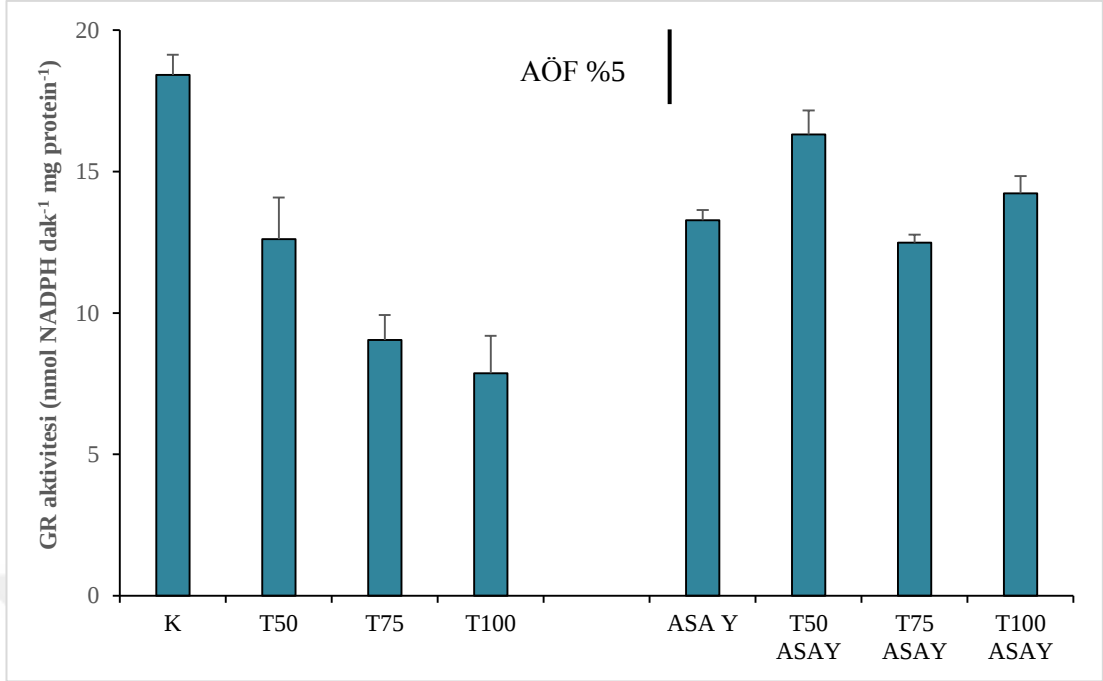
Kullanılan tüm tuz konsantrasyonları (50, 75 ve 100 mM) ve yapraktan uygulanan askorbik asit mısır yapraklarındaki toplam APOD aktivitesinin kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.9.). 50 mM tuz verilen mısır bitkilerinde yapraktan uygulanan askorbik asit toplam APOD aktivitesinin sadece 50 mM tuz uygulanan bitkilere göre belirgin derecede azalmasına yol açarken ($P \leq 0,05$), 75 ve 100 mM tuz ve askorbik asit uygulamaları yapraklardaki APOD aktivitesinin sadece 75 ve 100 mM tuz uygulamalarına göre istatistiksel anlamda artmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.9. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki toplam APOD aktivitesi üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.7. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam GR Aktivitesi Üzerine Etkisi

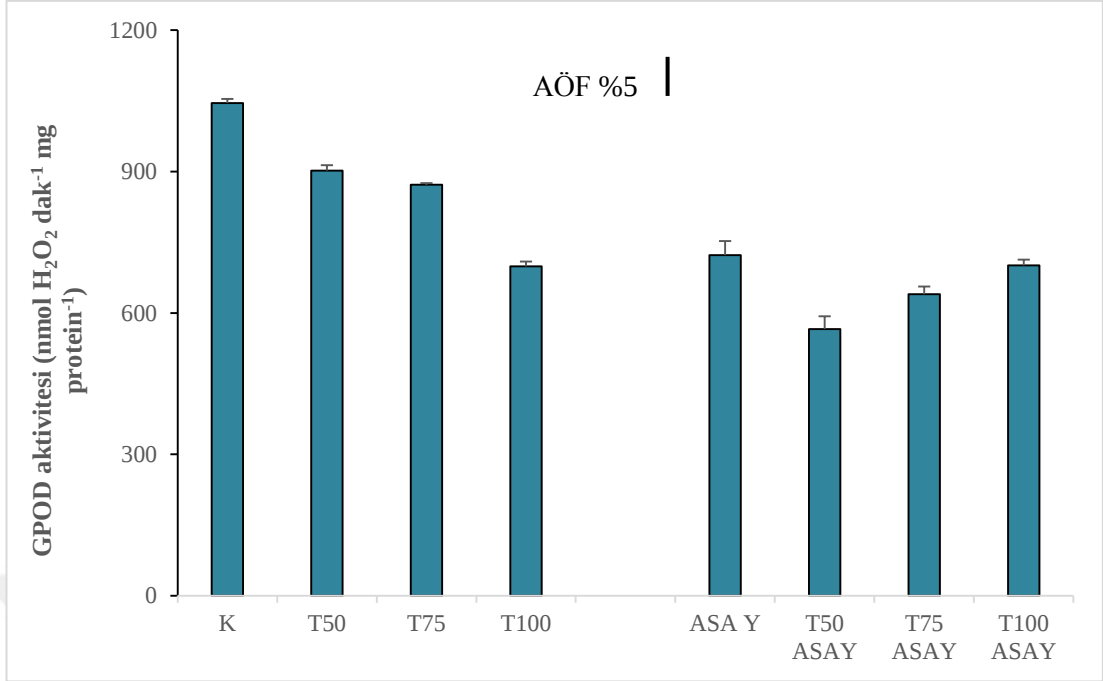
50, 75 ve 100 mM tuz uygulamaları ve yapraktan verilen askorbik asit mısır yapraklarındaki toplam GR aktivitesinin kontrole göre anlamlı derecede azalmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.10.). Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM) altındaki mısır bitkilerine yaprak yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması yapraklardaki GR aktivitesinin sadece 50, 75 ve 100 mM tuz uygulanan bitkilere göre önemli derecede artmasına neden olmuştur ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.10. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki GR aktivitesi üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.8. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Toplam GPOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

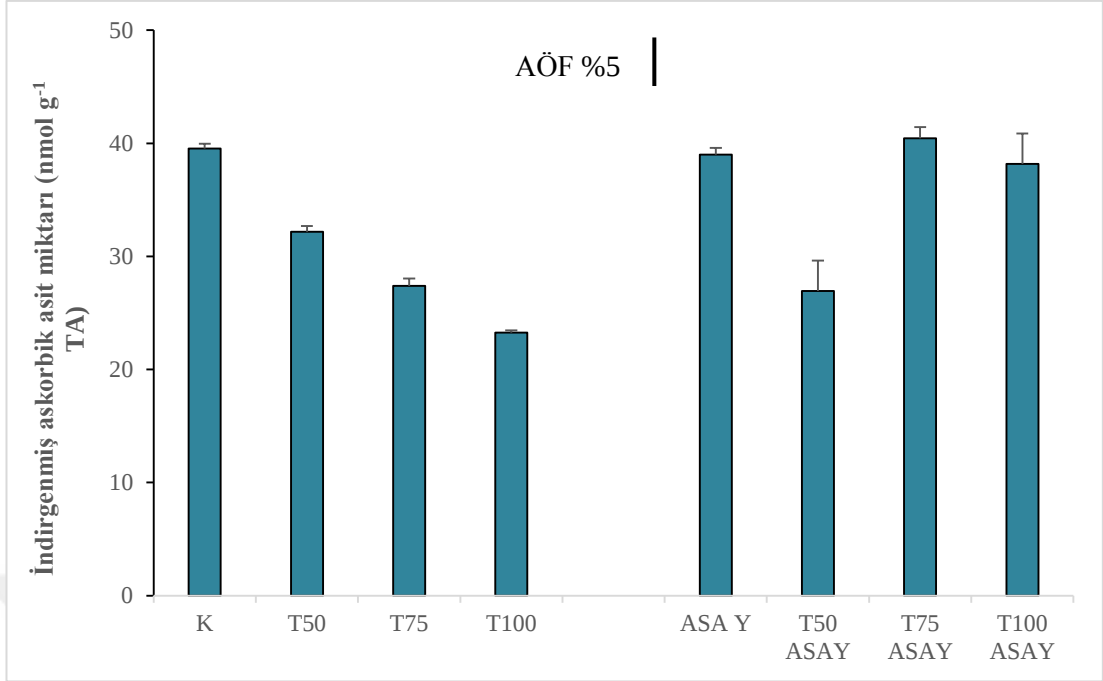
50, 75 ve 100 mM tuz stresi ve yapraktan gerçekleştirilen askorbik asit uygulamaları mısır yapraklarındaki toplam GPOD aktivitesini kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.11.). 50 ve 75 mM tuz uygulanan mısır bitkilerine yapraktan verilen askorbik asit yapraklardaki GPOD aktivitesini sadece 50 ve 75 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında önemli derecede azaltmıştır ($P \leq 0,05$). 100 mM tuz ve askorbik asit uygulanan mısır bitkilerinin yapraklarındaki GPOD aktivitesi ise sadece 100 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda etkilenmemiştir ($P \geq 0,05$).



Şekil 4.11. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki GPOD aktivitesi üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

4.9. Tuz Stresi ve Askorbik Asit Uygulamalarının Askorbik Asit Miktarı Üzerine Etkisi

50, 75 ve 100 mM tuz stresi uygulanan mısır yapraklarındaki indirgenmiş askorbik asit miktarı kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalmıştır ($P \leq 0,05$) (Şekil 4.12.). Yapraktan gerçekleştirilen askorbik asit uygulamaları ise kontrolle karşılaştırıldığında yapraklardaki indirgenmiş askorbik asit miktarını etkilememiştir ($P \geq 0,05$). 50 mM tuz uygulanan mısır bitkilerine yapraktan verilen askorbik asit sadece 50 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında indirgenmiş askorbik asit miktarını önemli oranda azaltmıştır ($P \leq 0,05$). 75 ve 100 mM tuz ve askorbik asit uygulaması yapılan mısır yapraklarındaki indirgenmiş askorbik asit miktarı ise sadece 75 ve 100 mM tuz verilen bitkilere göre önemli oranda artış göstermiştir ($P \leq 0,05$).



Şekil 4.12. Tuz stresi (50, 75 ve 100 mM NaCl) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının mısır bitkisinin yapraklarındaki indirgenmiş askorbik asit miktarı üzerine etkisi. (AÖF, anlamlı önemli fark; T, tuz; değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar $\pm$ standard hata değerlerini göstermektedir.)

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, mısırın (*Zea mays* L.) Ada 9510 genotipinin tuz stresi (50, 75, 100 mM) ve askorbik asit (100 ppm AsA) uygulamalarının etkisi, bazı fizyolojik büyüme parametreleri, oksidatif hasar indikatörleri (MDA ve H₂O₂ miktarı) ve bazı içsel dayanıklılık mekanizmaları (prolin miktarı ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri) yoluyla araştırılmış ve askorbik asit uygulamaları ile tuz toleransı arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır.

Tuzluluk bitkilerin üretim, verim ve kalitesini belirleyen çevresel faktörlerden birisi olmakla birlikte tarım alanlarını tehlikeye sokan faktörlerden biridir. Dünyada tarım yapılan bölgelerin yaklaşık 1/3'ü bu faktörden etkilenmektedir. Artan nüfusa bağlı olarak ekonomik öneme sahip olan ve besin olarak kullanılan bitkilerde tuz toleransının konu alındığı araştırmaların ve çalışmaların yapılması önem taşımaktadır.

Tuzluluk, iyonik toksisite ve ozmotik stres yoluyla bitki büyümesini ve gelişimini büyük oranda baskılamaktadır (Zhu, 2002). Osmotik stres, fotosentezi stoma açıklığında olumsuz etki yaparak azaltmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Bu nedenle, bitkilerde büyüme inhibisyonu, tuzluluk altında sınırlı fotosenteze sebep olmaktadır (Chaves ve ark., 2009).

Son yıllarda bitki yetiştiricileri fizyolog ya da biyokimyacılar yardımıyla değişik teknikler kullanarak tuz toleransı yüksek bitkiler yetiştirmeyi başarmışlardır. Bu çalışmalar bitkinin fenotipik karakterlerine bağlıdır. Fakat bu yöntemin tamamen anlaşılabilmesi için gerekli biyokimyasal mekanizmalar henüz açıklanamamaktadır.

Bilim insanları tuz tolerans çalışmalarının tüm bitki, doku ya da hücresel seviyede yapılmasının uygun ve kullanışlı olduğunu düşünmektedirler. Ayrıca bitki

yetiştiricilerine yararlı tavsiye verebilmek adına hücresel mekanizmalarının açıklanabilmesi gerekmektedir (Ashraf ve Harris, 2004).

Tuz stresinin farklı şekillerde fotosentetik aktiviteyi azalttığı bilinmektedir. Özellikle yaprak alanının küçülmesine, stomaların kapanmasına, transpirasyonun ve CO₂ fiksasyonunun azalmasına neden olarak fotosentetik aktiviteyi etkilemektedir (Ashrafuzzaman ve ark., 2000). Ayrıca protein miktarını azaltarak iyon dzensizliklerine ve fotosentetik pigment azalmasına neden olmaktadır. Agastian ve ark. (2000) yaptığı çalışmada farklı dut genotiplerinin tuz stresi altında karotenoid, klorofil a ve b içeriğinin azaldığını bildirmiştir. Çalışmamızda 50, 75 ve 100 mM tuz stresi ve yaprak yoluyla verilen askorbik asit mısır yapraklarındaki toplam karotenoid miktarının kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmasına yol açmıştır (Şekil 4.4.). 50 mM tuz uygulaması yapılan mısır bitkilerine yapraktan verilen askorbik asit toplam karotenoid miktarını sadece 50 mM tuz uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında etkilememiştir. 75 mM tuz stresi altındaki bitkilerde yaprak yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulaması toplam karotenoid miktarını sadece 75 mM tuz uygulanan bitkilere göre önemli derecede azaltırken, 100 mM tuz ve askorbik asit uygulanan mısır yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı sadece 100 mM tuz uygulaması ile karşılaştırıldığında belirgin derecede artırmıştır.

50, 75 ve 100 mM tuz (NaCl) uygulamaları mısır yapraklarındaki klorofil a miktarını kontrole göre önemli derecede azaltmıştır (Şekil 4.1.). Mısır bitkilerine yapraktan uygulanan 100 ppm'lik askorbik asit de klorofil a miktarını kontrolle karşılaştırıldığında belirgin derecede azaltmıştır. Çalışmamızda klorofil a miktarı, askorbik asit uygulanan tuz konsantrasyonları sadece tuz konsantrasyonlarıyla kıyaslandığında 50 ve 75 mM bitki gruplarında artış gözlemlenmiştir. 100 mM tuz grubu ise etkilenmemiştir.

Çalışmamızda kullanılan tüm tuz konsantrasyonları (50, 75 ve 100 mM) mısır yapraklarındaki klorofil b miktarını kontrole göre belirgin oranda azaltmıştır (Şekil 4.2.). Mısır bitkilerine yapraktan uygulanan askorbik asit de klorofil b miktarını kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda azaltmıştır. Klorofil b miktarı askorbik asit uygulanan tuz konsantrasyonları ise sadece tuz konsantrasyonlarıyla

kıyaslandığında 50 ve 75 mM bitki gruplarında artış gözlemlenmiştir. 100 mM tuz grubunda ise azalma belirlenmiştir.

50, 75 ve 100 mM tuz stresi altındaki ve yaprakdan askorbik asit uygulanan mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarı kontrolle karşılaştırıldığında önemli derecede azalmıştır (Şekil 4.3.). Toplam klorofil miktarı yaptığımız askorbik asit uygulamalarında sadece 50 mM ve 75 mM tuz uygulanan gruplara göre kıyaslandığında artış göstermektedir. Çalışmamız askorik asit uygulamalarının pigment mekanizmaları üzerine olumlu etki yaptığını göstermektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlar tuz stresi altındaki mısır bitkilerinde askorbik asit uygulamasının karotenoid miktarını ve antioksidant kapasiteyi arttırdığını göstermektedir. Çalışmamız ayrıca askorik asit uygulamalarının pigment mekanizmaları üzerine olumlu etki yaptığını göstermektedir.

Hücrel membran bitkilerde stres faktöründen etkilenen ilk hedef bölgedir. Tüm stres faktörlerinde bitkilerde MDA (malondialdehit) miktarı hücrel membran hasarını belirlemede kullanılan son üründür. Stres faktörleri altında tuza toleransı az olan bitkilerde MDA miktarı yüksek tuza toleransı yüksek olan bitkilerde MDA miktarı düşük oranda gözlemlenmektedir (Güneş ve ark., 2007). Kısacası hücredeki MDA miktarındaki değişimler tuz stresine tolerans ve duyarlılık derecesinin belirtilmesinde önemli bir kriterdir (Jain ve ark., 2001). Zhu ve ark. (2008) yapmış oldukları çalışmada tuz stresine duyarlı olan hıyar bitkisinin yapraklarında MDA miktarının artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda tuz stresinin tüm konsantrasyonlarında mısır yapraklarında MDA miktarının kontrolle karşılaştırıldığında arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.5.). Bu sonuç sadece tuz uygulanan grupta lipid peroksidasyonunun olduğunu göstermektedir. Tuz stresindeki mısır bitkilerine eş zamanlı askorbik asit uygulamasında 75 ve 100 mM konsantrasyonlarda yapraklardaki MDA miktarı önemli oranda azalma göstermiştir.

Çalışmamızda ayrıca tuz stresi altındaki mısır bitki dokularındaki H_2O_2 miktarının kontrole göre arttığı, yapraklardan askorbik asit uygulanan grupta ise önemli derecede azaldığı gözlemlenmiştir. SOD, superoksit radikalının bir dismutasyon reaksiyonu ile

H₂O₂'ye indirgenmesiyle ilgili reaksiyonu katalizlemektedir. SOD, aktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı bitkilerde savunma hattında ilk sırada yer aldığı bilinmektedir. Bu nedenle SOD'un bitki stres toleransında önemli bir yeri vardır. APOD ise SOD'un katalizlediği bu reaksiyonun sonucunda oluşan H₂O₂'in H₂O ve O₂'ye kadar parçalanmasından sorumlu olan askorbat-glutasyon döngüsünün ilk enzimidir. Çalışmamızda tuz stresi altındaki 50 mM uygulanan konsantrasyonda H₂O₂ miktarının kontrole göre değişmediği gözlemlenirken, aynı konsantrasyonda SOD ve APOD miktarlarında azalma gözlemlenmiştir. Tuz stresi (75 ve 100 mM) altındaki mısır bitkisine uygulanan askorbik asit yapraklardaki SOD ve APOD aktivitesini önemli oranda artırmıştır. Bu sonuç H₂O₂ miktarının azalmasını destekler niteliktedir. Yapılan çalışmalarda farklı birçok bitki türünde SOD ve APOD aktivitelerinin arttığı da gözlemlenmiştir. Ayrıca bu artışların tuza toleranslı genotiplerde daha belirgin olduğu bildirilmiştir (Allen, 1995; Gueta-Dahan ve ark., 1997; Diego ve ark., 2003).

Askorbat-glutasyon döngüsünün son enzimi glutasyon redüktazdır (GR). GR, NADPH molekülünün yardımıyla okside glutasyonu (GSSG), indirgenmiş glutatona (GSH) dönüştürmektedir (Asada, 1999). GSH yapısındaki elektronlar APOD enziminin H₂O₂'i parçalamasında kullanılmaktadır. Kısaca H₂O₂'i detoksifiye etmede GR, APOD ile birlikte görev alır. Çalışmamızda tuz stresi altındaki ve yapraktan uygulanan askorbik asit gruplarındaki mısır bitkilerinin yapraklarında kontrole göre GR aktivitesinde azalma gözlemlenlenmiştir. Fakat sadece tuz konsantrasyonuna göre yapraktan askorbik asit uygulamalarında artış görülmektedir. Bu sonuçlar SOD, APOD ve GR enzimlerinin aktivitelerinde meydana gelen artışların askorbik asitin tuz toleransını sağlamasında önemli olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda askorbik asit uygulanan bitki grupları sadece tuz konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında tüm gruplarda artış gözlemlenmiştir. Sonuçta bu artışa bağlı olarak APOD aktivitesinin bir parçası olan askorbik asitin ortamda yeterli miktarda sağlanmasına neden olmuştur. Bu da artan APOD aktivitesini desteklemektedir. Buna göre tuz stresi altındaki mısır bitkisinin yaprak dokularında çeşitli aktif oksijen türlerinin oluştuğu söylenebilirken, ayrıca askorbik asit detoksifikasyondaki dengeyi başarılı bir şekilde sağladığı da belirtilmektedir.

H₂O₂'in parçalanmasından sorumlu bir diğer enzim olan guaiakol peroksidaz (GPOD), bitkilerde büyüme-gelişme ve hücre çeperindeki lignin biyosentezi konusunda etkilidir (Riquelme ve Cardemil, 1993; Bruce ve West, 1989). Yapılan bir çalışmada tuz stresi altında bulunan iki buğday genotipinde GPOD aktivitesinin kontrole göre azaldığı gözlemlenmiştir (Bildiren, 2019). Çalışmamızda tuz stresi altındaki tüm grupların ve yapraktan askorbik asit uygulanan 50 ve 75 mM tuz gruplarındaki mısır bitkilerinde GPOD aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı ve sadece askorbik asit uygulanan 100 mM tuz konsantrasyonunun, 100 mM tuz konsantrasyon grubuna göre etkilenmediği gözlemlenmiştir. GPOD aktivitesindeki azalma stres şiddetinin GPOD'un antioksidan kapasitesini aşmasından kaynaklanmış olduğu düşünülmektedir.

Tuz stresi altındaki bitkilerde serbest prolin miktarındaki değişimlerin meydana geldiği bilinmektedir. Bitkiler dokularındaki prolin miktarını olumsuz stres koşullarına adapte olabilmek için artırmaktadır (Hare ve Cress, 1997). Prolin stres koşullarında yüksek miktarlarda üretilen hücre içi osmotik düzenleme (Delauney ve Verma, 1993), sitozolik pH'nın düzenlenmesi (Venekamp, 1989), enzimlerin korunması ve makro moleküller ile organellerin stabilizasyonunun sağlanması gibi olaylarda görev almaktadır. Bazı bilim insanları bitki dokularındaki serbest prolin birikimiyle tuz toleransı arasında bir ilişki olabileceğini bildirmişlerdir (Mansour, 2000). Örneğin *Brassica juncea*'nın tuza toleranslı olan genotiplerinin yapraklarında, tuza duyarlı olanlara göre daha fazla serbest prolin birikiminin meydana geldiği belirlenmiştir (Kumar, 1984). Diğer bir çalışmada ise tuz stresi uygulanan duyarlı *Brassica napus* genotiplerindeki serbest prolin birikiminin toleranslı olan genotiplere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Borodina, 1991). Bu veriler tuz stresi altındaki bitkilerde serbest prolin miktarında gözlenen değişimlerin türe özgü olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda askorbik asit uygulaması yapılan bitki grubunda 50 ve 75 mM tuz gruplarında azalma görülmektedir. 100 mM'lık bitki grubunda prolin miktarında değişim gözlenmemiştir. Sonuçlarımıza göre prolin miktarındaki bu azalmaya sebebin sentezin az olmasından mı yoksa prolinin çok kullanımından mı olduğu belirlenememiştir.

Tuz stresi altındaki bitkilerde askorbik asit miktarının değişimleri yapılan bazı çalışmalar ile bilinmektedir. Tuz stresi altındaki bitkilerde askorbik asit uygulaması sonucunda fotosentezi ve tohum verimini arttırdığı, antioksidant enzim aktivitesini hafiflettiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada tuz stresi altındaki kanola bitkisinde klorofil a ve klorofil b miktarlarının arttığı ve bitki büyüme gelişmesine olumlu etkisi olduğu ileri sürülmektedir (Bybordi, 2012). Yapılan bir diğer çalışmada ise askorbik asitin *Allium cepa* bitkisinde büyüme gelişmeyi arttırıcı yönde etkilediği gözlemlenmiştir (Innocenti ve ark., 1990). Çalışmamızda uygulanan tüm tuz konsantrasyon gruplarında mısır yapraklarındaki indirgenmiş askorbik asit miktarı kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalmıştır (Şekil 4.12.). Askorbik asit uygulanan bitki grupları sadece tuz konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında 50 mM grupta azalma, 75 ve 100 mM grupta ise artış gözlemlenmektedir. Bu sonuçlarımız aynı konsantrasyonda azalan APOD aktivitesiyle paralellik göstermektedir. Yüksek konsantrasyonlarda oluşan oksidatif strese tam anlamıyla cevap oluşturduğu düşünülmektedir.

Sonuçlarımıza göre tuz stresi altındaki mısır bitkisine foliar askorbik asit uygulamalarının süperoksit radikali birikimini azaltarak askorbat-glutasyon enzimlerini indüklediğini ispat etmektedir. Foliar askorbik asit uygulamasının antioksidant kapasite ve fotosentetik pigment miktarının artması, H_2O_2 miktarını ve membran hasarını azaltmıştır. Bu nedenle askorbik asitin tuz stresinin mısır yapraklarında neden olduğu olumsuz etkileri iyileştirdiği söylenebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbe, E. C., Randolph, L. F. & Einset, J., 1941. The Developmental Relationship between Shoot Apex and Growth Pattern of Leaf Blade in Diploid Maize. *American Journal of Botany*, 28(9), pp. 778-784.
- Abouzari, A. & Kakheri, B. A., 2015. Reactive Oxygen Species: Generation, Oxidative Damage And Signal Transduction. *Int. J. Life Sci.*, pp. 3-17.
- Ábrahám, E. et al., 2003. Light-dependent Induction of Proline Biosynthesis by Abscissic Acid and Salt Stress is Inhibited by Brassinosteroid in Arabidopsis. *Plant Molecular Biology*, pp. 363-372.
- Agastian, P., Kingsley, S. J. & Vivekanandan, M., 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, Cilt 38, p. 287–290.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. & Tattini, M., 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Sci.*, pp. 67-76.
- Agius, F. et al., 2003. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. *Nat. Biotechnol.*, pp. 177-181.
- Algül, B. E., Tekintaş, F. E. & Dalkılıç, G. G., 2016. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Kullanımı ve İçsel Hormonların Biyosentezini Arttırıcı Uygulamalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(2), pp. 87-95.
- Alhagdow, M. et al., 2007. Silencing of the mitochondrial ascorbate synthesizing enzyme l-galactono-1,4-lactone dehydrogenase affects plant and fruit development in tomato. *Plant Physiol.*, pp. 1408-1422.
- Allen, R., 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiol.*, Cilt 107, pp. 1049-1054..
- Amor, N. et al., 2006. Response of anti-oxidant systems to NaCl stress in the halophyte *Cakile maritima*. *J. Plant Physiol.*, pp. 446-457.
- Anjum, N. A., Umar, S. & Chan, M.-T., 2010. Ascorbate–Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants.:Springer.
- Aono, M., Saji, H., Fujiyama, S. & Sugita, M., 1995. Decrease in Activity of Glutathione Reductase Enhances Paraquat Sensitivity in Transgenic *Nicotiana tabacum*. *Plant Physiology*, pp. 645-648.

- Apel, K. & Hirt, H., 2004. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Plant Biology, Annu. Rev.*, pp. 373-399.
- Apse, M. P. & Blumwald, E., 2007. Na⁺ Transport in Plants. *FEBS Letters.*, pp. 2247-2254.
- Arrigoni, O. & Tullio, M. C. D., 2002. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochim. Biophys. Acta.*, pp. 1-9.
- Arrigoni, O., 1994. Ascorbate system in plant development. *J. Bioenerg. Biomembr.*, pp. 407-419.
- Asada, K., 1997. The role of ascorbate peroxidase and mono-dehydro ascorbate reductase in H₂O₂ scavenging in plants. In: Scandalios, J.G. (Ed.). *Oxidative Stress and Molecular Biology of Antioxidant Defences*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 527-568.
- Asada, K., 1999. The Water–Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, pp. 39-601.
- Ashraf, M. & Harris, P., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science, Cilt 166*, pp. 3-16.
- Ashraf, M., 2004. Some Important Physiological Selection Criteria for Salt Tolerance in Plants. *Flora.*, pp. 361-376.
- Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.*, pp. 84-93.
- Ashrafuzzaman, M., Khan, M., Shohidullah, S. & Rahman, M., 2000. Effect of Salinity on the Chlorophyll Content, Yield and Yield Components of QPM CV. Nutricia. *Pakistan Journal of Biological Sciences, Cilt 3*, pp. 43-46.
- Barakat, H., 2003. Interactive effects of salinity and certain vitamins on gene expression and cell division. *Int. J. Agric. Biol.*, pp. 219-225.
- Barnes, J. et al., 2002. "Plant resistance to ozone: the role of ascorbate" in air pollution and plant biotechnology. *Prospects for Phytomonitoring and Phytoremediation*. Tokyo: Springer-Verlag, pp. 235-252.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207.
- Bertorello, A. M. & Zhu, J.-K., 2009. SIK1/SOS2 Networks: Decoding Sodium Signals Via Calcium-Responsive Protein Kinase Pathways. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology.*, pp. 613-619.
- Bigeard, J., Colcombet, J. & Hirt, H., 2015. Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol. Plant.*, pp. 521-539.

- Bildiren, Ş., 2019. Tuz stresi altındaki farklı buğday genotiplerinde bor uygulamalarının iyileştirici etkisinin araştırılması. Sakarya: Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü.
- Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K. V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.*, pp. 179-194.
- Blumwald, E. & Poole, R. J., 1985. Na/H antiport in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, pp. 163-167.
- Bohnert, H. J., Nelson, D. E. & Jensen, R. G., 1995. Adaptations to Environmental Stresses. *The Plant Cell.*, pp. 1099-1111.
- Borodina, R. A., 1991. Accumulation of free proline in seedlings of swede rape under salt stress. *Sel'skokhozyaist. Bio, Cilt 1*, pp. 119-124.
- Botella, M. A., Rosado, A., Bressan, R. A. & Hasegawa, P. M., 2005. Plant Adaptive Responses to Salinity Stress. *Plant Abiotic Stress*.:Blackwell Publishing Ltd., p. 270.
- Breckle, S.-W., 2002. Salinity, Halophytes and Salt Affected Natural Ecosystems. *Salinity: EnviromentPlants-Molecules*. The Netherlands, Dordrecht, p. 552.
- Breusegem, F., Vranova, E., Dat, J. & Inz, D., 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science.*, pp. 405-414.
- Brown, J. E., Khodr, H., Hider, R. C. & Rice-Evans, C. A., 1998. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem. J.*, p. 1173.
- Bruce, R. J. & West, C. A., 1989. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension culture of castor bean. *Plant Physiol.*, Cilt 91, pp. 889-897.
- Bybordi, A., 2012. Effect of Ascorbic Acid and Silicium on Photosynthesis Antioxidant Enzyme Activity, and Fatty Acid Contents in Canola Exposure to Salt Stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(10), pp. 1610-1620.
- C. L. M. Sgherri, B. Loggini, S. Puliga, F. Navari-Izzo, Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*: changes in response to desiccation and rehydration, *Phytochemistry*, 35(3), 561-565, 1994.
- C. Sanchez-Romero, M. L. Garcia-Gomes, F. Pliego-Alfaro, A. Heredis, Peroxidase activities and isoenzyme profiles associated with development of avocado (*Persea americana* M.) leaves at different ontogenetic stages, *Journal of Plant Growth Regulation*, 12, 95-100, 1993.
- Campbell, N. A. & Reece, J. B., 2010. Bitki Yapısı ve Büyüme. Biyoloji. Benjamin Cummings - Pearson Education, pp. 720-743.

- Chaves, M., Flexas, J. & Pinheiro, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.*, Cilt 103, pp. 551-560.
- Chen, Z. et al., 2007. Compatible Solute Accumulation and Stress-mitigating Effects in Barley Genotypes Contrasting in Their Salt Tolerance. *Journal of Experimental Botany.*, pp. 4245-4255.
- Clo, E., 2007. Control And Selectivity Of Photosensitized Singlet Oxygen Production: Challenges In Complex Biological Systems. *ChemBioChem.*, pp. 475-481.
- Cram, W.-J., Torr, P. T. & Rose, D. A., 2002. Salt Allocation During Leaf Development and Leaf Fall in Mangroves, Trees., pp. 112-119.
- Creissen, G. et al., 1996. Manipulation of Glutathione Metabolism in Transgenic Plants. *Biochemical Society Transactions.*, pp. 465-472.
- Çetin, V., 2002. Meyve ve Sebzelerde Kullanılan Bitki Gelişmeyi Düzenleyiciler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknoloji Dergisi*, Issue 2, pp. 40-50.
- Çulha, Ş. & Çakırlar, H., 2011. Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, pp. 11-34.
- Dajic, Z., 2006. Salt Stress, Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. The Netherlands, Dordrecht
- Das, K. & Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, Cilt 2, p. 53.
- Davey, M. W., Montagu, M. V. & al., e., 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric.*, p. 825.
- Degl'Innocenti, E., Hafsi, C., Guidi, L. & Navari-Izzo, F., 2009. The Effect of Salinity on Photosynthetic Activity in Potassium-deficient Barley Species. *Journal of Plant Physiology.*, pp. 1968-1981.
- Delauney, A. J. & Verma, D. P. S., 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, Cilt 4, pp. 215-223.
- Diego, A. M., Marco, A. O., Carlos, A. M. & José, C., 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Env. Exp. Bot.*, Cilt 49, pp. 69-76.
- Djilianov, D. et al., 2005. Improved Abiotic Stress Tolerance in Plants by Accumulation of Osmoprotectants—gene Transfer Approach. *Biotechnology and Biotechnological Equipment.*, pp. 63-71.

- Doğru, A., 2006. Kolza (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*)'nın bazı kışlık çeşitlerinde düşük sıcaklık toleransı ile ilgili fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü Doktora Tezi..
- Eckhoff, S., Paulsen, M. & Yang, S., 2003. Maize. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*.:Academic Press, pp. 3647-3653.
- Edwards, E. A., Rawsthorne, S. & Mullineaux, P. M., 1990. Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Planta*., pp. 278-284.
- Ekmekçi, E., Apan, M. & Kara, T., Samsun. Tuzluluğun Bitki Gelişimine Etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(3), pp. 118-125.
- Erlejman, A. G., Verstraeten, S. V., Fraga, C. G. & Oteiza, P. I., 2004. The interaction of flavonoids with membranes: potential determinant of flavonoid antioxidant effects. *Free. Radic. Res.*, pp. 1311-1320.
- Ferroni, L. et al., 2007. High Salinity Alters Chloroplast Morpho-physiology in a Fresh Water *Kirchneriella* species (Selenastraceae) from Ethiopian Lake Awasa. *American Journal of Botany*., pp. 1972-1983.
- Fini, A. et al., 2011. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signal. Behav.*, pp. 709-711.
- Foyer, C. & Mullineaux, P., 1994. Oxygen metabolism and the regulation of photosynthetic electron transport. *Causes of Photooxidative Stresses and Amelioration of Defense Systems in Plants*.:FL. CRC Press, pp. 1-42.
- Foyer, C. & Noctor, G., 2005. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environment*., pp. 1056-1071.
- Foyer, C. H. & Noctor, G., 2003. Redox Sensing And Signalling Associated With Reactive Oxygen In Chloroplasts, Peroxisomes And Mitochondria. *Physiology in Plants*., pp. 355-364.
- Foyer, C. H. & Noctor, G., 2005b. Redox homeostis and antioxidant signaling:a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant. Cell*., pp. 1886-1875.
- Fridovich, I., 1995. Superoxide Radical and Superoxide Dismutases. *Annual Review Biochemistry*., pp. 97-112.
- Genişel, M., 2010. Kemik tozu solüsyonu, CaCl₂ ve IAA uygulamalarının tuz stresi altındaki fasulye (*Phaseolus vulgaris*) bitkisinin fizyolojik parametreleri üzerine etkileri.. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Gill, S. S. & Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant. Physiol. Biochem.*, pp. 909-930.

- Gong, D., Guo, Y., Schumaker, K. S. & Zhu, J.-K., 2004. The SOS3 Family of Calcium Sensors and SOS2 Family of Protein Kinases in Arabidopsis. *Plant Physiology*, pp. 919-926.
- Gossett, D., Banks, S., Millhollon, E. & Lucas, M., 1996. Antioxidant response to NaCl stress in a control and a NaCl-tolerant cotton cell line grown in the presence of paraquat, buthionine sulfoximine and exogenous glutathione. *Plant Physiol.*, pp. 803-809.
- Gratão, P. L. et al., 2015. Cadmium Stress Antioxidant Responses And Root-To-Shoot Communication In Grafted Tomato Plants. *Biometals.*, pp. 803-816.
- Grunewald, W. et al., 2009. Manipulation of Auxin Transport in Plant Roots during Rhizobium Symbiosis and Nematode Parasitism. *The Plant Cell*, Issue 21, p. 2553–2562.
- Gueta-Dahan, Y., Yaniv, Z., Zilinskas, B. A. & Ben-Hayyim, G., 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta.*, Cilt 203, pp. 460-469.
- Gupta, D. K., Palma, J. M. & Corpas, F. J., 2015. *Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress*. USA: Springer.
- Gupta, D. K., Palma, J. M. & Corpas, F. J., 2018. *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. USA: Springer.
- Güler, N. S., 2008. Ctenanthe Setosa’da Yaprak Kıvrılması Sırasında Apoplastik Ve Simplastik Alanlarda Antioksidan Sistemde Meydana Gelen Değişmeler. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- Güneş, A., İnal, A., Bağcı, E. G. & Pilbeam, D., 2007. Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant and Soil*, 290(1), pp. 103-114.
- H. Ohkawa, N. Ohishi, Y. Yagi, Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358, 1979.
- Haber, F. & Weiss, J., 1934. The Catalytic Decomposition Of Hydrogen Peroxide By İon Salts. *Proceedings of Royal Society of London.*, pp. 51-332.
- Hagar, H., Ueda, N. & Shah, S. V., 1997. Tyrosine Phosphorylation İn DNA Damage And Cell Death İn Hypoxic Injury To LLC-PK1 cells. *Kidney International*, pp. 1747-1753.
- Hale, M. & Orcutt, D., 1987. *The Physiology of Plant under Stress*. New York: John Wiley&Sons.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press..

- Hancock, R. D. et al., 2007. L-Ascorbic acid accumulation in fruit of *Ribes nigrum* occurs by in situ biosynthesis via the l-galactose pathway. *Funct. Plant. Biol.*, pp. 1080-1091.
- Harbinson, J. & Hedley, C., 1993. Changes In P-700 Oxidation During The Early Stages Of The Induction of Photosynthesis. *Plant Physiology.*, pp. 60-649.
- Hare, P. D. & Cress, W. A., 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* , 21(2), pp. 79-102.
- Hare, P. D., Cress, W. A. & Staden, J. V., 1998. Dissecting the Roles of Osmolyte Accumulation During Stress. *Plant Cell and Environment.*, pp. 535-553.
- Hassan, W., 2017. Oxidative Stress And Antioxidant Potential Of One Hundred Medicinal Plants. *Current Topics in Medicinal Chemistry.*, pp. 1336-1370.
- Hassanein, R., Bassony, F., Barakat, D. & Khalil, R., 2009. Physiological effects of nicotinamide and ascorbic acid on *Zea mays* plant grown under salinity stress: Changes in growth, some relevant metabolic activities and oxidative defense systems. *Res. J. Agr. Biol. Sci.*, pp. 72-81.
- He, L. et al., 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis By Elimination Of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry.*, pp. 532-553.
- Hernández, I., Alegre, L., Breusegem, F. V. & Munné-Bosch, S., 2009. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants. *Trends Plant. Sci.*, pp. 125-132.
- Hettenhausen, C., Schuman, M. C. & Wu, J., 2015. MAPK signaling: a key element in plant defense response to insects. *Insect Sci.*, pp. 157-164.
- Hussein, T. M. et al., 2008. Recent Advances in Salt Stress Biology a Review. *Biotechnology and Molecular Biology Review.*, pp. 8-13.
- Igamberdiev, A. U., Seregelyes, C., Manac, N. & Hill, R. D., 2004. NADH-dependent metabolism of nitric oxide in alfalfa root cultures expressing barley hemoglobin. *Planta.*, pp. 95-102.
- Innocenti, A. M., Bitonti, M. B., Arrigoni, O. & Liso, R., 1990. The Size of Quiescent Centre in Roots of *Allium cepa* L. Grown with Ascorbic Acid. *The New Phytologist*, Cilt 114, pp. 507-509.
- Isherwood, F., Chen, Y. & Mapson, L., 1954. Synthesis of L-ascorbic acid in plants and animals. *Biochem. J.*, pp. 1-15.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. & Sarin, N., 2001. Ameliorative effects of proline on salt stress- induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell. eports.*, Cilt 20, pp. 463-468.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. & Sarin, N., 2001. Ameliorative Effects of Proline on Salt Stress-induced Lipid Peroxidation in Cell Lines of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell Repots.*, pp. 463-468.

- Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsyeld, J. & Cuypers, A., 2012. Glutathione Is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *Int. J. Mol. Sci.*, pp. 3145-3175.
- Justr, K. C., Visentainer, J. V., Souza, N. E. d. & Matsushita, M., 2000. Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. *Arch. Latinom. Nutr.*, pp. 405-408.
- Kadıoğlu, A., 2011. Bitki Fizyolojisi.
- Kanber, R., Kırdar, C. & Tekinel, O., 1992. Sulama Suyu Niteliği ve Sulamada Tuzluluk Sorunları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın . Adana: Ders Kitapları Yayın, p. No:21.
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hedge, M. V. & Bae, H., 2015. Significance Of Antioxidant Potential Of Plants And Its Relevance To Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences.*, pp. 982-991.
- Katsuhara, M. & Kawasaki, T., 1996. Salt Stress Induced Nuclear and DNA Degradation in Meristematic Cells of Barley Roots. *Plant Cell Physiology.*, pp. 169-173.
- Kaur, R. & Nayyar, H., 2014. Ascorbic Acid: A Potent Defender Against Environmental Stresses. *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling.*, pp. 235-287.
- Kılınç, K. & Kılınç, A., 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi, Cilt 33*, pp. 110-118.
- Komis, G., Illes, P., Beck, M. & Samaj, J., 2011. Microtubules and mitogen-activated protein kinase signalling. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, pp. 650-657.
- Koyro, H.-W., 2002. Ultrastructural Effects of Salinity in Higher Plants. *Salinity: Environment-Plants-Molecules*. Dordrecht, The Netherlands: Published by Kluwer Academic Publishers, p. 522.
- Kumar, D., 1984. The value of certain plant parameters as an index for salt tolerance in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Plant Soil., Cilt 79*, pp. 261-272.
- Kumlay, A. M. & Eryiğit, T., 2011. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1(2)*, pp. 47-56.
- Laitonjam, W. S., 2012. Natural Antioxidants (NAO) of Plants Acting as Scavengers of Free Radicals. *Studies in Natural Products Chemistry*. Manipur, India: Department of Chemistry. Manipur University, pp. 260-274.
- Lambers, H., III, F. S. C. & Pons, T. L., 2008. Growth and Allocation. *Plant Physiological Ecology*. Springer Science+Business Media, LLC, p. 321.
- Larcher, W., 1995. Environmental Influences on Growth and Development. *Physiological Plant Physiol*, pp. 277-319.

- Lee, B. et al., 2007. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *J. Exp. Bot.*, pp. 1271-1279.
- Leung, J. et al., 1994. Arabidopsis ABA-response gene ABI1: features of a calcium-modulated protein phosphatase. *Sci.*, pp. 1448-1452.
- Liu, Y., 2012. Roles of mitogen-activated protein kinase cascades in ABA signaling. *Plant Cell Rep.*, pp. 1-12.
- Loewus, F. A. & Loewus, M. W., 1987. Biosynthesis and metabolism of ascorbic-acid in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, p. 101.
- Loewus, F., Jang, R. & Seegmiller, C., 1956. The conversion of ¹⁴C-labeled sugars to L-ascorbic acid in ripening strawberries. *J. Biol. Chem.*, pp. 649-664.
- Lüttge, U., 2002. Mangroves, Salinity: EnvironmentPlants-Molecules. The Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Mahajan, S. & Tuteja, N., 2005. Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics.*, pp. 139-158.
- Mahmoud, M. A. A., Chedea, V. S., Detsi, A. & Kefalas, P., 2013. Ascorbic acid modifies the free radical scavenging behaviour of catechin: An insight into the mechanism. *Food. Res. Int.*, pp. 907-913.
- Mansour, M. M. F., 2000. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biol. Plant, Cilt 43*, p. 491–500.
- Mazid, M. et al., 2011. Occurrence, biosynthesis and potentialities of ascorbic acid in plants. *Int. J. Plant, Animal and Environmental Sciences*, pp. 167-184.
- Mittler, R., 2002. Oxidative Stress Antioxidants And Stress Tolerance. *Trends in Plants Science*, pp. 405-410.
- Mittler, R., S. Vanderauwera, M. G. & Breusegem, F. V., 2004. Reactive Oxygen Gene Network Of Plants. *Trends in Plants Science*, pp. 490-498.
- Mittova, V. et al., 2003. Coordinate induction of glutathione biosynthesis and glutathione-metabolizing enzymes is correlated with salt tolerance in tomato. *FEBS (Fed. Eur. Biochem. Soc.) Lett.*, pp. 417-421.
- Moghaieb, R. E. A., Saneoka, H. & Fujita, K., 2004. Effect of Salinity on Osmotic Adjustment, Glycinebetaine Accumulation and the Betain Aldehyde Dehydrogenase Gene Expression in Two Halophytic Plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*. *Plant Science.*, pp. 1345-1349.
- Mullineaux, P. M. & Rausch, T., 2005. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. *Photosyn. Res.*, pp. 459-474.
- Munné-Bosch, S. & Alegre, L., 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Crit. Rev. Plant. Sci.*, pp. 31-57.

- Munns, R. & Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, pp. 651-681.
- Nisar, N. et al., 2015. Carotenoid metabolism in plants. *Molecular Physics*, pp. 68-82.
- Parida, A. K. & Das, A. B., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, pp. 324-349.
- Parvaiz, A. & Satyawati, S., 2008. Salt Stress and Phytobiochemical Responses of Plant - a Review. *Plant Soil Enviroment*, pp. 89-99.
- Perry, J. J. P., Shin, D. S., Getzoff, E. D. & Tainer, J. A., 2010. The Structural Biochemistry Of The Superoxide Dismutases. *Biochim. Biophys. Acta-Prot. Proteom.*, pp. 245-262.
- Pourcel, L. et al., 2007. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant. Sci.*, pp. 29-36.
- Qiu, Q. S. & al., e., 2002. Regulation of SOS1, a plasma membrane Na⁺/H⁺ exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, pp. 8436-8441.
- Rahal, A., 2014. Oxidative Stress, Prooxidants, And Antioxidants: The Interplay. *BioMed Research International*, p. 761264.
- Reichstein, T., Grussner, A. & Oppenauer, R., 1933. Synthesis of D- and L-ascorbic acids (vitamin C). *Helv. Chim. Acta*, pp. 1019-1033.
- Riquelme, A. & Cardemil, L., 1993. Peroxidases in the cell walls of seed and seedlings of *Araucaria araucana*. *Phytoche, Cilt 32*, pp. 15-20.
- Rodriguez, M. C., Petersen, M. & Mundy, J., 2010. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, pp. 621-649.
- S. Y. Wang, H. Jiao, M. Faust, Changes in ascorbate, glutathione and related enzyme activity during thidiazuron-induced bud break of apple, *Plant Physiology*, 82, 231-236, 1991.
- Sakamoto, A. & Murata, N., 2002. The Role of Glycine Betaine in the Protection of Plants from Stress: Clues from Transgenic Plants. *Plant Cell and Environment*, pp. 163-171.
- Salisbury, F. & Ross, C., 1992. *Plant Physiology*. California: Wadworth Publishing Company.
- Sanahuja, G. et al., 2013. Ascorbic acid synthesis and metabolism in maize are subject to complex and genotype-dependent feedback regulation during endosperm development. *Biotechnol. J.*, pp. 1221-1230.
- Scandalios, J. G., 1997. *Molecular Genetics Of Superoxide Dismutases In Plants. Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 527-568.

- Schreck, R., Rieber, P. & Baeuerle, P. A., 1991. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- κ B transcription factor and HIV-1. *EMBO J.*, pp. 2247-2258.
- Sebanek, J., 1992. *Plant Physiol.* Prague: Elsevier Science Publishers.
- Shalata, A. et al., 2001. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidant system. *Plant Physiol.*, pp. 487-494.
- Shao, H., Chu, L., Zhao, H. & Kang, C., 2008. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signalling pathways in higher plant cells. *Int. J. Biochem. Sci.*, pp. 8-14.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. & Pesarakli, M., 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, And Antioxidative Defense Mechanism In Plants Under Stressful Conditions. *J. Bot.* Article ID, p. 26.
- Shgieoka, S. et al., 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.*, pp. 1305-1359.
- Shi, H., Ishitani, M., Kim, C. & Zhu, J.-K., 2000. The *Arabidopsis thaliana* Salt Tolerance Gene *SOS1* Encodes a Putative Na⁺ /H⁺ Antiporter. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America.*, pp. 6896-6901.
- Sivakumar, P., Sharmila, P. & Saradhi, P. P., 2000. Proline Alleviates Salt-stress-induced Enhancement in Ribulose-1,5-bisphosphate Oxygenase Activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications.*, pp. 512-515.
- Smirnoff, N. & Pallanca, J. E., 1996. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.*, pp. 472-478.
- Smirnoff, N., 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, pp. 229-235.
- Smirnoff, N., Conklin, P. & Loewus, F., 2001. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, pp. 437-467.
- Song, X. et al., 2005. Response of ascorbate peroxidase isoenzymes and ascorbate regeneration system to abiotic stresses in *Cucumis sativus* L.. *Plant Physiol. Biochem.*, pp. 1082-1088.
- Sun, W. Q., Li, X.-P. & Ong, B.-L., 1999. Preferential Accumulation of D-pinitol in *Acrostichum aureum* Gametophytes in Response to Salt Stress. *Physiologia Plantarum.*, pp. 51-57.
- Taiz, L. & Zeiger, E., 2002. *Stress Physiology. Plant Physiology.* Sinauer Associates, pp. 591-615.
- Tandoğan, B. & Ulusu, N. N., 2007. The inhibition kinetics of yeast glutathione reductase by some metal ions. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, pp. 489-495.

- Tedone, L. et al., 2004. Long-distance transport of l-ascorbic acid in potato. *BMC Plant Biol.*, p. 16.
- Tengerdy, R., 1990. Vitamin E, immune response, and disease resistance. *Annals of the New York Academy of Science.*, pp. 24-33.
- Tester, M. & Davenport, R., 2003. Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants. *Annals of Botany.*, pp. 503-527.
- Uhlen, U. & Eklund, H., 1994. Structure of ribonucleotide reductase protein R1. *Nat.*, pp. 370-533.
- Vapuesta, V. & Botella, M., 2004. Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: new pathways for an old antioxidant. *Trends Plant Sci.*, pp. 573-577.
- Vardar, Y., 1985. Bitki Fizyolojisi Giriş. İzmir: Bilgehan Basımevi, pp. 157-165.
- Venekamp, J. H., 1989. Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. *Physiologia Plantarum, Cilt 76*, pp. 112-117.
- Vijayan, K., 2009. Approaches for Enhancing Salt Tolerance in Mulberry (*Morus L.*) - A Review. *Plant Omics Journal.*, pp. 41-59.
- Vranova, E. et al., 2002. Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotiana tabacum* leaves acclimated to oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, pp. 870-875.
- W. F. Beyer, I. Fridovich, Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions, *Analytical Biochemistry*, 161, 559-566, 1987.
- Weydert, C. J. & Cullen, J. J., 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat. Prot.*, p. 51.
- Wheeler, G., Jones, M. & Smirnoff, N., 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nat.*, pp. 365-369.
- Wolucka, B. & Montagu, M. V., 2003. GDP-mannose 3,5-epimerase forms GDP-L-gulose, a putative intermediate for the novo biosynthesis of vitamin C in plants. *J. Biol. Chem.*, pp. 47483-47490.
- Xu, J. & Zhang, S., 2015. Mitogen-activated protein kinase cascades in signaling plant growth and development. *Trends Plant Sci.*, pp. 56-64.
- Yılmaz, M. S., 2014. Laboratuvar Koşullarında Farklı Toprak Tekstürlerinde, Değişik Tuzluluklarda Oluşturulan Taban Suyundan Kapillar Tuz Taşınımı. Konya: Selçuk Üniversitesi. Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Yokoi, S., Bressan, R. & Hasegawa, P., 2002. Salt Stress Tolerance of Plants, s.l.: JIRCAS Working Report.
- Yu, J. & Zhou, C. Z., 2007. Crystal structure of glutathione reductase Glr1 from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proteins.*, pp. 972-979.

- Zhu, J., Bie, Z. & Li, Y., 2008. Physiological and Growth Responses of Two Different Salt-Sensitive Cucumber Cultivars to NaCl Stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, Cilt 54, p. 400–407.
- Zhu, K., 2002. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, pp. 73–247.



ÖZGEÇMİŞ

Ebru TORLAK, 26.03.1991’de Araklı’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2010 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden 2016 yılında mezun oldu. 2016 yılında Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisansına halen devam etmektedir.

