

**STRİGOLAKTON UYGULAMASIYLA
TUZ STRESİNE KARŞI
KUM ZAMBAĞI BİTKİSİNİN TOLERANSININ
ARTTIRILMASINDA ANTİOKSİDAN
ENZİMLERİN İŞLEVİ**

Şahsine GÖK ÖZEL

**Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Danışman:
Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ**

2018

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STRİGOLAKTON UYGULAMASIYLA TUZ STRESİNE KARŞI KUM
ZAMBAĞI BİTKİSİNİN TOLERANSININ ARTTIRILMASINDA
ANTIOKSİDAN ENZİMLERİN İŞLEVİ**

Şahsine GÖK ÖZEL

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ

TEKİRDAĞ-2018

Her hakkı saklıdır.

Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ danışmanlığında, Şahsine GÖK tarafından hazırlanan “Strigolakton Uygulamasıyla Tuz Stresine Karşı Kum Zambağı Bitkisinin Toleransının Arttırılmasında Antioksidan Enzimlerin İşlevi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı: Prof. Dr. Cüneyt AKI

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ (Danışman)

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Sheida DANESHVAR

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STRİGOLAKTON UYGULAMASIYLA TUZ STRESİNE KARŞI KUM ZAMBAĞI BİTKİSİNİN TOLERANSININ ARTTIRILMASINDA ANTİOKSİDAN ENZİMLERİN İŞLEVİ

Şahsine GÖK ÖZEL

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ

Panocratium maritimum L. (Kum zambağı) bitkisi Akdeniz, Karadeniz ve Hazar Denizi ile Atlantik Okyanusu kıyı boyunca tuzlu ve kumlu topraklarda yayılış göstermektedir. Tıbbi öneme sahip ve turizm faaliyetleri sonucunda yayılış alanları tehlike altında olan kum zambağının yüksek tuzlu ortam şartlarına maruz kalmadan önce yapılan strigolakton (SL) uygulamasıyla tuzluluğa karşı olan tolerans seviyesinin arttırılmasında antioksidan enzimlerin işlevinin belirlenmesi amaçlanmıştır. 28 günlük fidelere (1 ml/fide) spreyleme ile strigolaktonun sentetik formu olan GR24 farklı konsantrasyonlarda (0, 10, 20 µM) uygulanmıştır. GR24 uygulamasından 1 hafta sonra (35 günlük fidelere) tuz uygulaması 0, 150, 300 mM NaCl Hoagland besin çözeltisi içinde çözdürülerek yapılmıştır. Tuz stresi uygulamasından 10 gün sonra hasat edilen kum zambağı fidelerinin morfolojisi ile SOD, CAT ve POX aktivitesi ve bu enzimlerin izoenzimleri ile TBARS ve H₂O₂ içeriklerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, GR24 ön uygulamasının kum zambağı bitkilerinin tuzlu ortam şartlarında antioksidan savunma sistemini uyararak tolerans seviyesini arttırabilme potansiyeli olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: GR24, deniz nergisi, SOD, izoenzim, *Panocratium maritimum*

2018, 104 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

THE FUNCTION OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN INCREASING TOLERANCE OF SAND PLANT AGAINST SALTSTRESS BY STRIGOLACTONE APPLICATION

Şahsine GÖK ÖZEL

Tekirdağ Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr.Sefer DEMİRBAŞ

Panocratium maritimum L. (sea daffodil) is distributed throughout the Mediterranean Sea, the Black Sea and the Caspian Sea and Atlantic Ocean along saline and sandy soils. The aim of the study is to determine the function of antioxidant enzymes in increasing the level of tolerance to salinity by application of strigolactone (SL) prior to exposure to high salt environment conditions of sand tumbler with medical preserve and tourism activities that are endangered. Synthetic strigolactone, GR24, (1 ml/seedling) was applied at different concentrations (0, 10, 20 µM) to 28 days old seedlings by sprayed. One week after GR24 application (35 days fidelere), salt application was made by dissolving in 0, 150, 300 mM NaCl in Hoagland nutrient solution. The morphology of sea daffodil and SOD, CAT and POX activity and their isozymes and the contents of TBARS and H₂O₂ were determined in 10 days after the application of salt stress. According to the results, it was determined that the GR24 pre-application had the potential to increase the tolerance level by stimulating the antioxidant defense system of the sea daffodil plants in the salt environment conditions.

Keywords: GR24, sea daffodil, SOD, izoenzyme, *Panocratium maritimum*

2018, 104 pages

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGE DİZİNİ	v
ŞEKİL DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖNSÖZ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Tuz Stresi.....	1
1.2. Antioksidan Savunma Sistemi.....	3
1.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	7
1.2.2. Peroksidaz (POX).....	8
1.2.3. Katalaz (CAT)	9
1.2.4. Askorbat peroksidaz (APX).....	10
1.2.5. Glutasyon peroksidaz (GPX)	10
1.2.6. α-tokoferoller (vitamin E).....	10
1.2.7. Askorbik asit (AsA) (vitamin C)	11
1.2.8. Fenolik bileşikler	12
1.2.9. Glutasyon	12
1.2.10. Karotenoidler	13
1.3. Strigolaktonlar	14
1.4. <i>Panocratium maritimum</i> (Kum zambağı)	18
2. KAYNAK ÖZETLERİ	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Bitki Materyali.....	27
3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi	27
3.2.1. GR24 ve NaCl Uygulamaları	28
3.3. Morfolojik Parametreler	28
3.4. Stoma İletkenliği	29
3.5. Bitki Analiz Yöntemleri	29
3.5.1. Toplam protein miktarının belirlenmesi	29
3.5.2. Lipit peroksidasyonu miktarının belirlenmesi	31
3.5.3. H ₂ O ₂ miktarının belirlenmesi.....	31
3.5.4. SOD aktivitesinin belirlenmesi.....	31
3.5.5. POX aktivitesinin belirlenmesi.....	32
3.5.6. CAT aktivitesinin belirlenmesi.....	32
3.6. İzoenzim Tayini	32
3.6.1. SOD İzoenzim tayini	32
3.6.2. POX izoenzim tayini	34
3.6.3. CAT izoenzim tayini	34
3.7. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
4.1. Gövde Uzunluğu.....	36
4.2. Kök Uzunluğu	39
4.3. Gövde Yaş Ağırlığı.....	42
4.4. Kök Yaş Ağırlığı	45
4.5. Gövde Kuru Ağırlığı.....	48
4.6. Kök Kuru Ağırlığı	51

4.7. Stoma İletkenliği	54
4.9. H ₂ O ₂ Miktarı.....	60
4.10. SOD Aktivitesi ve İzoenzimleri	63
4.11. POX Aktivitesi ve İzoenzimleri	70
4.12. CAT Aktivitesi ve İzoenzimleri	77
4.13. İstatistiksel Bulgular	83
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	87
6. KAYNAKLAR.....	95
ÖZGEÇMİŞ	103

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 4. 1. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	64
Çizelge 4. 2. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	66
Çizelge 4. 3. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	68
Çizelge 4. 4. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası POX izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	71
Çizelge 4. 5. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası POX izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	73
Çizelge 4. 6. Longoz bölgesi kumzambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası POX izoenzim aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	75
Çizelge 4. 7. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kontrol bitkilerine göre CAT izoenziminin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	78
Çizelge 4. 8. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kontrol bitkilerine göre CAT izoenziminin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	79
Çizelge 4. 9. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kontrol bitkilerine göre CAT izoenziminin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.....	81
Çizelge 4. 10. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası morfolojik ve biyokimyasal analizlere ait ANOVA sonuçları.....	84
Çizelge 4. 11. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası morfolojik ve biyokimyasal analizlere ait ANOVA sonuçları.....	85
Çizelge 4. 12. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası morfolojik ve biyokimyasal analizlere ait ANOVA sonuçları.....	86

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. 1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu	4
Şekil 1. 2. Apoplastik ROT'un karşılıklı dönüşümüne yönelik potansiyel yollar..	6
Şekil 1. 3. Askorbat-Glutatyon döngüsü.	8
Şekil 1. 4. Tokoferolün açık kimyasal formülü	11
Şekil 1. 5. Bitki karotenoidlerinin yapısı	13
Şekil 1. 6. Strigol ailesi.....	15
Şekil 1. 7.Strigolaktonun kimyasal yapısı	15
Şekil 1. 8. Strigolakton biyosentezi	16
Şekil 1. 9. Kum zambağı tohumu ve kurumuş çiçekleri.....	18
Şekil 1. 10. Kum zambağı çiçeklenme zamanı görünüşü.....	19
Şekil 1.11. Kum zambağı 45 günlük fidelerin kök ve gövde görünüşü.....	20
Şekil 3.1. Kum zambağı tohumlarının toplandığı bölgeler.....	27
Şekil 3. 2. Bitki yetiştirme basamakları ve yapılan uygulamalar	28
Şekil 3. 3. Bitki yapraklarının stoma iletkenliğinin ölçümü.....	29
Şekil 3. 4. Laboratuvar çalışmaları.....	30
Şekil 3. 5. Protein standart grafiği	30
Şekil 3. 6. İzoenzim basamakları.....	34
Şekil 4.1. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde uzunluğu etkisi.....	37
Şekil 4.2. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde uzunluğuna etkisi.....	38
Şekil 4.3. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde uzunluğuna etkisi.....	39
Şekil 4. 4. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası kök uzunluğuna etkisi.....	40
Şekil 4. 5. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası kök uzunluğuna etkisi.....	41
Şekil 4. 6. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök uzunluğuna etkisi.....	42
Şekil 4. 7. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde yaş ağırlığına etkisi.....	43
Şekil 4. 8. Urla bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde yaş ağırlığına etkisi.....	44
Şekil 4. 9. Longoz bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde yaş ağırlığına etkisi.....	45
Şekil 4. 10. Belek bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök yaş ağırlığına etkisi.....	46
Şekil 4. 11. Urla bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök yaş ağırlığına etkisi.....	47
Şekil 4. 12. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası kök yaş ağırlığına etkisi.....	48
Şekil 4. 13. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde kuru ağırlığına etkisi.....	49
Şekil 4. 14. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde kuru ağırlığına etkisi.....	50
Şekil 4. 15. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde kuru ağırlığına (mg) etkisi.....	51

Şekil 4. 16. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök kuru ağırlığına (mg) etkisi.....	52
Şekil 4. 17. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök kuru ağırlığına (mg) etkisi.....	53
Şekil 4. 18. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök kuru ağırlığına (mg) üzerine etkisi	54
Şekil 4. 19. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası stoma iletkenliği ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) üzerine etkisi.....	55
Şekil 4. 20. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası stoma iletkenliği ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) üzerine etkisi.....	56
Şekil 4. 21. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası stoma iletkenliği ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) üzerine etkisi	57
Şekil 4. 22. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası TBARS miktarı (nmol g^{-1} yaş ağırlık) üzerine etkisi ..	58
Şekil 4. 23. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası TBARS miktarı (nmol g^{-1} yaş ağırlık) üzerine etkisi ..	59
Şekil 4. 24. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası TBARS miktarı (nmol g^{-1} yaş ağırlık) üzerine etkisi.	60
Şekil 4. 25. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası H_2O_2 miktarı (μM) üzerine etkisi	61
Şekil 4. 26. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası H_2O_2 miktarı (μM) üzerine etkisi.	62
Şekil 4. 27. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası H_2O_2 miktarı (μM) üzerine etkisi.....	63
Şekil 4. 28. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) SOD aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi.b) SOD izoenzim jel görüntüsü. c) SOD inhibitör çalışması.....	65
Şekil 4. 29. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) SOD aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi.b) SOD izoenzim jel görüntüsü. c) SOD inhibitör çalışması.....	68
Şekil 4. 30. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) SOD aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi.b) SOD izoenzim jel görüntüsü. c) SOD inhibitör çalışması.....	70
Şekil 4. 31. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) POX aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi. b) POX izoenzim sonuçları.	73
Şekil 4. 32. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) POX aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi.b) POX izoenzim sonuçları.	75
Şekil 4. 33. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) POX aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi.b) POX izoenzim sonuçları.....	77
Şekil 4. 34. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) CAT aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi. b) CAT izoenziminin jel görüntüsü.	79
Şekil 4. 35. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) CAT aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi.b) CAT izoenzim aktivitelerinin değişimi	81

Şekil 4.36. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) CAT aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) üzerine etkisi. b) CAT izoenzim aktivitelerinin değişimi.....83

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°	: Derece
%	: Yüzde
μM	: Mikromolar
·OH	: Hidroksil radikali
2-D	: İki boyutlu
¹ O ₂	: Tekil oksijen
ABA	: Absisik asit
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
ASH-GSH	: Askorbat glutatyon
AOT	:Aktif oksijen türleri
BSA	: Bovin serum albümin
BSİ	: Bağlı su içeriği
C	: Santigrat
Ca ⁺²	: Kalsiyum
cAPX	: Sitozolik askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
CH ₃ COOH	: Asetik asit
cm	: Santimetre
Cl	: Klorür
ClO ⁻	: Hipoklorit
CO ₂	: Karbondioksit
Cu	: Bakır
DAB	: 3,3'-Diaminobenzidine
DHAR	: Dehidroaskorbat redüktaz
dI-H ₂ O	: Deiyonize su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E.C.	: Uluslararası enzim komisyonu
EC	: Elektriksel iletkenlik
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
EDTA.Na ₂	: Etilen diamin tetraasetik asit disodyum
Fe	: Demir

FeCl ₃	: Demir (III) klorür
g	: Gram
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR24	: Strigol'ün sentetik analogu
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
H	: Hidrojen atomu
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
ISR	: Uyarılmış sistemik dayanıklılık
K	: Potasyum
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum ferrosiyaniür
LA	:Lipoik Asid
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
MDAR	: Sitosolik mono dehidroaskorbat redüktaz
MDHA	: Monodehidroaskorbat
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
MgSO ₄	: Magnezyum Sülfat
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
Na ⁺	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
Na-P	: Sodyum fosfat
NBT	: Nitro bluetetrazolium
ng	: Nanogram
NH ₃	: Amonyak
nm	: Nanometre
NO	: Nitrikoksit
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH ⁻	: Hidroksil radikali

P	: Fosfor
POX	: Peroksidaz
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PVPP	: Polivinilpolipirolidon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RGR	: Bağlı büyüme oranı
SA	: Salisilik asit
SL	: Strigolakton
Sn	: Saniye
SNP	: Sodyum nitroprussid
SO ₄ ⁻²	: Sülfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbitürik asit
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif maddeler
TCA	: Trikloroasetik asit
U	: Enzim ünitesi
UV	: Ultra viyole
Zn	: Çinko
α	: Alfa
α -tokoferol	: Vitamin E
β	: Beta

ÖNSÖZ

Toprak çözeltisindeki aşırı miktarda bulunan çözülebilir tuzlar, bitkilerin sudan yararlanılabilirliğini azaltmaktadır. GR24 gibi çeşitli kimyasalların stres koşulları öncesi bitkilere uygulanması duyarlı bitkilerin tolerans seviyelerini arttırdığı bilinmektedir. Bitki savunma sistemleri arasında yer alan antioksidan savunma sistemi bitkilerin toleransının artmasına önemli düzeyde katkı sağlamaktadır.

Bu yüksek lisans tezinde, tıbbi öneme sahip kum zambağı (*Pancreaticum maritimum*) bitkisinin yüksek tuzlu ortam şartlarına maruz kalmadan önce yapılan strigolakton (SL) uygulamasıyla antioksidan savunma sistemini uyararak tuzluluğa karşı olan tolerans seviyesinin artırılması hedeflenmiştir. 28 günlük fidelere (1 ml/fide) spreyleme ile strigolaktonun ticari formu olan GR24 farklı konsantrasyonlarda (0, 10, 20 μ M) uygulanmıştır. GR24 uygulamasından 1 hafta sonra (35 günlük fidelere) tuz uygulaması (0, 150, 300 mM) Hoagland besin çözeltisi içinde çözdürülerek yapılmıştır. Tuz stresi uygulamasından 10 gün sonra hasat edilen kum zambağı fidelerinin morfolojisi ile SOD, CAT ve POX aktivitesi ve bu enzimlerin izoenzimleri ile TBARS ve H₂O₂ içeriklerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, GR24 ön uygulamasının kum zambağı bitkilerinin tuzlu ortam şartlarında antioksidan savunma sistemini uyararak tolerans seviyesini arttırabilme potansiyeli olduğu saptanmıştır.

Yüksek lisans çalışmam sırasında tez konusunun belirlenmesi, ilerleyen süreçlerdeki yardım ve önerilerini benden esirgemeyen, daima önümü açan verdiği destekle bu günlere gelmemi sağlayan sayın yüksek lisans hocam Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ'a, bölümümüz öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Sezen ARAT ve Dr. Öğr. Üyesi Behiye Banu BİLGİN'e, İğneada Longoz Ormanları Milli Parkı'nda (Kırklareli) yayılış gösteren bitkilerin tohumları için Dr. Öğr. Üyesi Sheida DANESHVAR'a, Urla Kabalak'ta (İzmir) yayılış gösteren bitkilerin tohumları için Doç. Dr. Serdar Gökhan ŞENOL'a, Belek'te (Antalya) yayılış gösteren bitkilerin tohumları için A. Kubilay BARUT'a, yüksek lisans çalışmalarım esnasında yanımda olan ekip arkadaşlarım Fatih ÜDER, Ezgi ÖNAY, Damla ANA, Elif Saadet ARICAN ve bölümümüzde yüksek lisans öğrencisi olan Tuba YILDIRIM, Hasret PARMAK, Hasan BULUT, Elçin PARLAR ve Selen YATKIN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitimim boyunca manevi desteğini ve sabrını benden esirgemeyen annem Emine GÖK, babam Selver GÖK, ablam Esra GÖK ve eşim Hakan ÖZEL'e teşekkür ederim.

Temmuz 2018

Şahsine GÖK ÖZEL
Biyolog

1.GİRİŞ

Bitkiler yayılış alanlarını, gelişimlerini kısıtlayıcı çeşitli olumsuz koşullara maruz kalmaktadırlar. Bu olumsuz koşullar bitkilerin büyüme, gelişme ve metabolizmasını baskılamaktadır. Bitkilerin maruz kaldığı çevresel stres etmenleri abiyotik (cansız) ve biyotik (canlı) kaynaklı oluşmaktadır. Abiyotik stres etmenleri arasında tuzluluk, kuraklık, yüksek sıcaklık, soğuk, ağır metal, ışık yer alırken biyotik stres etmenlerine parazit bitkiler, böcek, mantar, bakteri, virüs, nemotadlar gibi canlılar örnek verilir (Mahajan ve Tuteja 2005).

Strese karşı bitkiler farklı derecede tepki göstermektedir. Bazı bitkiler streste önemli derecede zarar görürken bazı bitkiler ise stresi bir ya da birkaç metabolik zarar ile gidermektedir. Orta derecedeki ve kısa süren streslerde bazı bitkiler stresten en az zararla kurtulabilmektedir. Stresin şiddetli olması ve uzun sürmesi durumunda bitkilerde çiçeklenme olumsuz şekilde etkilenirken tohum oluşumu gerilemekte ya da senesens oluşmakta ve bitki ölmektedir. Böyle bitkiler strese duyarlı bitkiler olarak adlandırılmaktadır. Çöl bitkileri gibi bitkiler ise strese dayanıklı bitkilerdir (Kaçar 2015). Hücre döngüsü ve bölünmesi, iç zar sistemi ve vakuol oluşumu ve hücre çeperi yapısındaki değişimler, strese karşı hücre düzeyinde verilen yanıtlardır. Bu yanıtlar bitkinin türüne, tolerans ve adaptasyon kabiliyetine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ayrıca, bitkiler stres faktörlerine karşı biyokimyasal düzeyde de yanıtlar oluşturabilirler. Bu değişiklikler prolin ve glisinbetain gibi ozmotik düzenleyicileri kapsar (Türkan 2008).

1.1. Tuz Stresi

Tuzluluk dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir ekolojik sorundur. FAO/UNESCO tarafından hazırlanan raporda, dünya genelinde 954 milyon hektar toprağın tuzdan etkilendiği ve verimliliği kısıtladığı bildirilmiştir. Türkiye’de tuzluluk tehdidi yaklaşık 4.2 milyon hektar arazinin bulunduğu tahmin edilmektedir (Sönmez 2012). Küresel ısınma, düzensiz ve aşırı yağışlar, buharlaşmanın artması ve yanlış tarım uygulamaları nedeniyle toprak tuzluluğunun gelecek 25 yıl içerisinde ekim alanlarını %30 düzeyinde azaltacağı tahmin edilmektedir (Yılmaz ve ark. 2011).

Tuzluluk oluşumu, primer ve sekonder tuzluluk olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Primer tuzluluk, ana kayaçların ayrışması, okyanuslar ve iklimsel etmenler ile oluştururken, sekonder tuzluluk, tarımsal alanlardaki bilinçsiz sulama, aşırı otlatma, doğal vejetasyonun yok

edilmesi ve toprakların çeşitli kimyasallarla kirletilmesinden kaynaklanmaktadır (Yılmaz ve ark. 2011). Yüksek tuz konsantrasyonlarına yanıt verme yönünden bitkiler iki büyük gruba ayrılırlar. Tuzlu topraklarda yaşam döngülerini tamamlayan halofitler, tuzlu topraklarda yaşayamayan tuzlu toprağın stres etmeni olarak gördüğü bitkiler ise glikofitler olarak adlandırılır (Kocaçalışkan ve ark. 2008). Kültür bitkileri arasında; mısır, soğan, limon, pıkan, marul ve fasulye tuza çok duyarlıyken pamuk ve mısır orta derecede toleranslı; şeker pancarı ve palmiye ise yüksek toleranslıdır (Türkan ve ark. 2008). Tuzluluk toleransı, tuz konsantrasyonunun artışıyla bitkilerin büyüebilme ve yaşamlarını tamamlayabilme yeteneği olarak bilinmektedir. Bu toleransı sağlanması için, membran yapısında değişim, bitki büyüme düzenleyicilerinin ve antioksidan enzimlerin uygulaması, fotosentetik yolda değişim, kökler tarafından alınan iyonların kontrolü ve yapraklara taşınımında düzenleyicilere ihtiyaç duyarlar (Yıldız ve ark. 2010). Strese toleransın sağlanmasında, glisinbetain ve prolin hormonların rol oynadığı kanıtlar bulunmaktadır (Yang ve ark. 2003).

Toprak çözeltisindeki aşırı miktarda bulunan çözülebilir tuzlar, bitkilerin sudan yararlanılabilirliğini azaltmaktadır. Bitkilerde genel olarak tuzluluk, Na^+ (sodyum) ve Cl^- (klor) düzeylerinde artışa sebep olurken Ca^{2+} (Kalsiyum), K^+ (Potasyum), Mg^{2+} (Magnezyum) düzeylerinde azalışa neden olmaktadır (Parida ve Das 2005). Yüksek Na^+ düzeyi ve yüksek Na^+/K^+ bitkilerde protein sentezi gibi önemli enzimatik olayları engelleyerek metabolizmada sorunlara neden olabilmektedir (Ashraf ve ark. 2002).

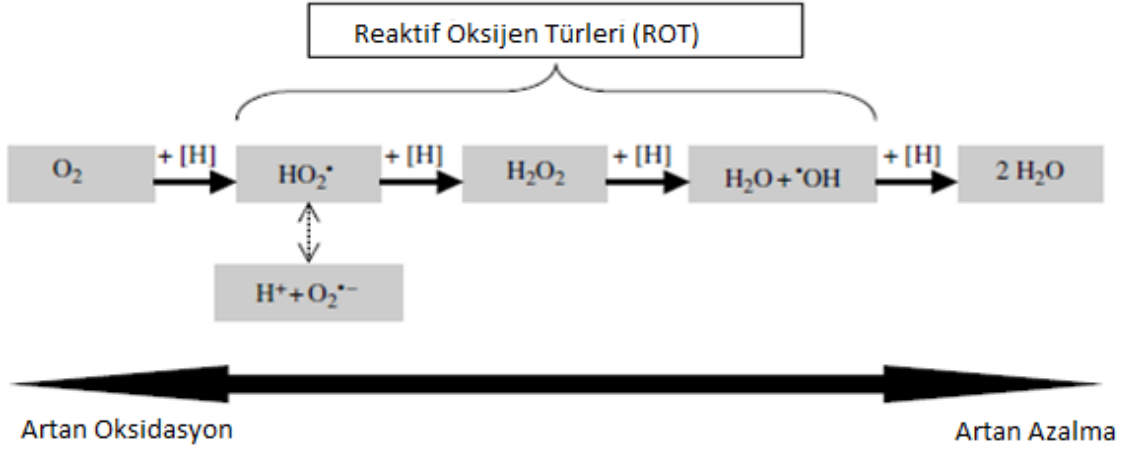
Bitkinin tuz stresine verdiği verdiği ilk yanıt, yaprak yüzey genişlemesi oranındaki azalma ve büyümenin durmasıdır. Bitki gelişimi üzerine tuzluluğun olumsuz etkileri, ozmatik stres, besin dengesizliği, spesifik iyon etkisi ve bunların kombinasyonu ile ilgilidir (Ashraf ve ark. 2004). Tuzluluk, plazma membranı geçirgenliğinde, membran yapısında, sitoplazmik viskozitede ve sitoplazmik akımda değişikliklere, hücre uzamasını ve bölünmesini etkilemektedir. Bunları takiben bodur büyümeye ve kök büyümesinde gerilemeye neden olmaktadır. Tomurcuk oluşumunu azaltmakta, çiçeklenme zamanını değiştirmekte, tohum üretiminde azalma, kütikula tabakasında incelme ve tomurcuk, kök, yapraklarda sarı lekeler (nekrozlar) gözlenmektedir. Büyüme mevsimi tamamlanmadan sararan yapraklarda kuruma görülmekte ve stres etmeniyle başa çıkamayan bitkinin tamamı kurumaktadır. Bu durumdaki bitkilerde sitokinin miktarının azaldığı, absisik asit (ABA) ve etilen miktarının arttığı saptanmıştır (Kaçar 2015). Tuz stresi zararının görüldüğü primer bölgelerin membranlar olduğu bunun sebebinin ROT'nin doymamış yağ asitleri ile etkileşime girerek plazmalemma veya

intraselüler organellerdeki membran lipitlerinin peroksidasyonuna neden olması ileri sürülmektedir (Çulha ve ark. 2011).

Abiyotik sorun olan tuzluluğun üstesinden gelmek için; tuzluluk problemi olmayan toprakları korumak hem de tuzlu toprakları iyileştirmek gereklidir. Ayrıca bitkide tuza toleransı arttırmak için farklı kimyasal uygulamalar yapılır ve toleranslı çeşitler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu doğrultuda bitkide tuzluluğun etkilerinin ve bitkinin tuza yanıtlarının bilinmesi büyük önem arz etmektedir. Hem tuzluluğun önlenmesi hem de tuza toleranslı çeşitlerin yetiştirilmesi ile tuzlu toprakların bitkisel üretime kazandırılması ekonomiye katkı sağlayacak önemli bir adım olacaktır (Yılmaz ve ark. 2011).

1.2. Antioksidan Savunma Sistemi

Bitkilerde normal büyüme koşullarında üretilen ROT düşük konsantrasyonlarda belirlenmiştir. ROT'leri normal olarak, hücre çeperinde lignin oluşumu, yaprak ve çiçeğin kopması, hücre yaşlanması, meyvenin olgunlaşması ve çiçeklenme gibi çeşitli metabolik süreçlerde kullanılır (Habib ve ark. 2014). ROT'lar bitkilerde içsel olarak kloroplastlardaki fotosentez reaksiyonlarında, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle oluşan en yoğun serbest radikallerdir. Bitkilerde abiyotik stres çeşitleri içinde yer alan kuraklık, soğuk stresi, tuz stresi gibi streslerde ROT'nin üretimi de tetiklenmektedir (Ashraf 2002, Sharma ve ark. 2012). ROT'nin fazla artışı bitkilerde birçok hasara neden olmaktadır. Bu hasarları incelediğimizde, DNA hasarı, enzimlerin aktivitesinde azalma, proteinlerin bozulması, apoptosis, lipit gibi hücresel bileşenlere zarar verebilir (Harinasut ve ark. 2003, Impa ve ark. 2012, Habib ve ark 2014). Metabolik süreçler, mitokondri, kloroplast ve peroksizomlarda ROT üretimine yol açar (Sharma ve ark. 2012, Habib ve ark. 2014). ROT'lerin artışı hücredeki antioksidan sisteminin dengesinin bozulmasına neden olur (Ashraf ve ark. 2002). ROT arasında yer alan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve tekil oksijen (1O_2) meydana gelen artışla biyomoleküllerin yapısında oluşan hasara oksidatif stres denilmektedir (Şekil 1.1) (Desikan ve ark. 2001, Ashraf ve ark. 2002, Mitter ve ark. 2002, Ashraf ve ark. 2004).



Şekil 1.1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu (Smirnoff 2000).

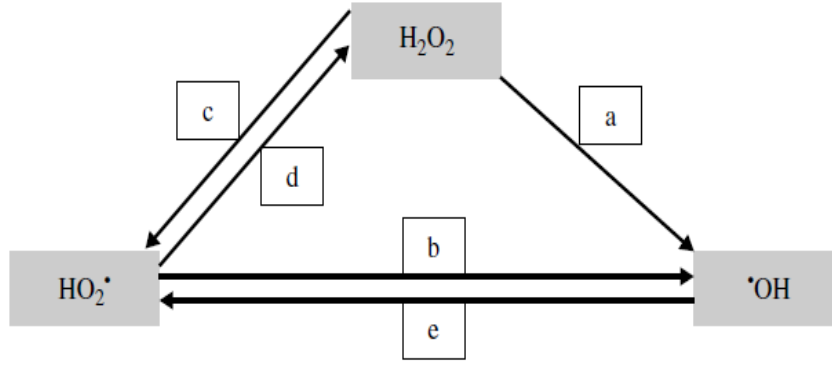
1O_2 , elektron taşıma sisteminde görevli olan O_2 molekülünün fazladan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşur. 1O_2 radikalinin nitrik oksit (NO) ile reaksiyonu ve H_2O_2 'nin hipoklorit (ClO^-) ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Birçok biyolojik molekül ile benzer kuantum durumuna sahip olduğundan kolaylıkla reaksiyona girebilir. $\bullet OH$ radikali gibi lipoksigenaz özellik gösterir. Özellikle karbon-karbon çift bağları 1O_2 tepkimeye girdiği bağlardır. Sistein, metionin, triptofan, tirozin ve histidin yapılarında bulunan çift bağlardan kaynaklanan yüksek elektron yoğunluğundan veya kükürt bölgelerinden dolayı 1O_2 ile oksidasyona uğradıkları bilinmektedir (Gill ve Tuteja 2010).

$O_2^{\bullet-}$, O_2 'in bir elektron transferi sonucu indirgenmesi ile oluşur. O_2 üretiminin en önemli yeri, PSI'nın tilakoyid membrana bağlı primer elektron alıcısıdır. Yaklaşık yarılanma ömrü 2 ve 4 m/sn dir. Ozmotik stres sonucu stomaların kapanması, fotosentetik karbon fiksasyonu için CO_2 alımını sınırlamakta ve bu nedenle kloroplastlarda fotoinhibisyona veya fotooksidasyona neden olan yüksek seviyede $O_2^{\bullet-}$ birikiminin olduğu bilinmektedir (Yang ve ark. 2007). Hüresel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak da davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna sitokrom-c'ye veya bir radikale vererek tekrar O_2 ' ne oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan $O_2^{\bullet-}$ bir elektron daha alır ve peroksit anyonuna indirgenir (Gill ve Tuteja 2010). Aerobik canlılarda $O_2^{\bullet-}$ 'lerin H_2O_2 'e çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. Aynı zamanda $O_2^{\bullet-}$, hafif asidik koşullarda SOD olmadan kendiliğinden dismutasyonla H_2O_2 'e çevrilebilir. SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde $O_2^{\bullet-}$ birikimine izin verilmez. Ancak,

çeşitli patolojik durumlarda süperoksit yapımının artmasıyla O_2^- özgü tepkimeler görülmeye başlar. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı olduğu proteinlerden salınımına neden olur. Kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar ve metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır (Sekmen Esen 2009).

H_2O_2 , aerobik canlılarda O_2^- katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenmesi ile oluşur. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabime özelliğine sahiptir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. *In vitro* morfogenezin indüksiyonu için merkezi bir öneme sahip gibi gözükmemektedir (Filipovic' ve ark. 2015). H_2O_2 birçok enzime zarar verebilir ve Calvin döngüsünün güçlü bir inhibitörü olduğu bilinmektedir. Ancak tilakoid membranda bulunan bir askorbat peroksidaz (APX) ile ortadan kaldırılabilir (Ashraf ve ark 2002). Apoplastta bulunan H_2O_2 'nin patojenler için toksik olduğu, gen transkripsiyonunda aktif rol oynadığı bilinmektedir (Smirnoff 2000). Hücre duvarına ait peroksidazlar alkalinizasyon sonucunda oksidatif patlamayla oluşturmakta ve H_2O_2 açığa çıkarmakta; okzalal oksidazın okzalatu indirgemesi ile CO_2 ve H_2O_2 oluşmaktadır. Amino oksidazların bitkilerdeki amin ve aldehit türevlerinin yıkımında da ise NH_3 (Amonyak) ve H_2O_2 oluşmaktadır. Bu H_2O_2 'ler ise duvara bağlı peroksidazlar tarafından hücre duvarının lignifikasyonu ve sıkılaştırılmasında, normal büyüme aşamasında ve yaralanma ve patojenler gibi dış uyarımlara yanıt olarak kullanılmaktadır (Sekmen Esen 2009).

$\cdot OH$, hücredeki en reaktif oksidantlardandır. $\cdot OH$, hücrelerin eliminasyonunda kullanılabilecekleri bir enzim sistemi olmadığından kolayca tüm biyolojik moleküller ile reaksiyona girebilme özelliğine sahiptir ve fazla miktarda üretildiğinde ise hücrelerin nekroza gitmesine sebep olur. Daha az zararlı olan H_2O_2 ve O_2^- anyonunun metal iyonları varlığında Haber– Weiss veya Fenton reaksiyonu ile oluşur. $\cdot OH$ oluşum reaksiyonlarındaki reaksiyonlar aşağıda gösterildiği gibi gerçekleşir (Ashraf ve ark. 2002).



Şekil 1.2. Apoplastik ROT'un karşılıklı dönüşümüne yönelik potansiyel yollar. a) Fenton reaksiyonu ve/veya Haber-Weiss reaksiyonu b) Haber-Weiss reaksiyonu c) Peroksidaz + NADH d) SOD-katalizörlüğünde veya enzimatik olmayan dismutasyonlar e) •OH radikalinin polisakolid veya benzer bir madde ile O₂ varlığında ki reaksiyonu (Smirnov ve ark. 2000).

ROT seviyesinin üst sınırına ulaştığı zaman hem hücrel hem de organel membranlarda lipid peroksidasyonu oluşur ve bu durum normal hücrel fonksiyonları etkiler. Lipid peroksidasyonu, kendilerinin proteinler ve DNA'ya tepki verebilen ve proteinlere zarar verebilen lipid türevi radikaller üretmesi yoluyla oksidatif stres seviyesini artırır. Stresli koşullar altında hücre membranlarına ROT aracılı hasarın göstergesi olarak lipid peroksidasyonu seviyesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonundaki artış, artmış ROT üretimi paralellik göstermektedir (Sharma ve ark.2012).

Bitkilerde strese karşı koruyucu mekanizmalar geliştirirler bunlarozmolitler, ısı şoku proteinleri ve LEA proteinleri gibi farklı özel proteinler olarak bilinmektedir (Zhu 2002). Ozmolitler, ozmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak görev yapan ve stres tarafından oluşturulan ROT'un temizlenmesinde rol oynayanbileşiklerdir. Sitoplazmada suyun kalmasını sağlarlar. Sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırarak hücrel yapıları korumaktadırlar (Ashraf ve Fooland 2007).

Tuzluluk stresi altındaki birçok bitkide toksik etkisi olmayan ancak koruyucu role sahip ozmotin olarak adlandırılan katyonik proteinlerin biriktiği saptanılmıştır. Toplam hücrel proteinin yaklaşık olarak %12'sini oluşturan bu proteinler PR-5 (patojen ilişkili grup 5) protein ailesine ait 24 kDa'luk stres ilişkili koruyucu proteinler olarak bilinmektedir. Ozmotin sentezinin absisik asit tarafından kontrol edildiği ve osmotoleransı sağladığı gösterilmiştir (Büyük ve ark. 2012).

İlk olarak tohum embriyolarında tanımlanmış LEA proteinlerinin de bitkilerde stres savunmasında koruyucu etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Stres altında LEA genleri tarafından ifade edilen hidrofilik LEA proteinleri su eksikliği etkilerini azaltmada ve hücrel bütünlüğün korunmasında etkin rol oynamaktadırlar (Holmberg ve Bülow 1998).

Bitkiler, reaktif oksijen türlerinin etkilerini elimine eden veya azaltan ve stresin neden olduğu bozulmaların farklı seviyelerinde etkili olabilen çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Serbest radikal teşvikli oksidatif stresine karşı bitkiler koruyucu, tamir, fiziksel savunma ve antioksidant savunma mekanizmalarını geliştirmiştir. Antioksidant savunma sistemleri arasında antioksidant enzimler bir seri kompleks reaksiyon ile ROT'lerinin temizlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bitkilerdeki antioksidant enzimler süperoksit dismutaz (SOD: EC 1.15.1.1), katalaz (CAT: EC 1.11.1.6), askorbat peroksidaz (APX: EC 1.11.1.11), peroksidaz (POX: EC 1.11.1.7), glutatyon redüktaz (GR: EC 1.6.4.2), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR: EC 1.6.5.4) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR: EC 1.8.5.1) gibi düşük molekül ağırlıklı enzimleri içermektedir (Noctor ve Foyer 1998). Bununla birlikte, glutatyon (GSH), askorbat (AsA), vitamin C ve E, lipoik asit, antosiyanin, karotenoidler ve tokoferoller gibi enzimatik olmayan antioksidantların oksidatif strese karşı koruma sağladığı bilinmektedir (Jiang ve Zhang 2001, Parida ve Das 2005, Sharma ve ark. 2012).

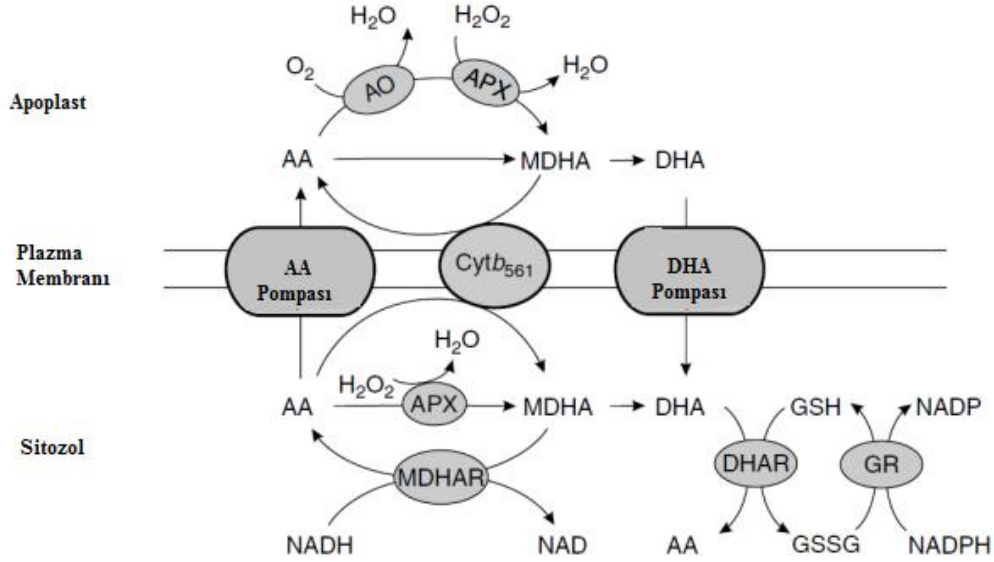
1.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, aktif oksijen türlerine (AOT) karşı koruyucu sistemin ilk adımını oluşturmaktadır. Bu enzimin iki molekül O_2^- ile reaksiyona girmesi sonucu H_2O_2 ve O_2 olduğu aşağıdaki denklemde verilmiştir (Oberley ve ark. 1988).



SOD'nin izoenzimleri; bakır/çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD), magnezyum süperoksit dismutaz (Mn-SOD), demir süperoksit dismutaz (Fe-SOD), nikel süperoksit dismutaz (Ni-SOD) olarak bilinmektedir (Ashraf 2009). Cu/Zn-SOD bitkilerde bol bulunmaktadır. Kloroplast, peroksizom, apoplast vesitoplâzma bulunur. Mn-SOD izoformu farklı bitki türlerinde mitokondri ve peroksizomda bulunurken Fe-SOD izoformları ise plastidlerde bulunmaktadır (Alscher ve ark. 2002, Gill ve Tuteja 2010, Filipovic ve ark. 2015). Fe-SOD, *Escheria colive Methanobacterium bryantii* gibi prokaryotlarda da mevcuttur. Ni-SOD *Streptomyces* türlerinin sitozolik kısımlarında mevcut olduğu bazı araştırmacılar

tarafından rapor edilmiştir (Sekmen Esen 2009). SOD aktivitesinin artması ve bu düzeyin korunması, stres koşulları altındaki gen ekspresyonunun ve SOD transkripsiyonunun artmasına bağlıdır (Çulha ve ark. 2012).



Şekil 1.3. Askorbat-Glutatyon döngüsü (Smirnoff 2000).

1.2.2. Peroksidaz (POX)

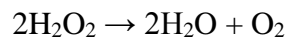
POX, tüm karasal bitkilerde saptanmıştır ve hücre duvarının içine, dış ortama ve vakoule salınabilen, H₂O₂ ile çeşitli indirgeyicilerin arasındaki reaksiyonlarını katalizleyen enzim sınıfının bir üyesidir (Filipovic ve ark. 2015). Peroksidazlar aynı zamanda hücre duvarını katılaştırmak için kullanılan yoğun bir ekstensin ağının oluşturulmasında da önemli rol oynarlar. Ekstensin çapraz bağlanmasına ayrılan peroksidazlar, çok çeşitli bitki türlerinden izole edilmiştir; Tirozin fenolik kısmı üzerinde ve lizinler üzerinde de rol oynadıkları bilinmektedir. Dolayısıyla Tyr-Tyr veya Tyr-Lys bağları yaratırlar. Tirosinler ve lizinler, korunmuş motifler içinde ekstensinlerde eşit aralıklarla yerleştirilir. Bu nedenle hücre duvarı yapısı içinde çok düzgün bir ağı oluşumuna katkıda bulunur. POX'lar, H₂O₂ ve daha sonra hidroksilik döngü yoluyla ·OH radikalleri üretme kapasitesine sahiptir. Bu döngü sırasında salınan ROT, patojenik organizmaların yokluğunda da salgılanmakla birlikte, patojenlere karşı tohum için bir savunma rolü oynayabilir. POX'lar, yaralama, patojen etkileşimleri ve iklimsel

saldırıları gibi farklı uyarılara yanıt olarak hücre duvarı bileşiklerinin çapraz bağlanmasını katalize ederek fiziksel bir engel oluşturabilir (Passardi ve ark. 2005). Bu süreç aynı zamanda büyüme ve yaşlanma sırasında normal hücre duvarı evrimi olarak da ortaya çıkar. POX'ların çapraz bağlanmadaki etkileri peroksidatif döngünün oksidatif kapasitesi ile ilgilidir (Passardi ve ark. 2004).

Peroksidazların 3 sınıfı bulunmaktadır. Hücre içi sınıf I, funguslar tarafından salınan sınıf II ve bitki peroksidazları sınıf III olarak bilinmektedir. Düzenli katalitik döngülerinde, sınıf III bitki peroksidazları fenolik bileşikler, lignin prekürsörleri, oksin veya sekonder metabolitler gibi çeşitli donör moleküllerine elektron alarak, H₂O₂'nin indirgenmesini katalize eder. Bitki hücrelerinde bulunan sınıf III peroksidazlar çözünür, iyonik ve kovalent-hücre duvarına bağlı formlarda bulunur. Sınıf III peroksidazlar, çimlenmekte olan tohumun yaşamının ilk günlerinde patojenik ataklara karşı savunma yaparak ve radikula (kökçük)l çıkıntı alanı etrafındaki hücre duvarı bileşiklerinin parçalanmasıyla kritik bir rol oynamaktadır (Passardi ve ark. 2005).

1.2.3. Katalaz (CAT)

CAT nükleustaki genler tarafından kodlanan tetramerik demir porfirinlerdir. CAT'lar tüm aerobik ökaryotlarda yağ asitlerinin alfa oksidasyonu, glioksilat döngüsü ve pürin katabolizmasında görevlidirler (Seçkin ve ark. 2010). CAT'ın, H₂O₂ ve O₂ parçaları (Gülen ve ark. 2013). Reaksiyon aşağıda gösterilmektedir:



CAT enziminin aktivitesi SOD aktivitesi sonrası büyük ölçüde artmaktadır. Büyüme ve hücre farklılaşmasında CAT'ın önemli bir rolü vardır (Impa ve ark. 2012). CAT ait 3 izoform belirlenmiştir. CAT1 ve CAT2 peroksizomlarda ve sitoplazmada lokalize iken CAT3 mitokondriyaldir (Gill ve Tuteja 2010).CAT1, peroksizomlarda H₂O₂ süpürülmesinde görevlidir. CAT2, iletim dokularında bulunur. CAT3 tohumlarda, genç fidelerde bulunur ve görevi glioksizomlardaki H₂O₂ seviyesini azaltmaktır. CAT aktivitesi tuz stresi, sıcaklık ve soğuk stresi ile azalabilir çünkü çevresel streslerle uyarılan ikincil oksidatif strese karşı bitkinin cevabı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kloroplastlarda CAT'ın yokluğu Kelvin döngüsündeki tiyol bağlı enzimlere zarar verebilir (Seçkin ve ark. 2010).

1.2.4. Askorbat peroksidaz (APX)

APX, ROT'a karşı savunmada önemli role sahip olduğu bilinen ve yüksek bitkiler, algler, kamçılılar gibi birçok organizmada bulunan antioksidanlardandır (Harinasut ve ark. 2003). APX, su-su ve Askorbat glutatyon (ASH-GSH) döngülerinde H₂O₂'nin temizlenmesinde yer alır ve elektron donörü olarak ASH'yi kullanır. APX, CAT ve POXya göre H₂O₂'ye daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve stres sırasında ROT'un yönetiminde daha önemli bir role sahip olabilir. APX ailesi, tilakoid (tAPX) ve gliksizom membran formlarının (gmAPX) yanı sıra kloroplast stromal çözünen form (sAPX), sitosolik formu (cAPX) da içeren en az beş farklı izoformdan oluşur (Gill ve Tuteja 2010, Harinasut ve ark. 2003). H₂O₂'ye karşı CAT'a kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. Çalışmalara bakıldığında *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok organizmada stres koşulları altında APX enzim aktivitesinde ve gen ifadesinde artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Büyük ve ark. 2012).

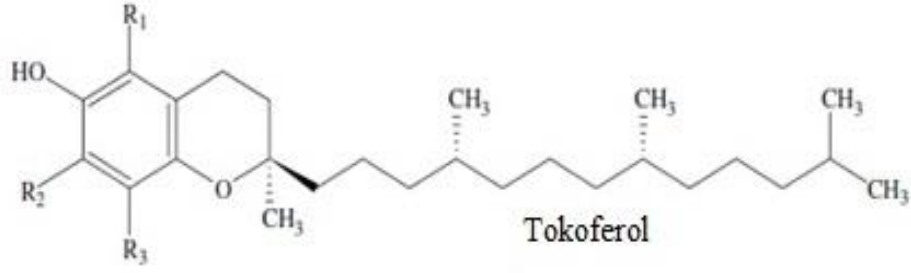
1.2.5. Glutatyon peroksidaz (GPX)

GPX'ler glutatyonu H₂O₂, organik ve lipit hidroperoksitlerin miktarını azaltmada kullanan bir enzim grubudur. Oksidatif strese karşı bitkileri korumada görevlidirler. Arabidopsis bitkisi için sitozolde, kloroplastta, mitokondride, endoplazmik retikulumda tanımlanmış yedi proteinden oluşan AtGPX1-AtGPX7 olarak adlandırılan bir GPX ailesi belirlenmiştir (Bella ve ark. 2015).

Capsicum annuum L. (biber), *Pisum sativum* (bezelye) ve *L. esculentum* (domates) olmak üzere pek çok bitkide stres koşulları altında GPX'in koruyucu bir rolü olduğu bulunmuştur (Büyük ve ark. 2012).

1.2.6.α-tokoferoller (vitamin E)

Tokoferoller, kloroplastların içsel zar yapılarında sentezlenirler ve kloroplast membranlarında yoğun olarak bulunurlar. Bu membranda yoğun olarak bulunmasının avantajı fotooksidatif stresle başa çıkmada önemli rol oynamasıdır. Hücrede lipitleri ve membran bileşenlerini koruyarak ve kloroplastlardaki O₂ ile reaksiyona girerek PSII'nin fonksiyonunu ve yapısını korurlar. α-tokoferoller lipitte çözünen antioksidanlardır ve kimyasal formülü (Şekil 1.4) verilmiştir.



Şekil 1.4. Tokoferolün açık kimyasal formülü (Smirnoff 2000)

Bitkilerde diğer antioksidanlarla işbirliği içinde lipit peroksil radikallerini süpürmekle görevlidirler. Hücre membranlarındaki lipit peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan alkoksil, lipit peroksil ve alkil radikallerine karşı koruyucu etki sağlar ve oluşan tokoferil radikali ise askorbat, redükte glutatyon ve koenzim Q ile tokoferole dönüştürülür. Hidrofobik özellikleri nedeniyle zarlara tutunan α -tokoferoller, buradaki çoklu doymamış yağ asidi zincirleri ile etkileşerek zar yapısının stabilizasyonunu sağlarlar. Antioksidan özellikleri sayesinde zarda bulunan diğer yapıların da korunmasını sağlar (Öztetik 2012). Tokoferoller direk olarak ROT'ları etkisizleştirir; özellikle tekil oksijeni tokoferolün geri dönüşümsüz oksidasyonu ile etkisizleştirirler. Özellikle tokoferollerin membranlardaki yağ asitleri ve lizofosfolitlerle kompleks oluşturması membranları zararlı etkilere karşı korumaktadır (Büyük ve ark. 2001).

1.2.7. Askorbik asit (AsA) (vitamin C)

Askorbik asit, doğada bol bulunan ve suda çözülebilengüçlü bir antioksidandır. Sulu fazlarda birçok enzimatik olan ve olmayan reaksiyonlarda elektron verebilmesiyle sebebiyle ROT temizleyicisidir. Bitkilerin çoğu hücrelerinde, organellerde ve apoplastlarda tespit edilmiştir. Hücre bileşenlerine geçiş kolaylaştırılmış difüzyon veya proton elektrokimyasal gradient yoluyla gerçekleşmektedir. Bitkilerin yapraklarında ve kloroplastların özellikle stromasında yoğunlaşmış olarak askorbat halinde redükte formda bulunur (Smirnoff 2005). Askorbik asit doğrudan 1O_2 ve $\cdot OH$ radikalini temizleme özelliğine sahiptir. Ayrıca, AsA APX aracılığıyla H_2O_2 suya indirgemektedir. Membran yapısını korumasını sağlayan tokoperoksil radikallerden tokoferol oluşmasına neden olmaktadır (Seçkin 2010). Askorbat, okside α -tokoferol radikalini indirger. α -tokoferolün tekrardan serbest radikalleri yakalayıcı antioksidan olarak görev almasını sağlar (Noctor ve ark. 1998). Kloroplastlarda fazla uyarılmış enerjiyi etkisizleştirilen violaksantin-de-epoksidaz enziminin kofaktörü olarak davranır (Çaylak ve ark. 2011).

1.2.8. Fenolik bileşikler

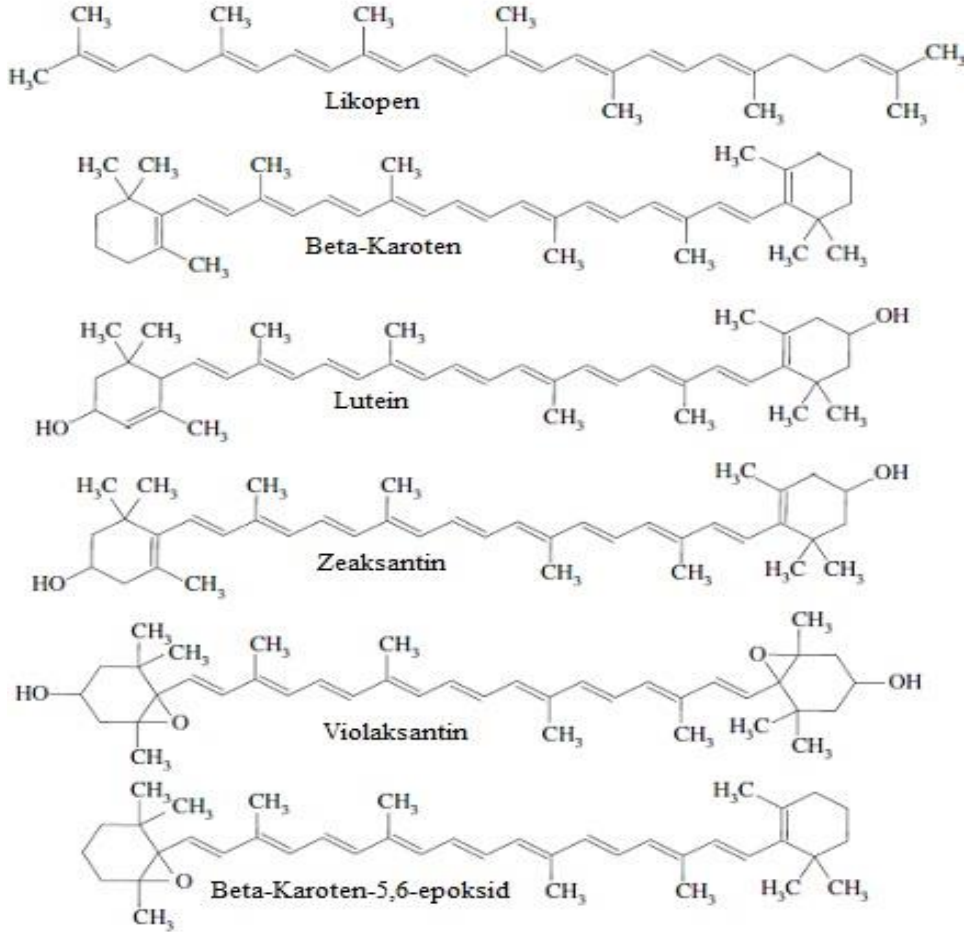
Fenoller, basit fenol iskeletinin yapısıyla ilişkili olan karbon atomu sayılarına göre farklı gruplara (fenolik asitler ve flavonoidler) ayrılmaktadırlar. Bitkilerdeki en önemli ikincil metabolit gruplarından biri olan fenolik bileşikler antioksidan fonksiyona sahiptirler (Büyük ve ark. 2012). Bu bileşikler arasında yer alan flavonoidler, tanninler, hidrokisinsamat esterleri ve lignin bitkilerin yapısında bol miktarda yer alır. Polifenollerin tokoferoller ve askorbata göre *in vitro* olarak daha iyi antioksidan olduğu gösterilmiştir. Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen (H⁺) veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterirler. Membranların akıcılığını azaltarak ve lipitlerin yer alış sırasını düzenleyerek serbest radikallerin hücreye difüzyonunu engelleyerek peroksidasyon reaksiyonlarını keserler. Bitki hücrelerindeki H₂O₂'nin temizlenmesi reaksiyonlarına da katılmaktadırlar (Çaylak ve ark. 2011). Yapılan çalışmalarda; farklı çevresel faktörler ve stres koşulları altında feniloproponoid metabolizmasında ve fenolik bileşik miktarlarında artış meydana geldiği gözlenmiştir. Bitki enfekte olduğunda, yaralandığında, düşük sıcaklıklar altında ve düşük besin koşullarında artış flavonoidlerden biri olan izoflavonların ve diğer bazı flavonoidlerin sentezinin gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda UV-B etkisinden korunmak amacıyla bitkilerin UV absorbe eden flavonoidleri epidermal hücrelerin vakuollerinde biriktirdikleri de bilinmektedir (Büyük ve ark. 2012).

1.2.9. Glutasyon

Glutasyon, bitkilerde oksidatif strese karşı rolü olan en önemli metabolitlerden birisi olarak bilinir ve tripeptid yapısında bir metabolittir. Bitki hücrelerinde kloroplast, sitozol ve diğer hücresel bölümlerde yüksek miktarda sentezlenir. Yapısında sistein bulunan glutasyon hücrede kloroplast, endoplazmik retikulum, vakuol ve mitokondride yer almaktadır. Normal koşullar altında sülfat taşınımının düzenlenmesi, sinyal iletimi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve stresle ilişkili genlerin ekspresyon sırasında görev alırlar. Çoğu bitki hücresinde protein olmayan tiyollerin temel kaynağıdır. Ayrıca dehidroaskorbat reduktazın toksisitesinin yok edilmesinde glutasyon S transferazın substratı olarak ta görev yapmaktadır (Parida ve ark. 2004). Araştırmalara göre glutasyon bitkilerde hücre farklılaşması, hücre ölümü, patojen direnci ve enzimatik düzenleme gibi birçok büyüme ve gelişme ile ilgili olayda da merkezi bir role sahiptir (Büyük ve ark. 2012).

1.2.10. Karotenoidler

Karotenoidler doğada 600'ün üzerinde çeşidi olan bitki ve mikroorganizmalarda bulunan pigmentlerdir. Bitkilerde bulunan karotenoidlerin kimyasal yapıları (Şekil 1.5) verilmiştir.



Şekil 1.5. Bitki karotenoidlerinin yapısı (Smirnoff ve ark. 2000)

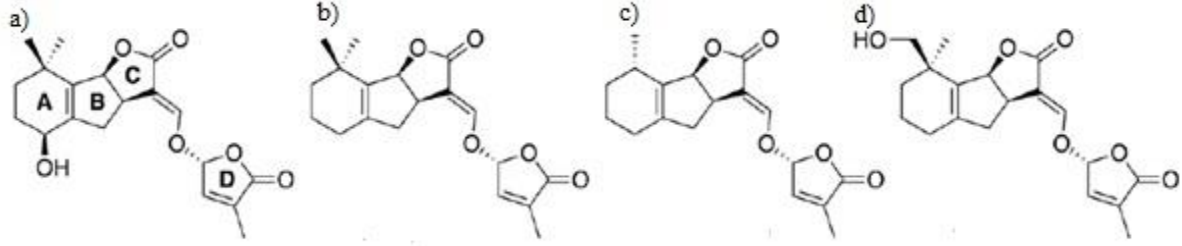
Bitki metabolizmasında oksidatif stres toleransını da içeren birçok rolü olan bu antioksidanların *Vigna mungo* (L.) Hepper (siyah mercimek), *Hordeum vulgare* (arpa) gibi birçok bitkide ağır metal stresi altında seviyelerinin arttığı belirlenmiş ve artışların stres savunmasındaki etkinliklerine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Büyük ve ark. 2012). Karotenoidlerin fotosentezde önemli rolü vardır. Ksantofiller ışık toplama kompleksinde lokalize olurlar PSII reaksiyon merkeziyle ilişkilendirilirler (Sharma ve ark. 2012).

Bitkilerde tuz stresinin büyüme ve gelişmenin yanında verim parametreleri üzerine yaratmış olduğu baskılayıcı etkinin giderilmesinde antioksidan savunma sisteminin dışarıdan yapılan uygulamalarla teşvik edilmesi hakkında birçok çalışma literatürde yer almaktadır.

Farklı bitkilere yapılan ön uygulama çalışmalarını incelendiğinde; buğday tohumlarına ozmotik bir düzenleyici olan trehaloz uygulaması yaparak NaCl uygulamasından önce trehalozun bitkide birikmesi sağlanmış ve oksijen radikallerine karşı bitkinin korunmasının sağlandığı belirlenmiştir (Yediyıldız 2015). Patlıcan fidelerinin yapraklarına H₂O₂, NO (nitrik oksit) ve SA (salisilik asit) ön uygulaması yapıldığı ve bu uygulamaların tek veya birlikte uygulanması tuzun olumsuz etkisinin azalttığını ortaya koymuşlardır (Furtana ve ark. 2016). Kanola bitkisini yapraklarına dışsal olarak uygulanan lipoik asidin (LA) tuz toleransında önemli bir yeri olduğu belirtilmiştir (Yıldız ve ark. 2015). Soya fasulyesi yapraklarına tuz stresine maruz bırakılmadan önce dışarıdan uygulanan alfa-tokoferolün tuz stresinin oluşturduğu oksidatif hasarı hem bazı antioksidan enzimlerin görevlerini üstlenerek hem de uyarıcı etki yaparak iyileştirdiği belirlenmiştir (Şereflioğlu ve ark. 2015). Tritikale tohumlarına H₂O₂ ön uygulamasının yapılması tuz stresi koşullarında çimlenme oranını arttırırken ortalama çimlenme süresini azalttığı ve kök sayısında, kök uzunluğunda, gövde uzunluğunda, kök yaş ve kuru ağırlığında, gövde yaş ve kuru ağırlığında artışa neden olduğu belirlenmiştir (Demirbaş ve ark. 2015). Marul fidelerinin yapraklarına uygulanan sodyum nitroprussid (SNP)'in tuz stresinin neden olduğu reaktif oksijen türlerinin miktarını azaltarak hücrel hasarın yatıştırılmasında işlevsel olduğu tespit edilmiştir (Akar ve ark. 2015). Tritikale tohumlarına yapılan H₂O₂ ön uygulamasının tuzun büyüme parametreleri üzerindeki baskılayıcı etkisini ortadan kaldırdığı belirlenmiştir (Küçükkarakaş ve ark. 2016).

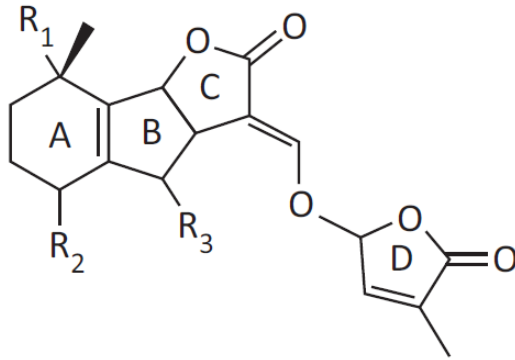
1.3. Strigolaktonlar

Strigolaktonlar (SL), bitki hormonu olarak sürgün ve kök gelişimini etkilemekle kalmayıp kök hücre sinyal molekülü olarak simbiyotik ve parazitik etkileşimleri de düzenleyen karotenoid türevi moleküllerin bir grubudur (Ruyter-Spira ve ark. 2013, Mishra ve ark. 2017). 1966 yılında ilk keşfedilen SL türevi strigol olup, pamuğun kök salgılarından izole edilmiştir. Strigol *Striga* ve *Orobancha* spp. parazit otlarının tohumlarını çimlendirebilme yeteneğinde olan bir bileşiktir. Uzun yıllar boyunca strigol bilinen tek doğal strigolakton molekülü olarak değerlendirildi. Yeni SL'ler 1990'dan itibaren çeşitli bitkilerin kök salgılarından izole edilmiştir. Sorgumdan sorgolakton, kırmızı yoncadan orobankol ve tütünden ise solanakol daha sonra keşfedilen strigolakton türevleridir (Şekil 1.6) (Brewer 2013, Cardinale ve ark. 2018).



Şekil 1.6. Strigol ailesi; a) Strigol b) 5-deoksystrigol c) Sorgolaktone d) Sorgomol (Zwanenburg ve ark. 2016).

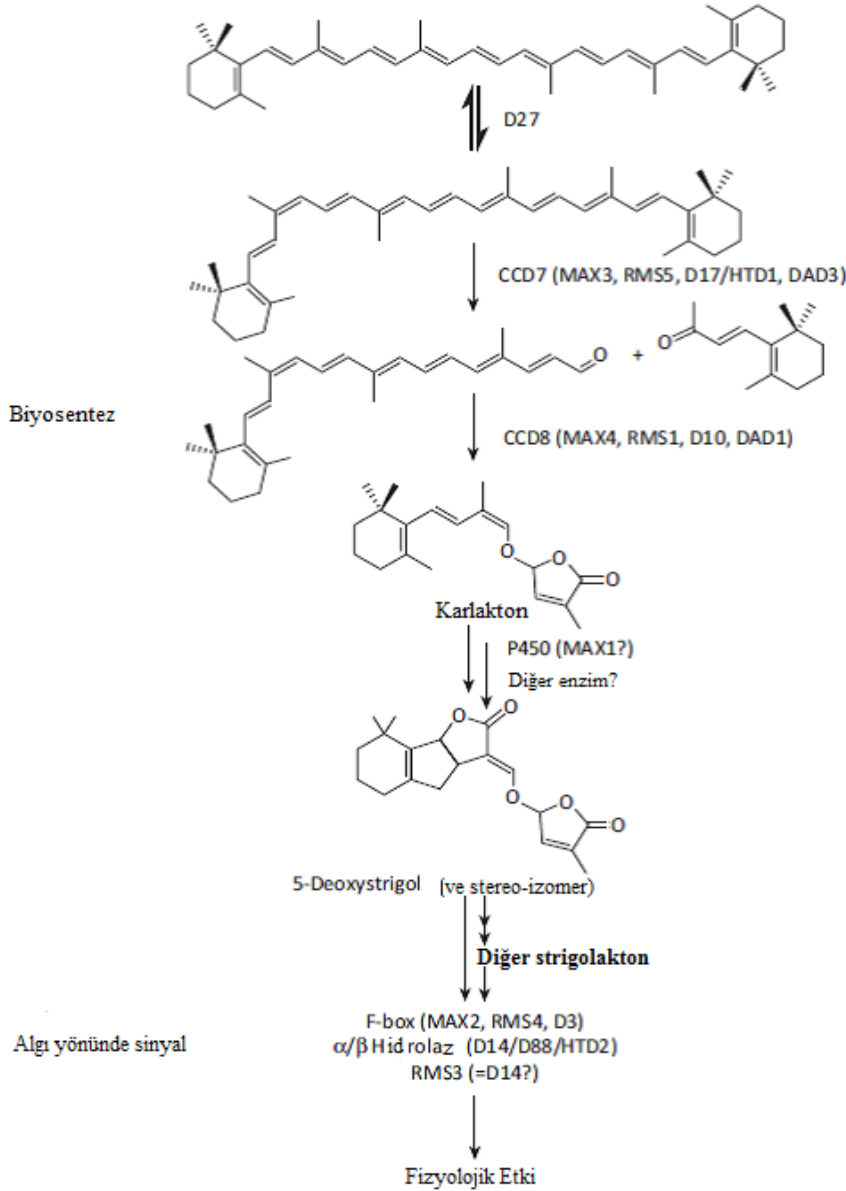
Strigolaktonların kimyasal yapısı incelendiğinde tüm SL'ler 4 (A-D) halkadan oluşur. Bunlardan C-D halkaları biyolojik aktivite için gereklidir. A ve B halkaları (Şekil 1.7) ise çok değişkenlik gösterir (Ruyter-Spira ve ark. 2013). Laboratuvar çalışmalarında en sık kullanılan sentetik strigolakton formu olan GR24, ismini Gerry Roseberry adlı araştırmacının isminin baş harflerinden almıştır (Cardinale ve ark. 2018). GR24 canavar otu çimlenmesini teşvik eden en etkili sentetik strigolakton türevidir (Reizelman-Lucascen 2003).



Şekil 1.7.Strigolaktunun kimyasal yapısı (Ruyter-Spira ve ark. 2013)

SL'ler sitoplazmave kloroplastta sentezlenir. β -karotenden sentezlenirler (Ruyter-Spira ve ark. 2012). Doğal SL'lerin stereokimyasal özellikleri biyolojik faaliyetleri için önemlidir. Xie ve ark. (2013), stereokimyasal yapılarını belirleyerek, çeltik ve tütün bitkilerindeki büyük doğal SL'lerin karakterize etmiştir ve çeltiğin yalnızca orobankol tipi SL'ler ürettiğini ancak tütünün her iki aileden de doğal SL'ler ürettiğini bulmuştur. Çeltikte bulunan D27, karotenoid yarılma dioksijenaz 7 (CCD7) (Arabidopsiste MAX3, çeltikte D17/HTD1, bezelyede RMS5ve petunyada DAD3) ve CCD8 (Arabidopsiste MAX4, çeltikte D10, bezelyede RMS1 ve

petunyada DAD1) bu üç enzim karloktonu oluşturmak için biyosentez basamaklarında yer alır. Arabidopsis bitkisindeki sitokrom P450 MAX1, karloktonu karloktonik aside dönüştürürken metiltransferaz ile metilleme ile metil karloktona (Şekil 1.8) dönüştürür (Ruyter-Spira ve ark. 2013, Zhang ve ark. 2014). Metil karloktonatın biyoaktif hale gelmesi için LBO (LATERAL BRANCHING OXIDOREDUCTASE) gibi bir oksidazla daha fazla oksijenlenmesi gerekmektedir (Cardinale ve ark. 2018).



Şekil 1.8. Strigolakton biyosentezi (Ruyter-Spira ve ark. 2013)

SL'lerin kökten sürgüne doğru ksilem yoluyla taşındığı bilinmektedir (Xie ve ark. 2015). Bir başka taşınma yolu ise petunya bitkisinde kök subepidermal hücreleri ve gövde/yaprak iletim sisteminde yer alan ABC taşıyıcısı PLEIOTROPIC DRUG RESISTANCE1 (PDR1), hücreSEL SL taşıyıcısı olarak tanımlanır. Bu taşıyıcılar sayesinde gövde dallanması ve kök yapısının oluşması (kök tüyü uzunluğu, primer kök meristemi ve kök sisteminin şekli) gibi süreçlerde SL'ların önemli bir işleve sahip olduğu gösterilmiştir (Kapulnik ve Koltai 2014, Waldie ve ark. 2014). Ayrıca, sürgünlerde ve yapraklarda SL sentezinin absisik asite (ABA) karşı hücre duyarlılığının düzenlenmesinde ve su yoksunluğuna doğru yanıt için önemli olduğu belirtilmektedir (Lopez-Obando ve ark. 2015).

İçsel fitohormonların bir sınıfı olarak, sürgün dallanmasını önlemesi SL'lerin belirgin rolü olarak bilinmektedir ve çeşitli bitki türlerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Dun ve ark. (2013), aksiller tomurcuk başlangıcını ve büyümesini doğrudan inhibe ederek bezelye dallarının sürgününü düzenlemek için SL'lerin dinamik olarak işlev gördüğünü bildirmiştir. SL eksikli bezelye mutantlarına GR24 uygulaması yapılmış ve GR24'ün *PsBRC1*'e bağımlı şekilde hareket ettiğini fakat bir apikal veya bazal oksin kaynağı gerektirmediğini keşfetmişlerdir.

SL'lerin bir diğer önemli işlevi de simbiyotik ilişkiyi düzenlemektir. Bezelye ile yapılan çalışmada mikorizal ve rizobiyal simbiyozlarının düzenlenmesinde SL sentetik ve duyarlı yolaklarının rollerini incelemiştir. Arkusküler mikorizal mantarların rizosfer sinyalleri olarak aktive edilmesine ek olarak mikorizal kolonizasyonu teşvik etmek için hem SL'lerin sentezi hem de cevabının gerekli olduğunu, ancak besleyici eksikliğine yanıt olarak simbiyozun düzenlenmesi için gerekli olmadığını göstermektedir (Foo ve ark. 2013).

Doğal olarak oluşan SL ile sentetik SL analoglarının moleküler özellikleri incelendiğinde; doğal SL'lerin stereokimyasal yapılarındaki C-halkasının yönüne dayalı olarak iki aileye ayrılabilir: α yönlü C halkalı orobankol tipi SL'ler ve β yönlü C halkalı strigol tipi SL'lerdir (Flematti ve ark. 2013).

Arabidopsis, Orobanche ve AM mantarları arasındaki SL analoglarına duyarlılık farklılıkları, farklı türlerde farklı reseptörler veya farklı reseptör benzeşimleri olduğunu göstermektedir. SL analog moleküllerinin yapı-aktivite ilişkileri de her sistemde farklılık gösterebilir (Cohen ve ark. 2013).

1.4. *Pancretium maritimum* (Kum zambağı)

Pancretium maritimum L. (Kum zambağı) bitkisi Akdeniz, Karadeniz ve Hazar Denizi ve Atlantik Okyanusu kıyı boyunca tuzlu ve kumlu topraklarda büyüyen bir Amaryllidaceae üyesidir (Berkov ve ark. 2009). Kum zambağı popülasyonları, kumlu plajlar gibi başlıca turistik bölgelerde olması, çiçek üretimi ve bazı fenolik bileşiklerin kaynağı olması, fazla hasat edilmesi nedeniyle Akdeniz kıyılarında nesli tehlike altında olan çok yıllık bitkilerdir (Balestri ve ark. 2001, Sanaa ve Fadhel 2010, Seçkin ve Aksoy 2012). İtalya, Fransa, İspanya ve Girit'te, bu bitki popülasyonları sayısı ve büyüklüğü önemli ölçüde azaldığı bilinmektedir (Sanaa ve Fadhel 2010, Sanaa ve ark. 2015). *Pancretium* cinsi Akdeniz bölgesi, Afrika ve Asya'da toplam 20 tür içerir (Georgiev ve ark. 2011, Sanaa ve ark. 2012). Anavatanı İspanya ve Fransa olarak bilinmektedir ve ülkemizde sahillerinde de yetişmektedir (Aydın ve ark. 2005). Kum zambağı, kıyı şeritleri ve kum tepelerinin sürekli bitki örtüsünde çok yaygındır (Grassi ve ark. 2005).



Şekil 1.9. Kum zambağı tohumu ve kurumuş çiçekleri (Özgün)

Kumzambağı tohumların rengi siyah ve çok hafiflerdir (Sanaa ve ark. 2010, Kahraman ve ark. 2016). Tohumların hafif olmaları; geniş interselüler boşluklara ve bunların da hava dolu olmasından dolayıdır. Bu tohumlar su geçirmezdir ve bu özelliği ona avantaj sağlamaktadır. Tohumların hafif olması yayılmasında da etki göstermiştir. Bu durum kuşların yanı sıra rüzgâr ve deniz akıntılarıyla da yayılmasını sağlamıştır (Kahraman ve ark. 2016).



Şekil 1.10.Kum zambağı çiçeklenme zamanı görünüşü (Özgün)

Kum zambağı 5-5,5 x 3,5-4,5 cm büyüklükte olan soğanlara sahiptir ve hafif zehirlidir. Çiçek açma döneminden önce görülen yapraklar, dilsel, donuk mavimsi yeşil ve küt uçludur ve çiçek taşıyan gövde 35-90 mm geniş mızraksı, aniden daralan zarımsı sivri bir uzantı şeklindedir. Çiçek sapı 5-13 mm boyutundadır. Çiçeklenme zamanı yaz aylarıdır. Büyük beyaz ve güzel kokulu çiçekleri akşamüstü açar, ertesi gün öğlene doğru kapanır. Bu çiçekler 6 taç yaprağa sahiptir. Çiçek tablası yayık ve çukur şeklindedir. Periant segmentleri düz mızraksı, dik yayık ve sivri uçludur. Anterler 4,5-6 mm büyüklükte kapsüller halindedir. Yetişkin bitki, kum yüzeyinde 60 cm yüksekliğine kadar ulaşabilir (Seçmen ve ark. 2000, Aydın ve ark. 2005, Grassi ve ark. 2005, Berkov ve ark. 2010, Seçkin ve Aksoy 2012). Diploid kromozom sayısı ise $2n=22$ 'dir (Fernandez ve ark. 2000, Senel ve ark. 2002). Kum zambağı yabancı tozlanan bir bitki türü olduğunu, çiçeklerinin döllenmesinin özellikle Lepidoptera ve Sphingidae üyesi kelebekler ve böcekler tarafından yapıldığını, ancak bu böceklerin yalnızca rüzgar hızının $2-2.5 \text{ ms}^{-1}$ aşmadığı zaman etkili bir döllenme sağlayabildiğini belirtmiştir (Gümüş 2015). Kum zambağı'nın üretimi generatif ve vegetatif yollarla yapılabilir. Generatif, yani tohumla üretimin kullanılmasının birçok nedenleri vardır. Bunlar; tohum temininin kolay olması, vegetatif üretim için yeterince anaç bitkinin bulunmaması, fazla miktarda bitki üretilmek istenmesi gibi sıralanabilir. Tohumla üretimin avantajları olduğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır; örneğin tohumla çoğaltım sonucunda elde edilen bitkiler genetik yapı olarak açılım gösterebilirler. Tohumların çimlenme gücü ya çok düşüktür ya da hiç çimlenme gücü

yoktur (Kanmaz 2013). Bazı durumlarda bitkiler fenotipik farklılıklar gösterirler. Bunlar yaprak ayasının genişliğinde ve uzunluğunda, soğan boyutlarında veya köklerin genişlemesinde ve çapındaki farklılıklar olarak göze çarpmaktadır (Grassi ve ark. 2005).



Şekil 1.11. Kum zambağı 45 günlük fidelerin kök ve gövde görünüşü (Özgün)

Kum zambağının soğan ve yaprak özlerinin birçok biyolojik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Sanaa ve ark. 2010, Georgiev ve ark. 2011). Tıbbi özelliğe sahipolan kum zambağı kanser, Alzheimer ve AIDS gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabilirdiği için her geçen gün önemi artmaktadır. Tıbbi amaçlı kullanımının dışında antifungal özelliğinden dolayı biyopestisit olarak da tarımda kullanımı mevcuttur (Gümüş 2015). Kum zambağı, Amaryllidaceae alkaloidlerinin büyük bir kaynağı olarak bilinmektedir. Amaryllidaceae familyasından izole edilen 300 alkaloidin 40' 1 kum zambağı' da bulunmuştur (Berkov ve ark. 2004). Alkaloid olarak likorin, Lycoris, Pancratium, Leucojum, Urginea, Narcissus, Galanthus, Amaryllis, Crinum, Hymenocallis, Nerine, Sternbergia, Zephyranthes, Eustephia, Haemanthus ve benzeri birçok Amaryllidaceae bitki cinsinden izole edilmiştir. Genellikle galanthamine ve diğer bazı izokinolin alkaloidleri eşlik eder (Gümüş ve ark. 2015).

Birçok Amaryllidaceae geleneksel tıpta akıl hastalığı da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar için kullanılır. Afrika Amaryllidaceae, 20 cinsin 280-300'ünü teşkil eder ve bunlar Amaryllideae, Cyrtantheae ve Haemantheae alt sınıflarına karşılık gelen üç büyük sraya ayrılır (Bay-Smith ve ark. 2011). Amaryllidaceae 65 cins ve 1100 tür içerir, dünyanın sıcak ve tropikal bölgelerinde geniş yayılışa sahiptir. Ülkemize süs bitkisi olarak getirilip çoğaltılanların dışında 5 cins 28 tür ve 33 taksonla, toplamda ise 6 cins 207 tür ile temsil edilmektedir (Kahraman ve ark. 2016).

Bu tez çalışmasında, üç farklı tuzlu ortam koşullarında yaşamaya uyum sağlamış tıbbi öneme sahip kum zambağı bitkilerine tuz stresine maruz kalmadan önce yapılan SL uygulamasıyla yüksek tuzlu koşullara karşı olan tolerans seviyesinin arttırılmasında antioksidan enzimlerin işlevinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kum zambağı (*P. maritimum*) ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, Könükol (1992) yapmış olduğu çalışmada, İnkum (Bartın) civarından çiçeklenme zamanında toplanan kum zambağı soğanları alkaloid içerikleri açısından incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, (+)-3-Epihydroxybulbispermine olarak isimli bileşik ilk kez rapor edilmiştir. Demethylgalanthamine, Demethylmontanine, Crinine, Hydroxybuphanisine ve Buphanisine isimli bileşiklerin de *Pancreatum* cinsinde ki varlığı ilk kez bu çalışmada bildirilmektedir.

Pettit ve ark. (1995) Arizona Eyalet Üniversitesi Kanser Araştırma Enstitüsü'nde yaptıkları çalışmada *Hymenocallis speciosa*, *H. variegated*, *H. pedalis*, *H. expansa*, *H. sonoranensis* ve *Pancreatum maritimum* bitkilerinde antikanser etkili bir madde olan pancratistatin maddesinin bulunduğu belirtilmiştir.

Çakıcı ve ark. (1997) kum zambağın etanolik soğan ekstraktlarının ağrı dindirici etkisini araştırılması yönünde bir çalışma yapmışlardır. Bu ekstraksiyondan elde edilen p-benzokinonun deney farelerinde abdominal sıkışmayı önlediğini ancak yüksek dozlarının toksik etkileri olduğunu belirlemiştir.

Youssef ve Frahm (1998) yapmış oldukları çalışmada, kum zambağında taze çiçekli bitkilerin soğanlarını kullanılıp alkaloid içeriklerini araştırmışlardır. Kum zambağı taze soğanlarından etanol ekstraksiyonu ile elde edilen özütün içinde syzalterin, farrerol, liquiritigenin ve kalkon isoliquiritigenin alkaloidlerini tespit etmişlerdir.

Sür Altıner ve ark. (1999) yaptığı çalışmada, kum zambağı soğanlarından metanol ekstraksiyonu ile elde edilen özütlerin antibakteriyal aktiviteye sahip olmamasına rağmen dört *Candida* (*Candida pseudotropicalis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* ve *C. Guillermondii*) türüne karşı antifungal etki göstermesine karşın *C. albicans* türüne karşı etkisiz olduğu tespit edilmiştir.

Khedr ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada, kum zambağı bitkisine uygulanan prolinin tuz stresi üzerinde iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Tuz stresinde özellikle 300 mM NaCl'de büyüme ve protein içeriğini azalttığını ve bu azalmanın prolin uygulamasıyla belirgin bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Tuz stresi özellikle köklerde ubikitin-konjüгат miktarında bir düşüşe neden olmuştur. Bu etki, prolin uygulamasıyla tersine döndürülmüştür. Şiddetli tuz stresinin POX ve CAT gibi antioksidatif enzimlerin inhibisyonu ile sonuçlandığını, ancak

prolin uygulamasıyla bu enzimlerin aktivitesinin daha yüksek olduğunu ortaya konmuştur. Araştırmacılar prolin uygulamasıyla bitkilerin tuz tolerans düzeyinin arttığı sonucuna varmışlardır.

Balestri ve ark. (2004) yapmış olduğu çalışmada, farklı derinliğe ekilen kum zambağı tohumlarının çimlenmeye olan etkilerini incelediklerinde daha derine ekilen tohumlardan (6, 10 ve 15 cm) toprak üstüne çıkışın daha sığ bir derinliğe (2 cm) ekilenlere göre daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Çimlenme periyodunun sonunda tohumların %18'inden daha azının dormanside kaldığı saptanmıştır. Sonbaharda ortaya çıkan fidelerin hiçbiri kış boyunca hayatta kalmamıştır. Laboratuvar koşullarında, tohumlar 12 saat boyunca değişen ışık/karanlıkta iyi bir çimlenme (%87,5-100) ve çok az dormansi (27-35 gün) gösterdiğini belirlemişlerdir. Tuzluluk ve su stresi ile 10°C'nin altındaki veya 30°C'nin üzerindeki sıcaklıkların çimlenmeyi engellediği/baskılandığı belirlenmiştir.

Abogadallah (2010) tarafından yapılan çalışmada, kum zambağı bitkisinin tuz ve kuraklık stresi altındaki oksidatif stresin fotorespirasyona olan etkisi araştırılmıştır. 7 haftalık bitkilere tuz uygulaması için 150 ve 300 mM NaCl, kuraklık uygulaması için ise 11 ve 21 gün boyunca su kısıtlaması yaratılmıştır. 300 mM NaCl ve 21 günlük kuraklığa maruz kalmış bitkilerde en yüksek MDA ve H₂O₂ içeriği ölçülmüştür. CAT aktivitesi 300 mM NaCl 150 mM NaCl stresiyle karşılaştırıldığında önemli ölçüde azaldığı ancak kontrol bitkilerine göre daha yüksek kaldığı belirtilmiştir. Araştırmacılar 21 günlük kuraklık stresi altında kalan bitkilerin CAT aktivitesinde artış olduğunu ve POX aktivitesinin tuz uygulamasıyla aşamalı olarak arttığı saptamışlardır.

Berkov ve ark. (2010) tarafından kum zambağının alkaloid sentezinin doku farklılaşması ile yakın ilişkili olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar en yüksek alkaloid miktarı ile homoklorin ve tazettin tipi bileşenlerin farklılaşmış dokularda oldukça fazla olduğunu, bitkilerin yapraklarında galanthamin biriktiğini ve bir protoalkaloid olan hordeninin miktarının dokunun alkaloid sentezleme yeteneğiyle ilgili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, doymuş yağ asitlerinin farklılaşmamış kallus kültürlerinde oldukça yüksek seviyelerde olduğunu belirtmişlerdir. LA ise sürgün yığınlarının fotosentez yapan yapraklarında ve rejenere bitkilerde daha yüksek bulunduğunu saptamışlardır. Yağ alkollerinin özellikle yapraklarda bulunurken sterollerin fotosentez yapan ve farklılaşmamış dokularda birikme eğiliminde olduğunu bulmuşlardır.

Gemici ve ark. (2011) yapmış olduğu çalışmada, Gümüldür, Çeşme (İzmir) ve Pamucak (Aydın) bölgelerinden toplanan kum zambağıtohumlarını kum ve bahçe topraklarındaçimlendirdikten sonra fidelere farklı konsantrasyonlarda NaCl uygulanmıştır. İlk 3 hafta boyunca yaprak sayılarının ve ortalama yaprak boylarının %10 NaCl çözeltisinde en yüksek değerlerde olduğu, çiçek sayılarının ise en fazla %0,2 NaCl ile sulanan bitkilerde olduğu gözlemlenmiştir. Çeşme suyuyla sulanan kontrol gruplarında çiçek sayısının en az olduğu saptanmıştır.

Hetta ve Shafei (2013) yapmış olduğu çalışmada, Mısır'da yetişen kum zambağı bitkisinin meyve ve çiçeklerinden elde edilen alkaloid bileşimlerinin etkisini araştırmıştır. Her iki bitki kısmının alkaloidlerinin kimyasal kompozisyonu GC/MS tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Bu çalışmada meyvede belirlenen 17 bileşikten 14'ü tanımlanmışken; çiçeklerde 13 bileşikten 11'i tanımlanmıştır. Araştırmada 4 alkaloid (tazettine, lycorine, N-demethyl galantamine ve galantamin) yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Alkaloidler kemoterapi ilacı olan Doxorubicin ile karşılaştırıldığında sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Araştırma sonucunda Mısır'da sahil kuşağında yetişen kum zambağı çiçek ve soğanlarının alkaloid bileşimlerinin kolon kanserine karşı sitotoksik bir aktivite sergilediği ve etkili bir doğal bir antibiyotik kaynağı olduğu belirtilmiştir.

Ibrahim ve ark. (2013), kum zambağının taze çiçek ve soğanlarının kullanıldığı çalışmada, Pancrimatine A, Pancrimatine B, norismine ve Pancrimatine C olarak isimlendirilen yeni alkaloidleri bulmuşlardır. Daha önceden bulunan N-methyl-8,9-methylenedioxy-6-phenanthridone, trispheridine ve N-methyl-8,9-methylenedioxyphenanthridine bileşikleri de izole etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen Pancrimatine B ile N-methyl-8,9-methylenedioxyphenanthridine maddelerinin, insan prostat kanseri hücrelerinin bölünmesini ve yayılmasını önlediğini ve herhangi bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Kanmaz (2013) yapmış olduğu çalışmada, kum zambağı bitkisinin *in vivo* ve *in vitro* koşullarda tohumla üretiminde birbirinden farklı 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. Ortam denemesi sonucu genel olarak değerlendirildiğinde, en uygun çimlenmenin bahçe toprağı+kum+ahır gübresi karışımında olmasına karşın en düşük çimlenmenin deniz kumunda olduğunu saptanmıştır. En yüksek soğan üretimi kum+hindistan cevizi kabuğu karışımında iken, en düşük soğan eldesi ise deniz kumunda olmuştur. Çalışmanın ikinci aşaması olan ön uygulama denemesinde tohumlara uygulanan 100 ppm BAP en yüksek çimlenme yüzdesini vermiştir.

Kahraman ve ark. (2015) yapmış olduğu çalışmada, türün *ex-situ* koruma çalışmaları için İzmir ili sınırları içerisindeki Kalabak-Urla plajından toplanan kum zambağı tohumlarına soğuk şoku uygulaması yapılmıştır. Toplanan tohumlar nemli kumla dolu kapların içerisinde -17 °C'de 10, 20, 30 gün ve 4 °C'de 30 gün ve 1 yıl süreyle bekletildikten sonra perlit, torf, kokopit ve petri kaplarına 17-25 °C'lık oda koşullarında ekimi yapılmış ve çimlenme süreleri ile çimlenme oranları hesaplanmıştır. Çalışmada, kıyı kumul bitkisi olmasına rağmen tohumlara soğuk şoku uygulandığında %95'e varan çimlenme başarısı elde edilmiştir.

Seckin ve Aksoy (2013) tarafından yapılan çalışmada, kum zambağı fidelerinin 5 ve 10 gün boyunca su kısıtlaması altında bağıl büyüme oranı (RGR), bağıl su içeriği (BSİ), MDA ve askorbat-glutasyon döngüsü enzimlerinin aktivitesindeki değişimler incelenmiştir. RGR ve BSİ değerlerinin stres uygulamasının 5. ve 10. günlerinde azalmasına karşın 10. günde daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, AsA-Glu döngüsü enzimlerinin kum zambağı bitkilerinin kuraklık stresi altında kısa vadede oksidatif hasar görmesini önlemek için etkili olduğu belirlenmiştir.

Avşar ve ark. (2016) yapmış olduğu çalışmalarda, 24 hastadan alınan kültür örneklerinden izole edilen mikroorganizmalara karşı Sinop'tan toplanan *Jurinea kilae*, *Isatis arenaria*, *Verbascum degenii* vekum zambağıbitki türlerinden farklı çözücüler (metanol, etanol ve su) kullanılarak elde ettikleri ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Yara ve idrar örneklerinden izole edilen *Proteus* türleri üzerine *V. degenii* metanol ve etanol ekstraktlarının yüksek aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir. Ayrıca tüm ekstraktların, Gram (-) bakteriler ve mayalara nazaran Gram (+) bakterilere karşı daha etkili oldukları saptamışlardır. Bununla birlikte; kum zambağının metanol ve etanol ekstraktları karşılaştırıldığında etanol ekstraktlarının daha iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır.

Rokbeni ve ark. (2016) Tunus kum zambağı bitkisinin fenolik bileşiminin ve antioksidan potansiyelindeki farklılıkları araştırmıştır. Araştırma sonucunda 5 fenolik asit ve 14 flavonalglikozid soğan ve yaprak parçalarında bulunmuş, kum zambağının iyi bir alkaloid kaynağı olduğu ve bu alkaloidlerin güçlü bir antioksidan aktivite göstererek ROT süpürücüsü olarak işlev görebileceği saptanmıştır.

Bitki büyüme düzenleyicisi olarak 2008 yılından bugüne değerlendirmeye başlanan SL ve türevlerinin (Umehara ve ark. 2008) stres faktörlerine karşı iyileştirici bir etkiye sahip olduğu

son yıllarda literatürde yer almaya başlamıştır. Peláez-Vico ve ark. (2016) *Medicago sativa* (yonca) bitkisindeki SL'lerin *Sinorhizobium meliloti* hareketliliğine olan etkisi hakkında yaptıkları çalışmada, GR24 uygulamasının *S. meliloti* bakterisinin nodül oluşumu sırasındaki ilerleme hızını teşvik ettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, yonca içsel SL üretimi fosfor eksikliğini olumlu ve azot yoksunluğu ise olumsuz bir şekilde etkilediğini saptamışlardır.

Soto ve ark. (2010) yapmış olduğu çalışmada, *S. meliloti* ile aşılınmış yonca fidelerine farklı konsantrasyonda GR24 uygulamışlardır. Yoncaya uygulanan 10^{-7} ve 10^{-8} M GR24 uygulamasının nodül oluşumu üzerine pozitif bir etki gösterdiği bulunmuştur. Bitkiler GR24 ile muamele edildiğinde, yoncadaki SL biyosentezi ve metabolizmasını etkilendiği ve böylece nodülasyonda artış olmuştur.

Demirbaş ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, 15 günlük soya fidelerine 0, 5 ve 10 μ M GR24 yapraklardan spreyleme yapılarak uygulanmıştır. Araştırmacılar, soya fidelerine 150 mM NaCl uygulamasından önce yapılan GR24 uygulamasının bir haftalık tuz stresi sonrasında bitkilerin lipid peroksidasyonu seviyesi, bağıl su içeriği, stoma iletkenliği ve spesifik yaprak alanında meydana gelen değişimleri belirlemiştir. Tuz stresi kontrol gruplarına göre, lipid peroksidasyonunu arttırırken bağıl su içeriği ve stoma iletkenliğini azaltmış, spesifik yaprak alanında ise herhangi bir değişime sebep olmamıştır. 5 μ M GR24 uygulaması herhangi bir etkiye neden olmazken, 10 μ M GR24 uygulaması tuz stresinin oluşturduğu hasarı azaltarak iyileşmeye neden olduğu saptanmıştır.

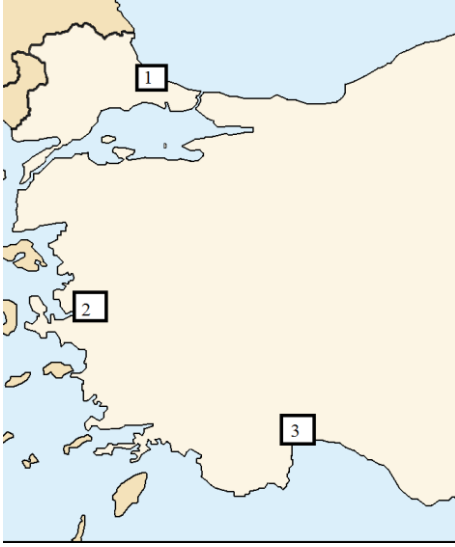
Önay ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, buğday tohumlarına yapılan 15 dk süreli 20 μ M GR24 uygulamasının 200 mM NaCl uygulamasının çimlenme oranı ve süresi üzerindeki baskısını ortadan kaldırdığı saptanmıştır. Çalışmada, 60 dk 20 μ M GR24 uygulamasının ise kök sayısında %44,33, kök uzunluğunda %20,22, kök yaş ağırlığında %44,3 artışa neden olmasına rağmen kök kuru ağırlığında anlamlı bir değişme neden olmadığı saptanmıştır.

Charnikhova ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada, hibrid mısır kök özütlerinde yedi farklı SL benzeri bileşik tespit edilmiştir. Bitkideki SL seviyesi fosfat yoksunluğundan sonra artmış ve floridon (karotenoid biyosentez inhibitörü) uygulaması sonrasında ise azalmıştır. Bulunan zealakton1a ve zealakton1b isimli bileşiklerin GR24'e benzer şekilde *Striga hermonthica* tohum çimlenmesini tetiklediğini belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Bitkisel materyal olarak 3 farklı bölgeden [Kırklareli (İğneada-Longoz) (Deniz tuzluluk oranı %18), İzmir (Urla) (Deniz tuzluluk oranı %33) ve Antalya (Belek) (Deniz tuzluluk oranı %39)] toplanan kum zambağı bitkisine ait tohumlar kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kumzambağı tohumlarının toplandığı bölgeler(1: Kırklareli- Longoz Ormanları, 2: İzmir- Urla, 3: Antalya-Belek)

3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Kum zambağı bitkilerinin yetiştirilmesi için 3 farklı bölgeden toplanan tohumlar herhangi bir ön işlem uygulaması yapılmaksızın 13x10 cm genişliğinde torf-kum (1:1) içeren her saksıya 3 adet gelecek şekilde ekilmiştir. Karışım yapılan ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Tohum ekim derinliği 15 cm (Gümüş 2015) olacak şekilde belirlenmiştir. Bitki yetiştirme denemesi, fidelere farklı yoğunluktaki (0, 10, 20 μ M) GR24 ve (0, 150, 300 mM) NaCl çözeltileri alt parselleri oluşturacak şekilde tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak kurulmuştur.

Bitkiler 16 saat fotoperiyotta $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü kontrollü *in vivo* bitki büyütme odasında yetiştirilmiştir. Fideler toprak yüzeyine çıkıncaya kadar (3 hafta) haftada bir kez dH_2O ile sulama yapılmış, daha sonra %50'lik Hoagland besin çözeltisi ile hasat gününe kadar sulama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2).

3.2.1. GR24 ve NaCl Uygulamaları

28 günlük fidelere (1 ml/fide) spreyleme ile strigolaktonun ticari formu olan GR24 farklı konsantrasyonlarda (0, 10,20 μ M) uygulanmıştır (Demirbaş ve ark. 2015). GR24 uygulamasından 1 hafta sonra (35 günlük fidelere) tuz uygulaması 0,150, 300 mM NaCl (Khedr ve ark. 2013) Hoagland besin çözeltisi içinde çözdürülerek yapılmıştır.

Bitkilerden tuz uygulamasından 10 gün sonra (45 günlük fidelerden) morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler için örneklemeler yapılmıştır. Biyokimyasal analizler için alınan örnekler alüminyum folyo içersinde analiz gününe kadar -20 °C' de saklanmıştır.

3.3. Morfolojik Parametreler

Bitkilerin kök ve gövde uzunlukları bir cetvel yardımı ile ölçülmüştür ve ortalaması cm olarak verilmiştir. Kök ve gövde yaş ağırlıkları kök ve gövde kısımları ayrıldıktan sonra hassas terazide tartılmıştır. Kök ve gövde kuru ağırlığı için ise bitki kısımları 70°C'lik etüvde 48 saat kurutulduktan sonra tartılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Bitki yetiştirme basamakları ve yapılan uygulamalar [a) Torf:kum karışımının hazırlanması, b-c) Saksıların hazırlanması, d) Tohumların ekilmesi, e) Fidelere besin çözeltisinin verilmesi, f) GR24 uygulaması, g) Tuz uygulaması, h) 5 haftalık kum zambağı fideleri, g) Stoma iletkenlik ölçümü, ı) Hasat günü fidelerin saksıdan ayrılması, i) Analizler için tartım yapılması (Özgün)]

3.4. Stoma İletkenliği

Bitkilerin stoma iletkenlik seviyesi tuz uygulamasından 10 gün sonra DECAGON marka SC-1 leaf porometer (Şekil 3.3) ile yapraklardan ölçülmüştür. Ölçümler her bir gruptan üçer tekrarlı olarak $\text{nmol/m}^2 \text{ s}$ olarak kaydedilmiştr.

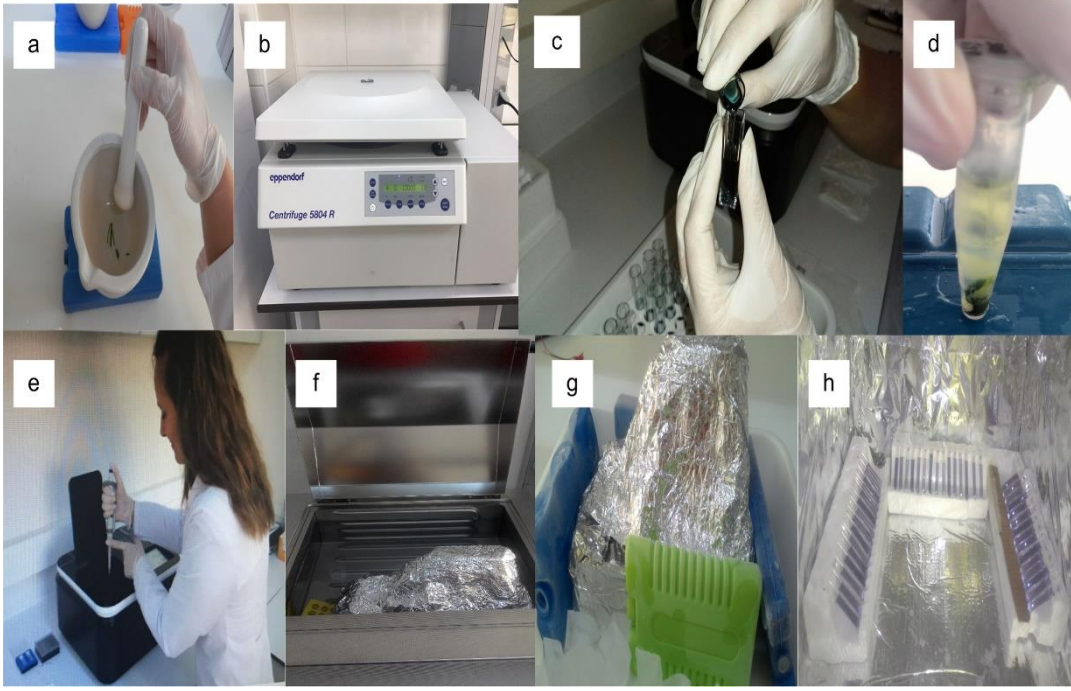


Şekil 3.3. Bitki yapraklarının stoma iletkenliğinin ölçümü (Özgün)

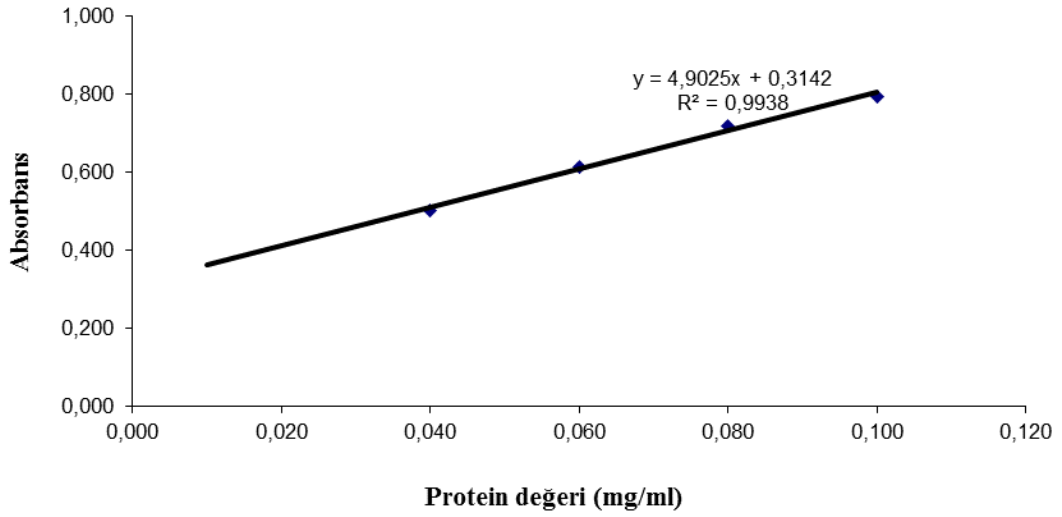
3.5. Bitki Analiz Yöntemleri

3.5.1. Toplam protein miktarının belirlenmesi

Toplam protein miktarı Bradford (1976) yöntemi kullanılarak belirlenmiştr. 0,1 g bitki rneđi 1 mM EDTA.Na₂ ve %2 polivinilpolipirolidon (PVPP) içeren 1 ml 50 mM sodyum fosfat (Na-P) tamponunda (pH 7,8) homojenize edilmiştr (Şekil 3.4a). Elde edilen ztler +4°C'de 14000 rpm'de 30dk santrifüj (Ependrof marka) (Şekil 3.4b) edildikten sonra süpernatant kısmı (Şekil 3.4d) toplam protein miktarının belirlenmesi sırasında kullanılmıştır. Hazırlanan rnekler spektrofotometrede okunmak için küvetlere aktarılmıştır (Şekil 3.4c) ve 595 nm dalga boyunda okutulmuştr (Şekil 3.4e). Bitki rneklerinin protein içeriğinin belirlenmesi sırasında Bovine Serum Albumin (BSA) kullanılarak protein standart grafiği (Şekil 3.5; $y=4,9025x+0.3142$; $R^2:0,9938$) oluşturulmuşt ve oluştran grafik üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Spektrometrik ölçümler Mecasys Optizen POP UV-VIS marka cihaz ile yapılmıştır. Belirlenen protein miktarı (mg doku^{-1}) enzim aktivitelerinin hesaplaması sırasında kullanılmıştır.



Şekil 3. 4. Laboratuvar çalışmaları. a) Homojenizasyon, b) Santrifüj cihazının görünüşü, c) Hazırlanan örneğin küvete aktarımı, d) Üst faz kısmı, e) Spektrofotometrede okuma, f) Su banyosu işlemi, g) Soğuk şoku işlemi, h) Işık altında tutulan tüpler (Özgün).



Şekil 3. 5. BSA kullanılarak hazırlanan protein standart grafiği

3.5.2. Lipit peroksidasyonu miktarının belirlenmesi

Lipit peroksidasyon miktarının belirlenmesi Madhava Rao ve Sresty (2000)'in metoduna göre yapılmıştır. 0,1 g bitki örneği, %0,1 trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ile homojenize edilmiştir (Şekil 3.4a). Özütler 4°C 5 dk 12000 rpm'de santrifüj edilmiştir (Şekil 3.4b). Bu işlemde sonra oluşan süpernatant kısmına (Şekil 3.4d) TCA ve TBA (tiobarbitürik asit) içeren reaksiyon karışımı eklenmiş ve oluşan karışım karanlıkta 95°C 30 dk su banyosunda (Memmert WNB 10 marka) (Şekil 3.4f) bekletilmiştir. Su banyosundan alınan örnekler buzlu ortama konularak soğuk şoku uygulanmıştır (Şekil 3.4g). Bu işlemin ardından karışım 4°C 15 dk 12000 rpm'de santrifüjlenmiştir (Şekil 3.4b). Oluşan üst fazın 532 ve 600 nm'deki absorban değerleri spektrofotometreden (Şekil 3.4e) alınarak malondialdehit (MDA) miktarı hesaplanmıştır. MDA seviyesi, ekstinksiyon katsayısından ($E=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yararlanılarak ($\text{nmol g yaş ağırlık}^{-1}$) hesaplanmıştır.

3.5.3. H₂O₂ miktarının belirlenmesi

H₂O₂ miktarının belirlenmesinde Bernt ve Bergmeyer (1974) metodu kullanılmıştır. 0,1 g bitki örnekleri 0,5 ml 100 mM Na-P tamponu (pH 6,8) ile homojenize edilmiştir (Şekil 3.4a). Santrifüj işlemi 20 dk 12000 rpm 4°C de yapılmıştır (Şekil 3.4b). Bu işlemde sonra 0,5 ml süpernatant, 2,5 ml peroksit reaktifi ile karıştırılıp, 10 dk boyunca 30°C sıcak su banyosunda (Şekil 3.4f) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası deney türlerine 0,5 ml 1 N perklorik asit eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. Karışımdan alınan 1 ml numune küvetlere konularak 436 nm'de spektrofotometrede okuma yapılmıştır (Şekil 3.4e). Örneklerin H₂O₂ seviyesi H₂O₂ standart eğrisine göre belirlenmiştir.

3.5.4. SOD (EC 1.15.1.1.) aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi, Giannipolites ve Ries (1977) ve Beauchamp ve Fridovich (1971)'e göre belirlenmiştir. 0,1 g bitki yaprağı 4°C'de 1 mM EDTA.Na₂.H₂O içeren Na-P (pH 7,8) ile homejenize edilmiştir (Şekil 3.4a). Homojenizasyon sonrasında özüt 30 dk 4°C'de 13000 rpm'de santrifüj edilmiştir (Şekil 3.4b). Analiz sırasında 50 mM Na-P tamponu (pH 7,8), 0,1M L-Metiyonin, 1mM Nitro Blue Tetrazolium (NBT), 0,1 mM EDTA.Na₂ ve 0,2 mM riboflavin içeren reaksiyon karışımı kullanılmıştır. Reaksiyon $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 25°C 10 dk süresince ışıklı ortamda gerçekleştirilmiş (Şekil 3.4h), renk değişimi 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçümler yapılarak belirlenmiştir (Şekil 3.4e). Spesifik enzim aktivitesi,

enzim ünitesi (U) mg protein⁻¹olarak belirlenir (Beauchamp ve Fridovich 1971, Giannipolites ve Ries (1977)).

3.5.5. POX (EC 1.11.1.7) aktivitesinin belirlenmesi

POX aktivitesi Kanner ve Kinsella (1983)'nın metoduna göre belirlenmiştir. 0,1g bitki yaprağı soğutulmuş havanda 1ml 0,05 M sodyum asetat (NaOAc) tamponu (pH 6,5) ilave ederek homojenize edilmiş (Şekil 3.4a) ve ependrof tüplerine aktarılan özüt 4°C 14000 rpm 30 dk santrifüj edilmiştir (Şekil 3.4b). Reaksiyon sırasında 0,05 mM NaOAc tamponu, 0,1 M pyrogallol, 0,09 M H₂O₂ çözeltileri kullanılmıştır. Spektrofotometrede 300 nm dalga boyunda 60 sn süre ile aktivite belirlenmiş (Şekil 3.4e) ve POX aktivitesi U mg⁻¹ protein olarak gösterilmiştir (Kanner ve Kinsella 1983).

3.5.6. CAT (EC 1.11.1.6) aktivitesinin belirlenmesi

CAT enziminin aktivitesi, Bergmeyer (1970) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Aktivite belirlenirken; 1 mM EDTA, 0,05 M Na-P tamponu (pH 7), dI-H₂O ve %3 H₂O₂ çözeltileri kullanılmıştır. Spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 60 sn süre ile aktivite takip edilmiştir (Şekil 3.4e). Dakikada tüketilen µM H₂O₂ miktarı, 1 enzim ünitesi olarak belirlenmiş ve spesifik enzim aktivitesi grafiklerde U mg protein⁻¹g olarak belirtilmiştir.

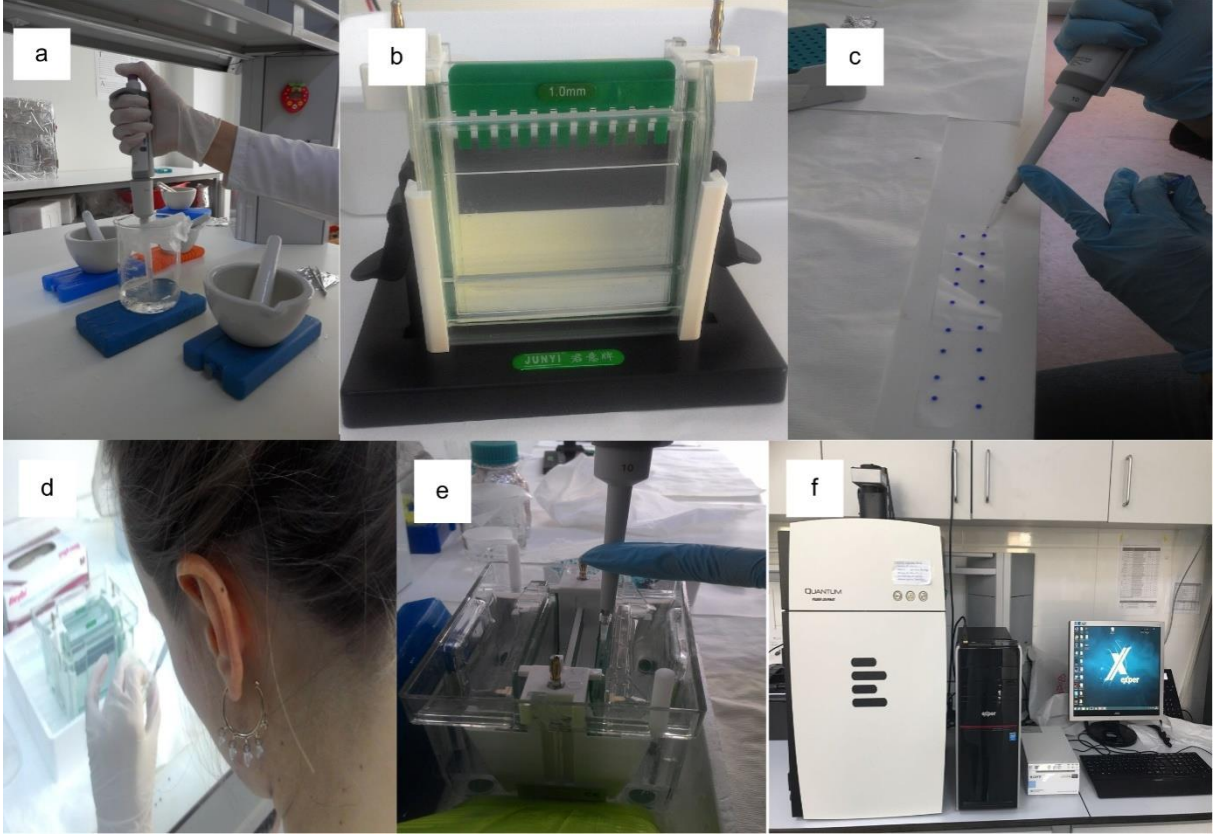
3.6. İzoenzim Tayini

3.6.1. SOD İzoenzim tayini

Bitki yapraklarından alınan 0,1 g materyal 50 mM Tris-HCl (ph 7,8), 0,1 mM EDTA, %0,2 Triton X, %2 Polivinilpolipirrolidon (PVPP) içeren tampon çözeltisi ile homejenize edilmiştir (Şekil 3.6a). Homojenizasyondan sonra jel hazırlığı için stok çözelti hazırlanmıştır. Runing (ayırma) jelin hazırlanması sırasında monomer çözelti (akrilamid, bisakrilamid ve dI-H₂O), running jel tamponu (Tris, dI-H₂O, HCl; pH 8,8), %10'luk amonyum persülfat (APS), ve %10'luk tetrametiletildiamin (TEMED) kullanılmıştır. Stacking (hizalama) jelin hazırlığı sırasında monomer çözelti (akrilamid, bisakrilamid ve dI-H₂O), stacking jel tamponu (Tris, dI-H₂O, HCl; pH 6,8), %10'luk APS ve %10'luk TEMED kullanılmıştır. Jel, çözelti hazırlığı tamamlandıktan sonra cihaz kurulumuna başlanılmıştır. Cihazın cam kısımları sızdırma yapmayacak şekilde birleştirilmiştir. Camlar takıldıktan sonra saf su ile sızdırmazlık kontrol edilmiş sızdırmıyorsa saf su döküldükten sonra camların arası bir filtre kâğıdı ile kurutulmuştur.

Dikey elektroforez jelini hazırlarken ilk olarak camın alt kısmına %12,5 ayırma jeli dökülür, jelin düzleşmesi için 1 ml n-bütanol eklenmiş ve katılaşması beklenmiştir. Jel donduktan sonra n-bütanol dökülür ve saf su ile yıkanır. Üst kısma %4 hizalama jeli dökülür ve taraklar yerleştirilmiştir (Şekil 3.6b). Hizalama jeli donduğunda ise taraklar yerlerinden dikkatlice çıkartılır ve saf su ile yıkanır. Bu şekilde jel yüklemeye hazır hale gelmiştir. Tank tampon 1x olacak şekilde Tris ve Glisin (pH 8,3) ile hazırlanmıştır. Hazırlanan jel tankın içine konulmuş ve tank tampounu ile tankın içi doldurulmuştur. Örneklerin protein içeriği Bradford (1976) yöntemine göre belirlendikten sonra jele yüklenecek olan 60 µg protein miktarı hesaplanmıştır. Parafilm üzerine konulmuş olan 60 µg protein pipet yardımı alarak çek bırak şeklinde boya ile iyice karışması sağlanmıştır (Şekil 3.6c). Burada boya ile karışan proteinler jeldeki kuyucuklara pipet vasıtası ile yüklenmiştir (Şekil 3.6e). Yüklenen proteinler 4°C'de 50 mA sabit akım altında 60 dk ayırma tabi tutulmuştur. SOD izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı riboflavin ve NBT'un fotokimyasal boyama yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Beauchamp ve Fridovich 1971, Arora ve Bhatla 2017). Jelde yürütme işlemi bittikten sonra boya hazırlığına başlanmıştır. NBT, Na-P tamponu (pH 7,8), 1mM EDTA içeren çözelti 1 ve riboflavin içeren çözelti 2 hazırlanarak 40:2 oranında karıştırılmıştır. Jelin üzerine konulan boya 45 dk boyunca karanlıkta çalkalanmıştır. Daha sonra floresan ışık altında bantlar görülünceye kadar dH₂O ile yıkanır. Işık altında bekletildikten sonra jel UV ışık altında Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 görüntüleme cihazı ile görüntülenmiştir (Şekil 3.6f). Jel üzerinde meydana gelen band yoğunlukları Biocapt programıyla tespit edilmiştir.

Yukarıda anlatılan jel yürütme protokolü uygulanarak SOD izoenzimlerinin tiplerini belirlemek için boya çözeltisine inhibitörler eklenmiştir. Cu/ZnSOD inhibisyonu için 2 mM potasyum siyanür (KCN), Cu/ZnSOD ve FeSOD inhibisyonu içinde 3 mM H₂O₂ kullanılmıştır. MnSOD her iki inhibitörden de etkilenmemektedir. Bu sonuçlara göre jelde meydana gelen izoenzim bantlarının yerleri belirlenmiştir (Şekil 28, 29, 30).



Şekil 3.6. İzoenzim basamakları a) Homejenizasyon, b) Jelin hazırlanması, c) Boyanın hazırlanması, d) Proteinlerin boyayla karıştırılması, e) Jele yüklenmesi, f) Görüntüleme (Özgün).

3.6.2. POX izoenzim tayini

POX izoenzim aktivitesi Seevers ve ark. (1971)'e göre tespit edilmiştir. Jel hazırlığı SOD izoenzim hazırlığı ile aynı şekilde hazırlanmıştır. Protein ayrımı için Laemmli (1970)'e göre %10 ayırma jeli ve %4 hizalama jeli kullanılmıştır. Kuyucuklara 30µg protein yüklemesi (Şekil 3.6e) yapılmıştır. Boya solüsyonu 1,3 mM tetrahidrokloroid (DAB) ve %3 H₂O₂ içeren 200mM NaOAc (pH 5) tamponu içermektedir. Boyama ile akrilamid jel üzerinde bulunan perosidaz enzimleri DAB'ın oksitlenmesi sonucunda bantlar meydana gelmiştir. Jeller karanlıkta 45 dk çalkalandıktan sonra %7'lik asetik asitte (CH₃COOH) fiksasyona tabi tutulmuştur. Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 görüntüleme cihazı ile beyaz ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 3.6f). Jel üzerinde meydana gelen band yoğunlukları Biocapt programıyla tespit edilmiştir.

3.6.3. CAT izoenzim tayini

CAT izoenzim aktivitesi Woodbury ve ark. (1971)'e göre belirlenmiştir. Jel hazırlığı SOD izoenzim hazırlığı ile aynı şekilde hazırlanmıştır. Kum zambağı örneği denatüre olmayan

(Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) içermeyen) Poliakrilamid Gel Elektrofrezin (PAGE)de %7,5 ayırma jeli ve %4 hizalama jeli kullanılarak Laemmli (1970)'e göre hazırlanmıştır. Kuyucuklara 5 µg protein yüklemesi (Şekil 3.6e) yapılmıştır. Jel %0,003 H₂O₂ içeren çözeltide 15 dk boyunca karanlıkta çalkalanmıştır. Potasyum ferrosiyanat (K₃Fe(CN₆)) ve Demir (III) Klorür (FeCl₃) bulunan boya ile muamele edilerek bantların görünürlüğü sağlanmıştır. Jel daha sonra dI-H₂O ile yıkanarak beyaz ışık altında incelenmiştir. Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5 görüntüleme cihazı ile beyaz ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 3.6f). Jel üzerinde meydana gelen band yoğunlukları Biocapt programıyla tespit edilmiştir.

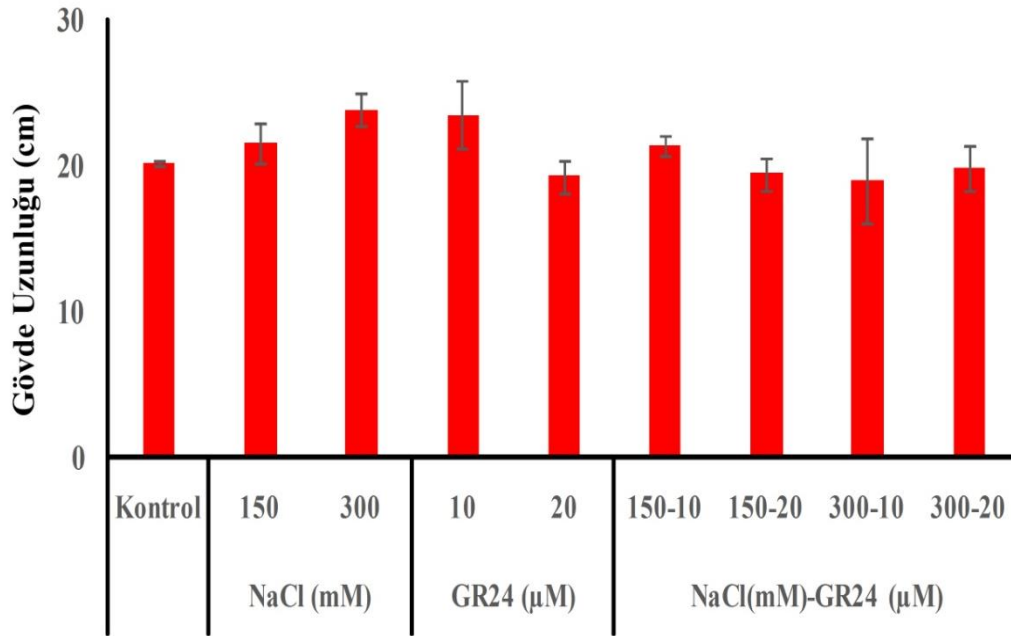
3.7.İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Tüm biyokimyasal ve fizyolojik veriler tek yönlü varyans analizi (One Way Anova) ile SPSS programı kullanılarak incelenmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey HSD Testi ile karşılaştırılmıştır. P <0,05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz sırasında SPSS programı (sürüm 18) kullanılmıştır. Deneme sonucunda elde edilen sonuçlar ortalama ±standart hata olacak şekilde grafiklerde sunulmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Gövde Uzunluğu

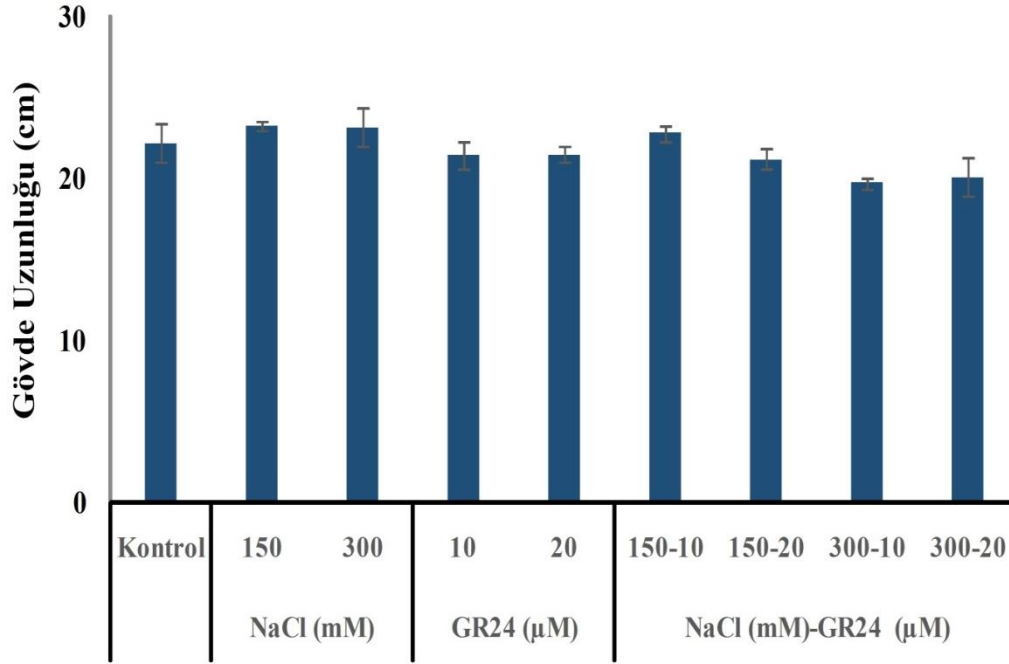
Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulaması gövde uzunluğunda sırasıyla %6,9 ve %18,3 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %16 artışa ve %4,4 azalmaya neden olmuştur. Fidelere yapılan 150 mM NaCl uygulamasından önce yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %6,2 artışa ve %3,4 azalmaya, 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamalarında ise sırasıyla %5,7 ve %1,3 oranında azalma meydana gelmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde uzunluğuna (cm) etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

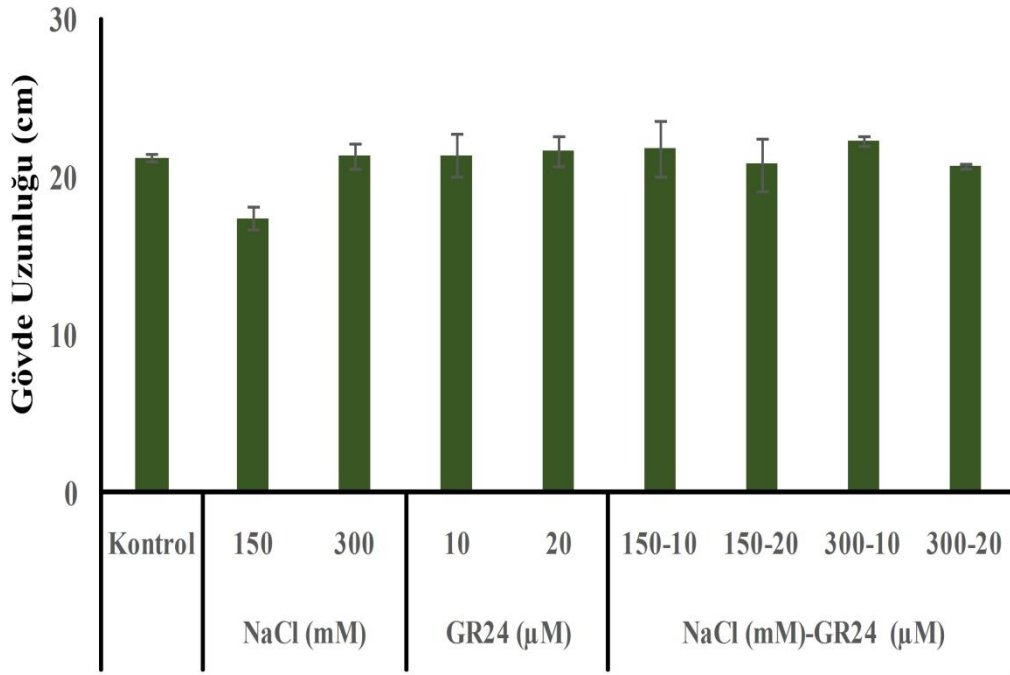
Urula bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulaması gövde uzunluğunda sırasıyla %4,6 ve %4,3 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 10 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla gövde uzunluğunda %3,4 azalmaya, 20 μ M GR24 uygulamasının %3,1 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 μ M GR24 uygulamasının kontrol bitkilerine kıyasla %2,7 artışa neden olmuşken 20 μ M GR24 uygulamasının ise %4,3 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının sırasıyla %11,1 ve %9,6 oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Ural Bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde uzunluğuna etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulamasında gövde uzunluğu %17,8 azalmaya, 300 mM NaCl uygulamasında ise %0,7 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %0,7 ve %2 artışa neden olmuştur. Kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %2,6 artışa ve %2 oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Fidelere yapılan 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 μ M GR24 uygulamasının %4,8 artışa ve 20 μ M GR24 uygulamasının ise %2,2 azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.3).



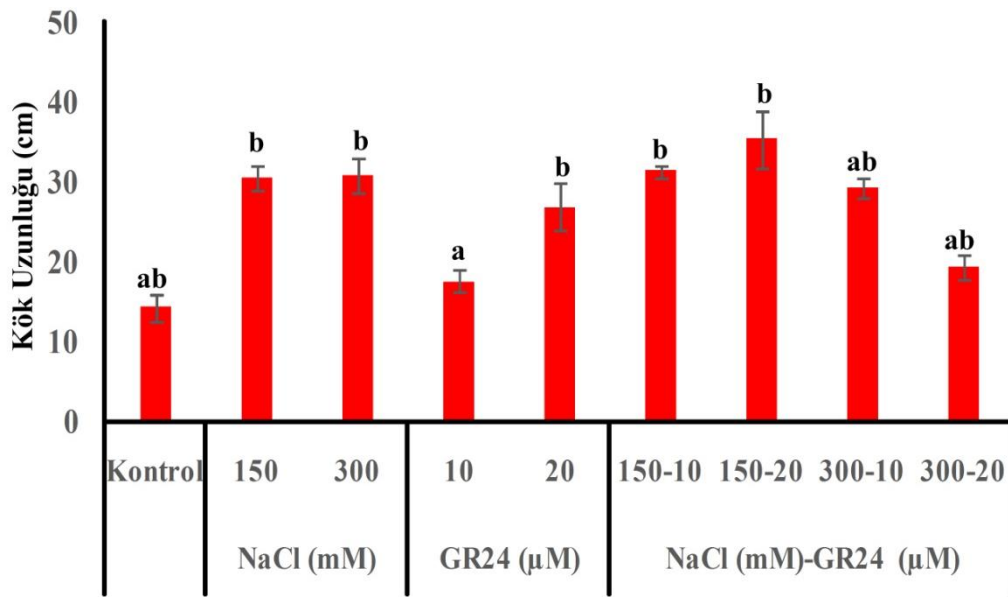
Şekil 4.3. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde uzunluğuna etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM tuz uygulamasının ortalama gövde uzunluğunda %2,1 azalmaya ve 300 mM NaCl uygulamasında ise %7,6 artışa neden olduğu saptanmıştır. Fidelere yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %4,3 artışa ve %1,8 azalmaya neden olmuştur. Bir diğer uygulama olan 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %3,8 artışa ve %3,3 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %4 ve %4,5 oranında azalmaya neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan tuz uygulamasının ortalama gövde uzunluğunda sırasıyla %12,6, %4,5 artışa ve %8,5 oranında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında gövde uzunluğunda sırasıyla %6 artış, %3,3 azalma ve %1,4 artış şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasının Belek bölgesinde %1,4 artış, Urla bölgesinde %0,8 azalma, Longoz bölgesinde %0,3 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasının Belek bölgesinde %3,5 azalmaya, Urla bölgesi %10,3 azalmaya, Longoz bölgesi %1,2 artışa sebep olmuştur.

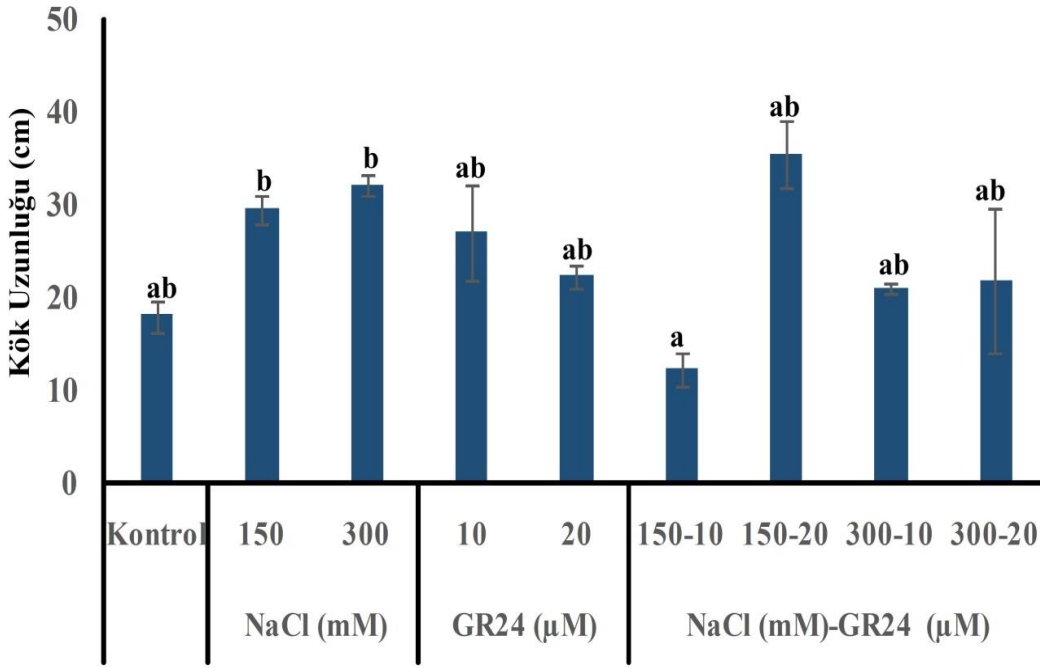
4.2. Kök Uzunluğu

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması kök uzunluğunda kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %114,3 ve %117 artışa neden olduğu saptanmıştır. Fidelere yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının sırasıyla %23,5 ve %88,9 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %120,5 ve %148,8 artışa neden olduğu belirlenmiştir. Fidelere 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %106,1 ve %35,8 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.4).



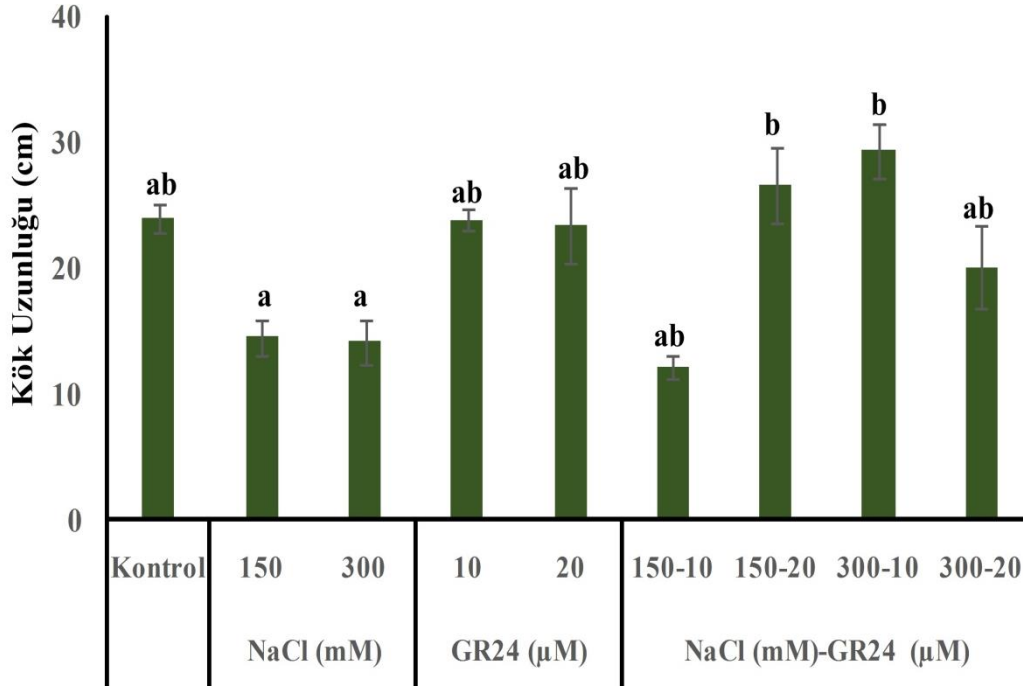
Şekil 4.4. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök uzunluğuna etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Urula bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulamasının kök uzunluğunda sırasıyla %63,9 ve %78 artışa neden olduğu saptanmıştır. 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla kök uzunluğunda sırasıyla %49,7 ve %23,2 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %32,5 azalmaya ve %27,9 artışa sebep olduğu belirlenmiştir. Kum zambağı fidelerine 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları kök uzunluğunda sırasıyla %16,3 ve %21 artışa neden olmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası kök uzunluğuna etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulamasının kök uzunluğunda %39,4 azalma saptanmıştır. Fidelere uygulanan 300 mM NaCl kontrol grubuna kıyasla %41,1 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamaları sırasıyla %0,8 ve %2,7 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %35,4 azalmaya ve %10,4 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %22 artışa ve %16,2 azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.6).



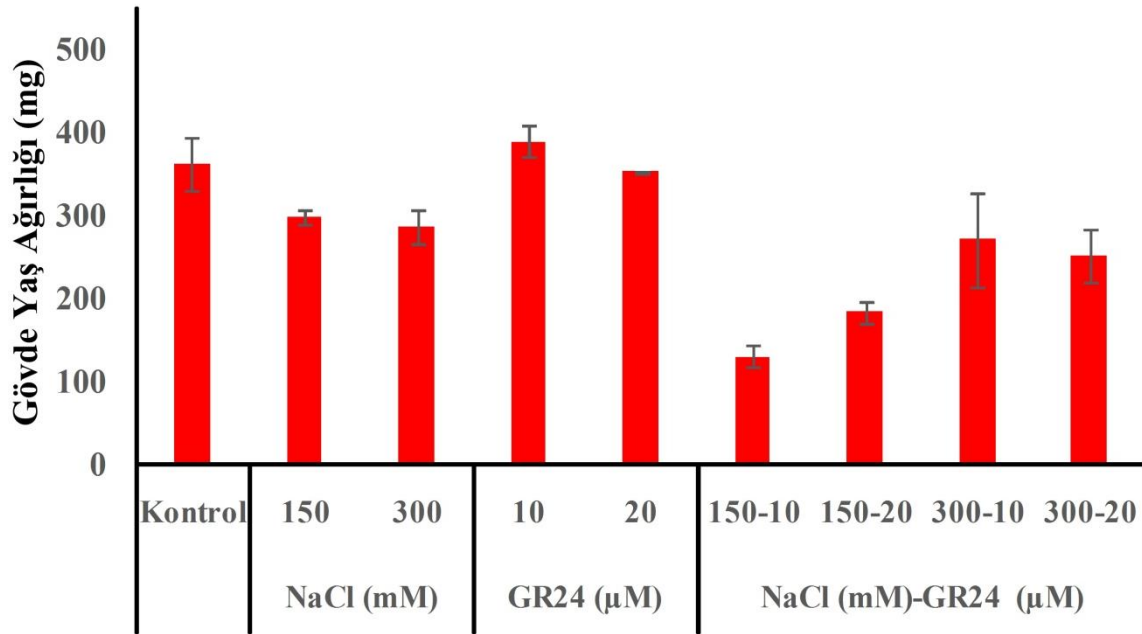
Şekil 4.6. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası kök uzunluğuna etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan 150 mM tuz uygulamasının kök uzunluğunu 150 mM lık NaCl uygulamasında %32,4 artış gözlemlenmiştir. Fidelere uygulanan 300 mM NaCl uygulaması %36,9 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %21,4 ve %28,7 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının sırasıyla %4,9 ve %50,9 artışa neden olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %41,4 ve %8,8 oranında artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kumzambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının kök uzunluğunda sırasıyla %100,9, %52,9 artışa ve %40,2 oranında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında sırasıyla %21,9, %25 artış ve %1,1 azalma şeklinde değişimler saptanmıştır. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %134,7 artışa, Urla bölgesinde %2,2 azalmaya, Longoz bölgesinde %12,5 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %71, Urla bölgesi %18,6, Longoz bölgesi %2,9 artış saptanmıştır.

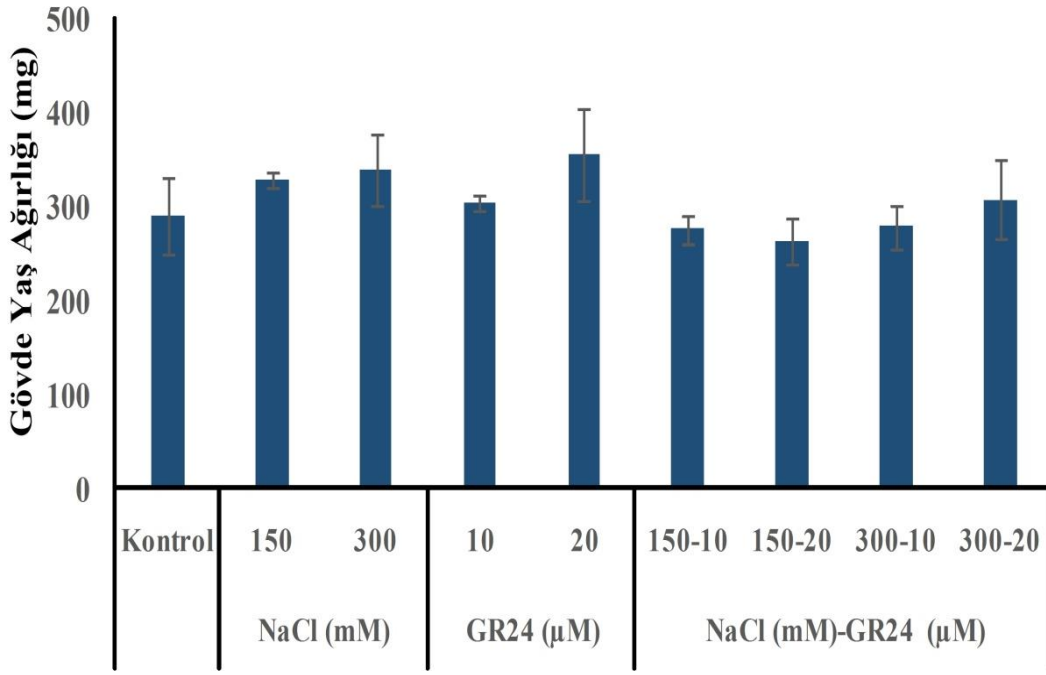
4.3. Gövde Yaş Ağırlığı

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması gövde yaş ağırlığında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %17,6 ve %20,9 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının sırasıyla %7,7 ve %2,6 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %64,1 ve %49,4 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %25,1 ve %30,2 oranında azalmaya neden olmuştur. İstatistiksel değerlendirme sonucunda ortalama değerler arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.7).



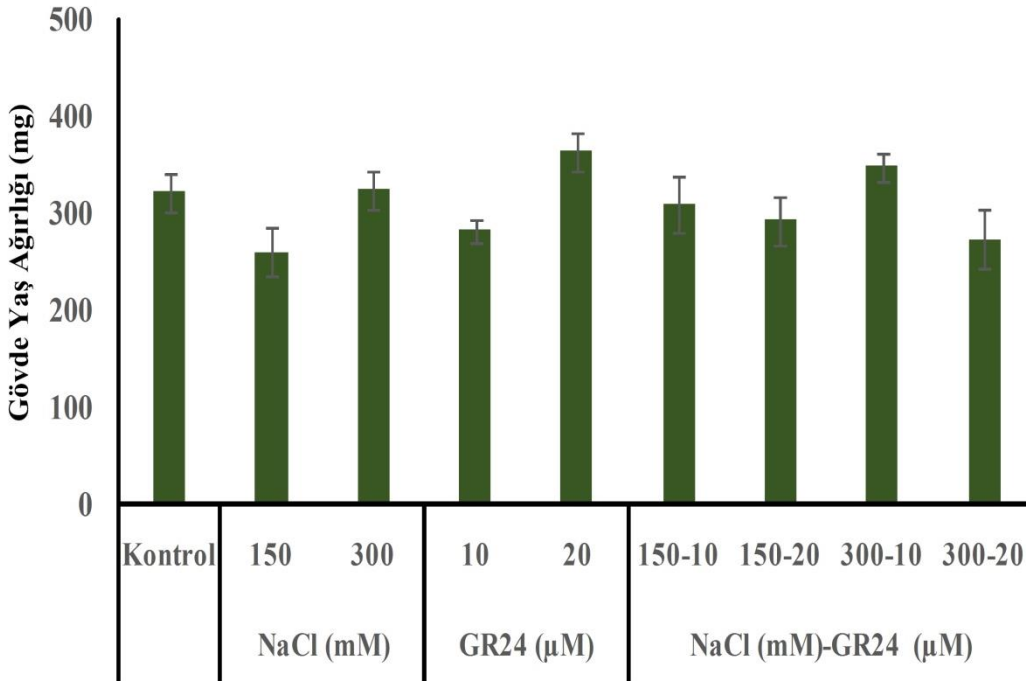
Şekil 4.7. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde yaş ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Urfa bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulamaları gövde yaş ağırlığında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %13,2 ve %17,4 artışa; 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının sırasıyla %4,8 ve %22,8 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulama öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %4,7 ve %9,5 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamalarında 10 μ M %3,7 azalmaya ve 20 μ M %6 artışa neden olmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde yaş ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması gövde yaş ağırlığında %19,1 azalmaya; 300 mM NaCl uygulaması ise %0,7 artışa neden olmuştur. 10 μ M GR24 uygulaması %12,3 azalma, 20 μ M GR24 uygulamasında ise %12,9 artış saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %3,9 ve %8,9 azalmayana neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 ve 20 μ M GR24 uygulaması sırasıyla %8 artışa ve %15 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.9).



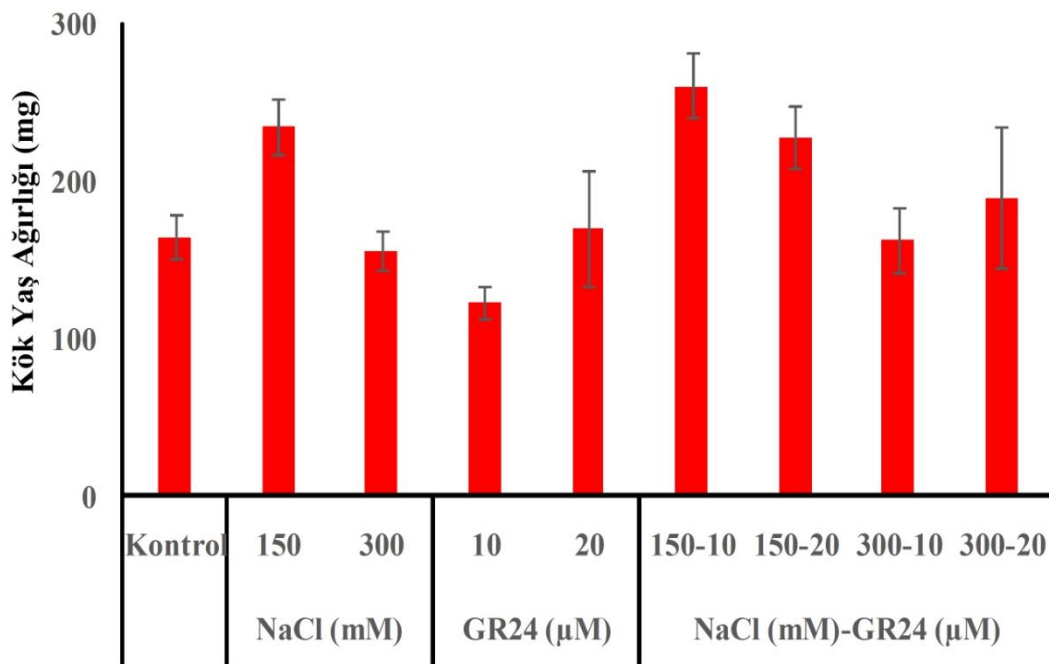
Şekil 4.9. Longoz bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde yaş ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan 150 Mm NaCl uygulamasının gövde yaş ağırlığında %8,9 azalmaya, 300 mM NaCl uygulamasının %2,3 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Fidelere 10 ve 20 μM GR24 uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %0,2 ve %10,1 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %26,5 ve %24,1 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %7,8 ve %14,3 oranında azalmaya neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının gövde yaş ağırlığı sırasıyla %19,3 azalışa, %15,3 artışa ve %9,2 oranında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %24,3 azalış, %13,8 artış ve %0,3 artış meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %56,7 azalma, Urla bölgesinde %7,1 azalma, Longoz bölgesinde %6,4 azalma meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %27,6 azalma, Urla bölgesi %1,1 artış, Longoz bölgesinde %3,5 azalma meydana gelmiştir.

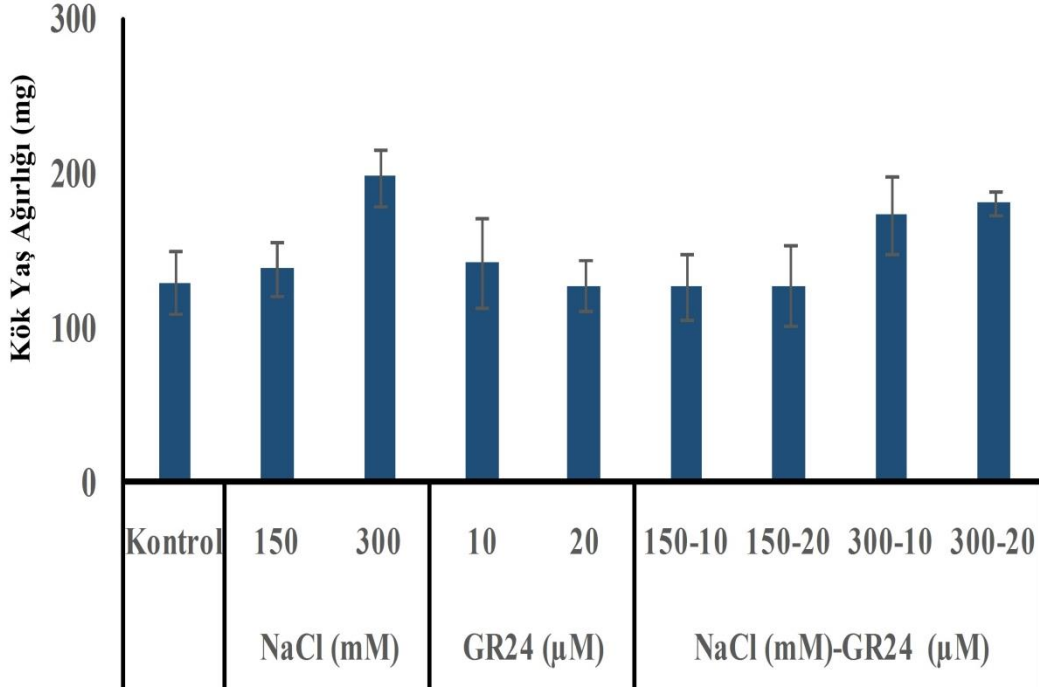
4.4. Kök Yaş Ağırlığı

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulamaları kök yaş ağırlığında sırasıyla %42,4 artışa ve %5,6 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %25,2 azalmaya ve %3,2 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %58,1 ve %38,4 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %1,5 azalmaya ve %15,3 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.10).



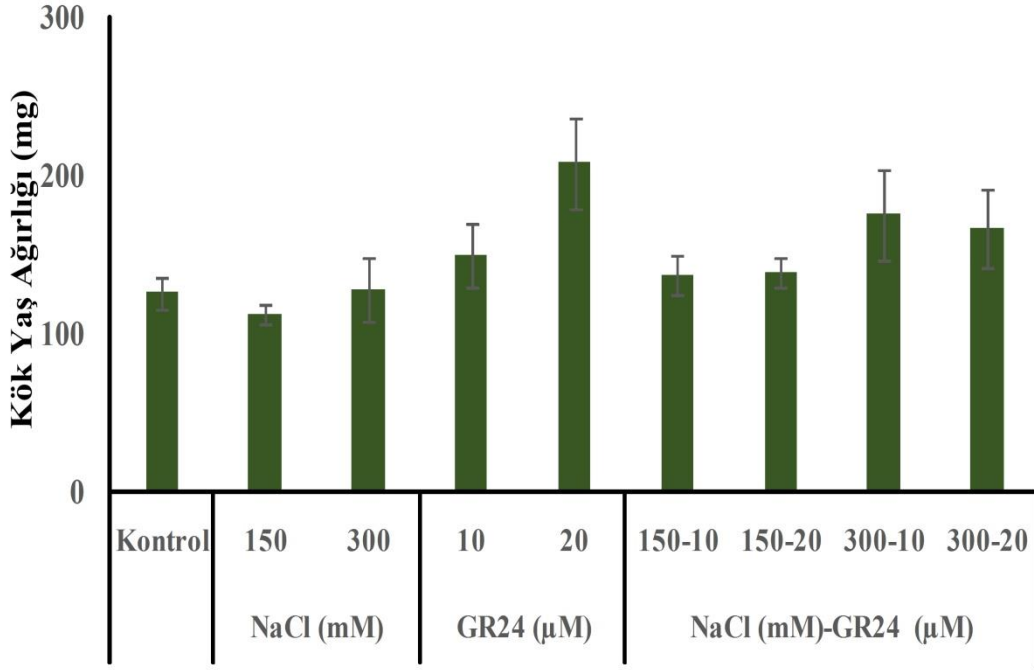
Şekil 4.10. Belek bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök yaş ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Urula bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulamaları kök yaş ağırlığında sırasıyla %7,4 ve %52,7 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %9,8 artışa ve %1,8 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %2,3 ve %1,5 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %34,1 ve %39,5 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.11).



Şekil 4. 11. Urla bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök yaş ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulamasında kök yaş ağırlığı %10,9 azalmaya 300 mM NaCl uygulaması ise %2,1 artışa neden olmuştur. 10 μ M ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %19,4 ve %65,6 artışa neden olduğu saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %9,3 ve %10,5 oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %39,6 ve %32,8 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.12).



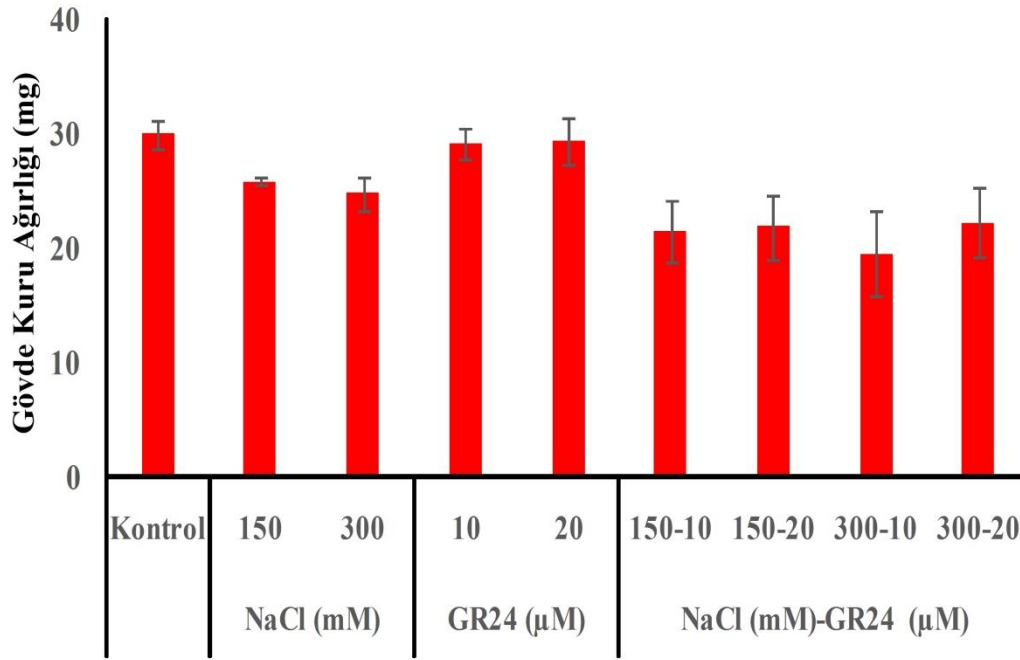
Şekil 4.12. Longoz bölgesi kum zambağının 28 günlük fidelere yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök yaş ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan 150 mM NaCl uygulamasının kök yaş ağırlığında %15,7 artışa, 300 mM NaCl uygulamasının %14,6 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 10 ve 20 μ M GR24 uygulaması kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %1,1 azalmaya ve %20,3 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %24,9 ve %17,8 artışa neden olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %21,7 ve %28 oranında artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan tuz uygulamasının kök yaş ağırlığı sırasıyla %18,3 artışa, %30,1 artışa ve %4,3 oranında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %11 azalma, %4 ve %42,5 artış meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %48,3 artış, Urla bölgesinde %1,5 azalma, Longoz bölgesinde %9,9 artış meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulaması Belek bölgesinde %6,9 artışa, Urla bölgesinde %36,8 artışa, Longoz bölgesinde %36,2 artışa neden olduğu saptanmıştır.

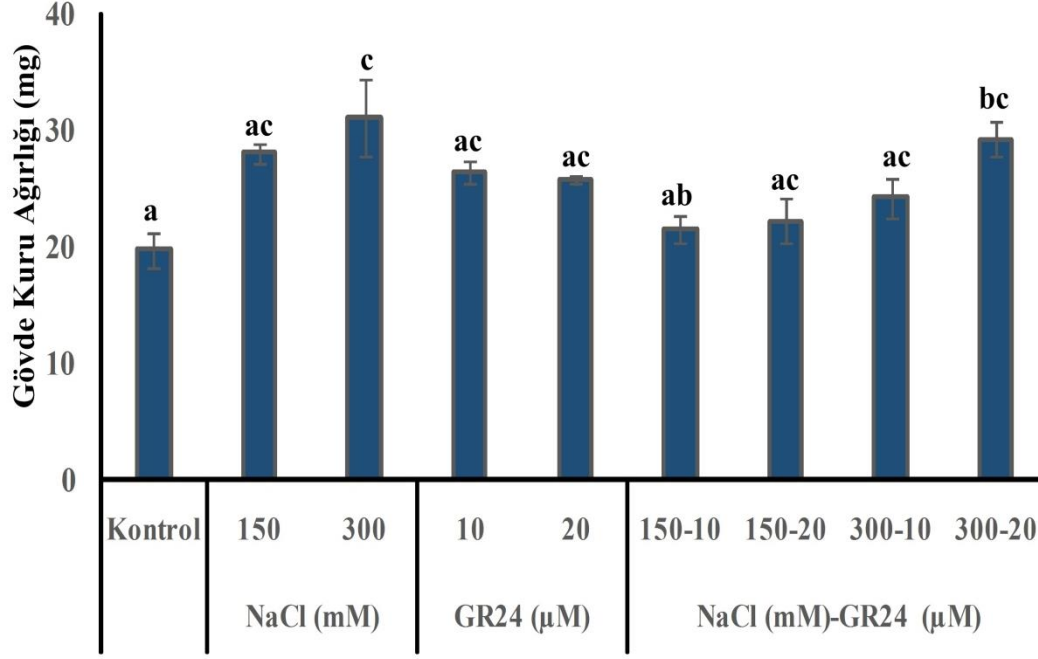
4.5. Gövde Kuru Ağırlığı

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması gövde kuru ağırlığında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %13,9 ve %17 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının sırasıyla %2,6 ve %2 azalışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %28,5 ve %27 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %34,7 ve %25,7 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.13).



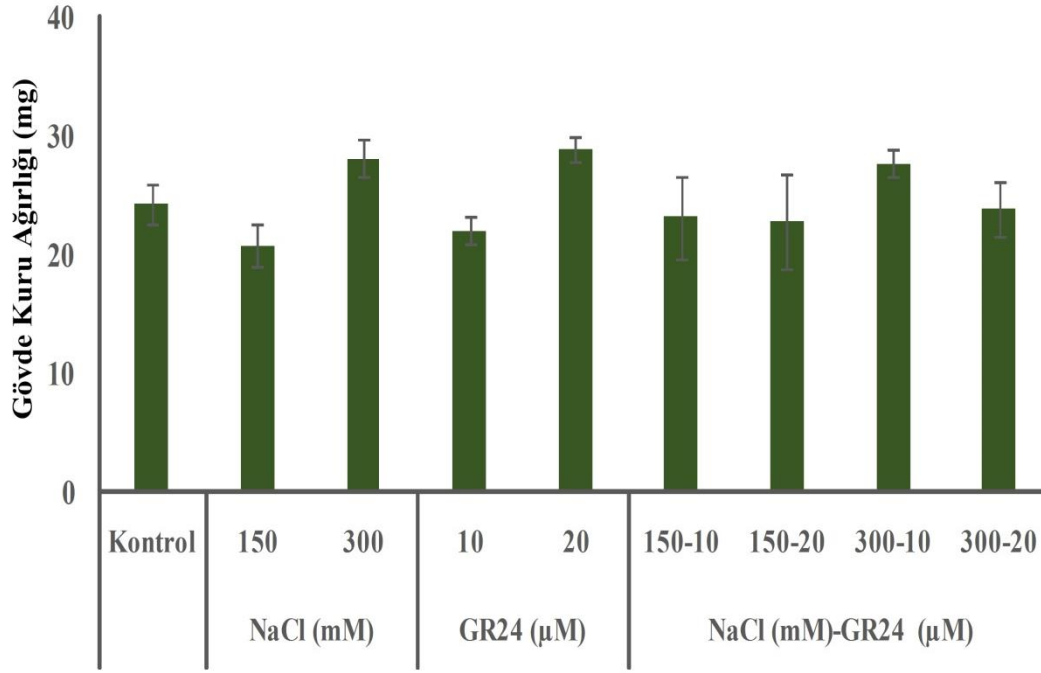
Şekil 4.13. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası gövde kuru ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Urta bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması gövde kuru ağırlığında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %41,9 ve %57,8 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının sırasıyla %33,8 ve %28,6 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %8,9 ve %12,5 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %22,6 ve %48,2 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde kuru ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-c) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması gövde kuru ağırlığında % 14,4 azalmaya, 300 mM NaCl uygulaması ise %15,8 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %9,3 azalmaya ve %19,3 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %4,6 ve %6,1 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 μ M GR24 uygulaması %14,1 artış, 20 μ M GR24 uygulamasında ise %2 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.15).



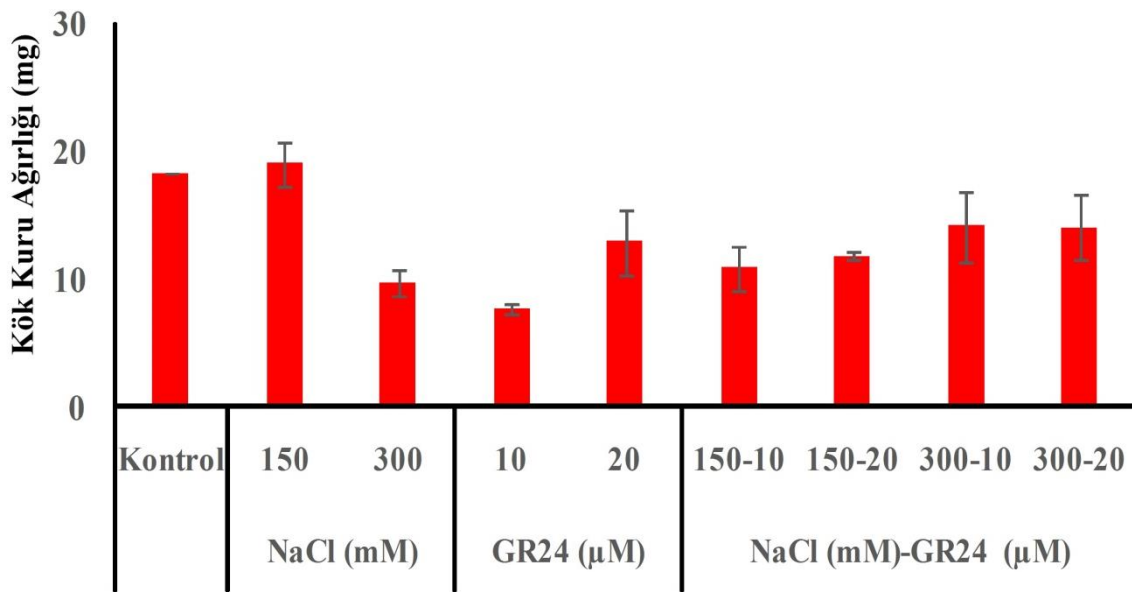
Şekil 4.15. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası gövde kuru ağırlığına etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerinin kıyaslanmasında yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulamasının gövde kuru ağırlığında sırasıyla %0,8 ve %13,7 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %4,8 ve %13,2 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %10,6 ve %9,6 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları ise sırasıyla %3,3 azalmaya ve %1,7 artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan tuz uygulamasının gövde kuru ağırlığında sırasıyla %15,4 azalışa, %23,9 ve %0,6 oranında artışa neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerin gövde ağırlığında sırasıyla %23,7 azalışa, %16,9 ve %5 artışa neden olduğu belirlenmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası yapılan 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %37,9 azalmaya, Urla bölgesinde %2,5 azalmaya, Longoz bölgesinde %16,9 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası yapılan 300 mM NaCl uygulaması Belek bölgesinde %22,9 azalmaya, Urla bölgesinde %59,9 ve Longoz bölgesinde %76,2 artışa neden olmuştur.

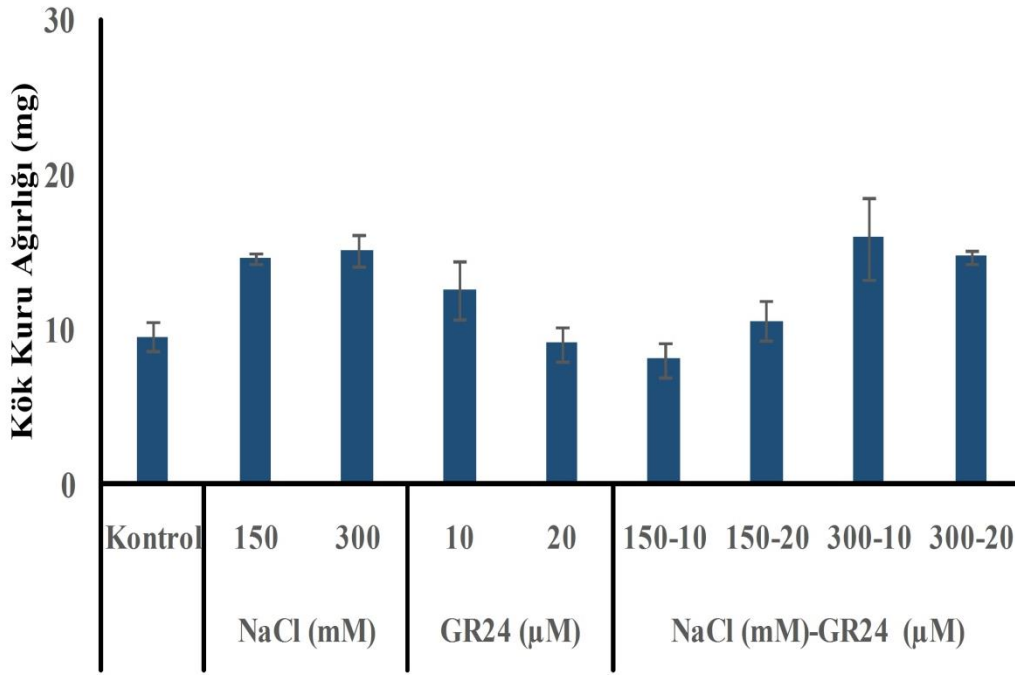
4.6. Kök Kuru Ağırlığı

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması kök kuru ağırlığı %4 artışa 300 mM NaCl uygulaması ise %46,8 azalmaya neden olmuştur. 10 μ M ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %57,7 ve %29,5 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %40,6 ve %35,3 oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %22,6 ve %23,1 azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.16).



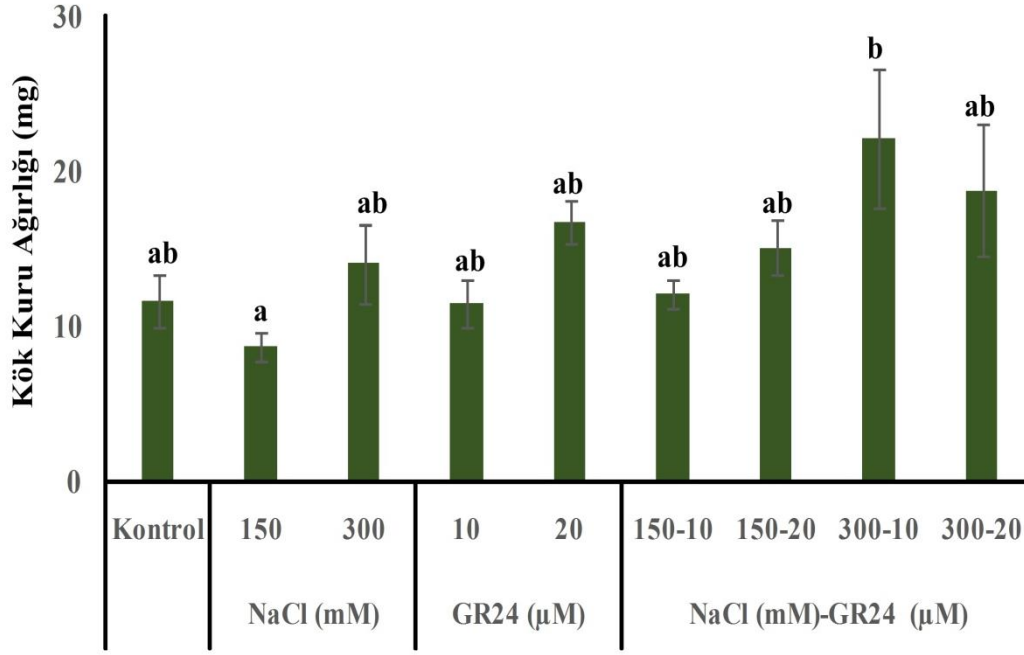
Şekil 4.16. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök kuru ağırlığına (mg) etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Urula bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulaması kök kuru ağırlığında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %52,6 ve %58,3 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının sırasıyla %31 artışa ve %5,2 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %15,3 azalmaya ve %10,2 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %66,2 ve %53,6 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası kök kuru ağırlığına (mg) etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulamasında kök kuru ağırlığı %25,5 azalmaya 300 mM NaCl uygulaması ise %20,9 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %1,1 azalmaya ve %43,9 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %4,3 ve %29,5 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %90,9 ve %61,6 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.18).



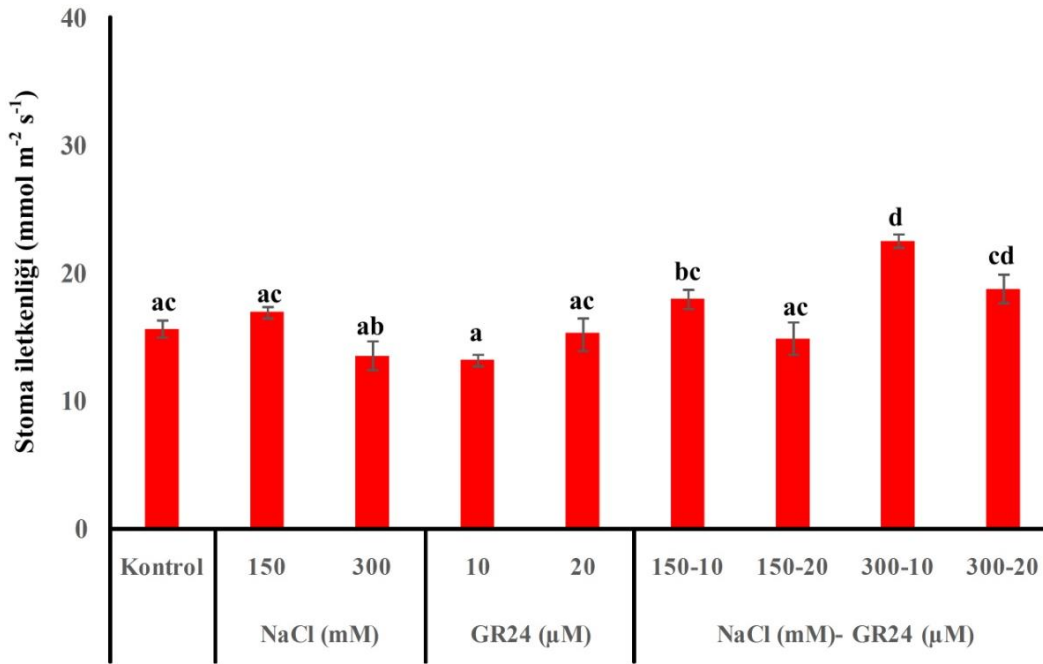
Şekil 4.18. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kök kuru ağırlığına (mg) etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan 150 mM NaCl uygulamasının kıyaslanmasında kök kuru ağırlığı %7,1 artışa 300 mM NaCl uygulaması %1,3 azalmaya neden olduğu belirlemiştir. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %19,5 ve %2 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %21,2 ve %5,1 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %32,2 ve %20,3 oranında artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının kök kuru ağırlığı sırasıyla %13 azalışa, %69,1 artışa ve %2,2 oranında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %18,1 azalışa, %12,8 artış ve %44,9 artış şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %27,8 azalmaya, Urla bölgesinde %10,7 artışa, Longoz bölgesinde %5,4 azalmaya neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %30,2 azalmaya, Urla bölgesi %35,4 artışa, Longoz bölgesi %6 artışa sebep olmuştur.

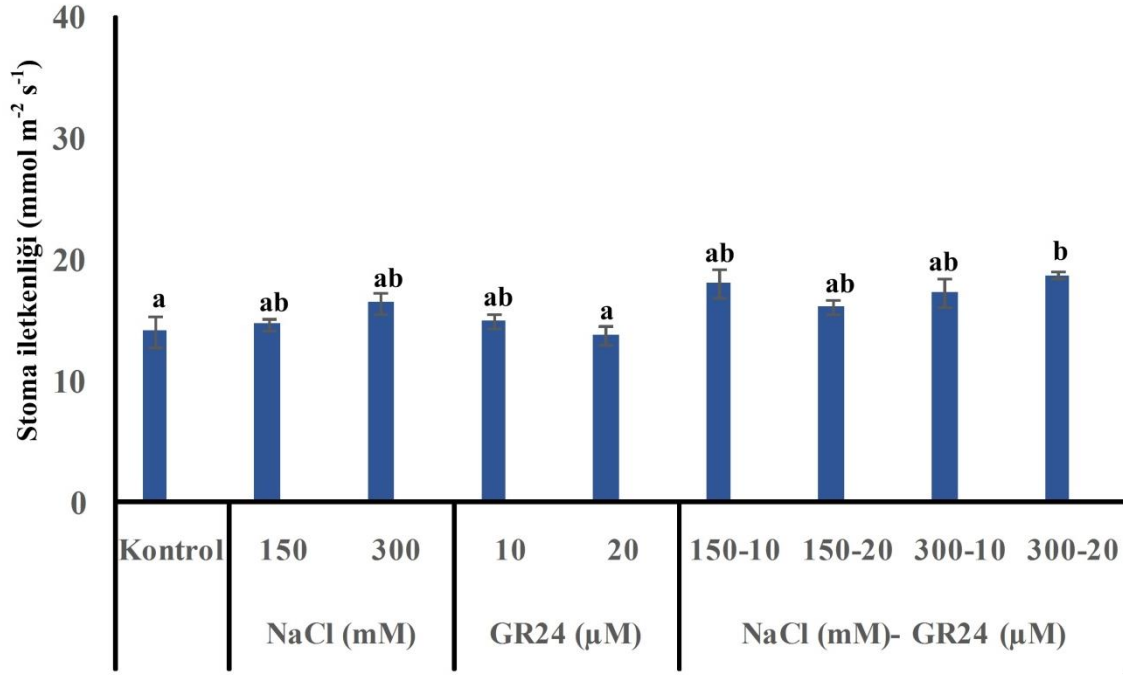
4.7. Stoma İletkenliği

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması stoma iletkenliğinde %8,5 artış olmuştur; 300 mM NaCl uygulaması ise %20,2 azalmaya saptanmıştır. 10 µM uygulamasında %15,7 azalmaya, 20 µM GR24 uygulaması kontrol grubuna kıyasla %2,3 azalmaya neden olmuştur. Fidelere 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının %14,9 artışa ve %4,9 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 µM GR24 uygulaması %44,1 azalmaya neden olmuştur 20 µM GR24 ise %20,4 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.19)



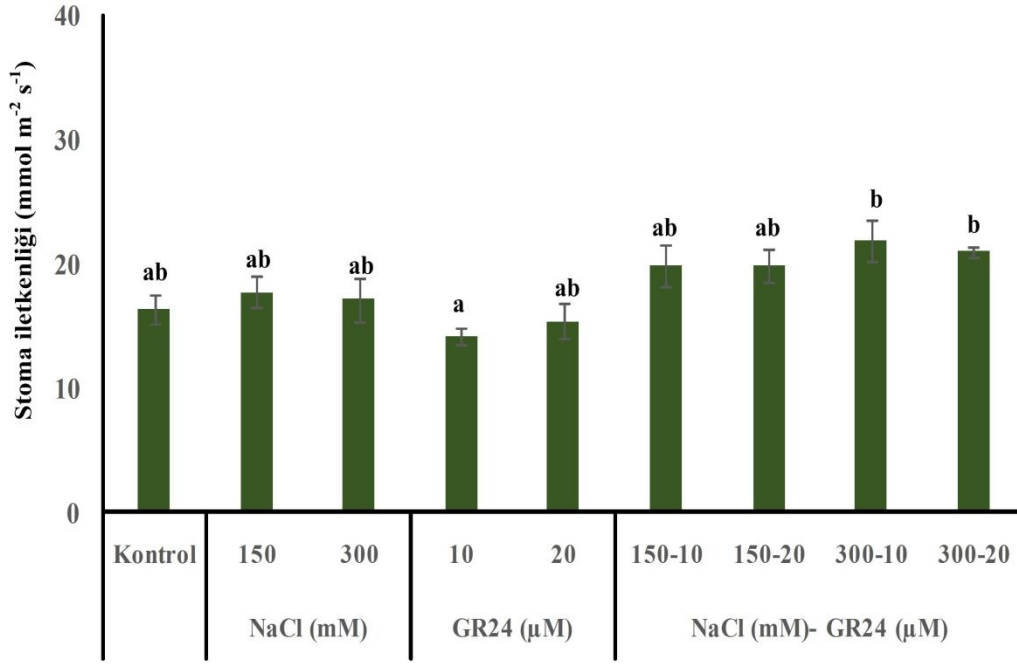
Şekil 4.19. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası stoma iletkenliği (mmol m⁻² s⁻¹) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Urula bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulaması stoma iletkenliğinde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %4,7 ve %16,8 artışa neden olmuştur. Fidelere 10 µM GR24 uygulamasının sırasıyla %15,7 artışa ve 20 µM GR24 uygulamasında ise %2,3 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesinde yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %27,9 ve %14,9 artış sağladığı saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarında %22,7 ve %33,1 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası stoma iletkenliği ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerinin stoma iletkenliği kontrol grubuna kıyasla incelendiğinde, 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulamalarının sırasıyla %8,5 ve %4,8 artışa neden olduğusaptanmıştır. Fidelere 10 ve 20 μM GR24 uygulamasının sırasıyla %13,2 ve %5,7 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan uygulamalarda ise 10 μM GR24 %21,5 artışa ve 20 μM GR24 %21,1 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %33,8 ve %28,1 artışa neden olmuştur(Şekil 4.21).



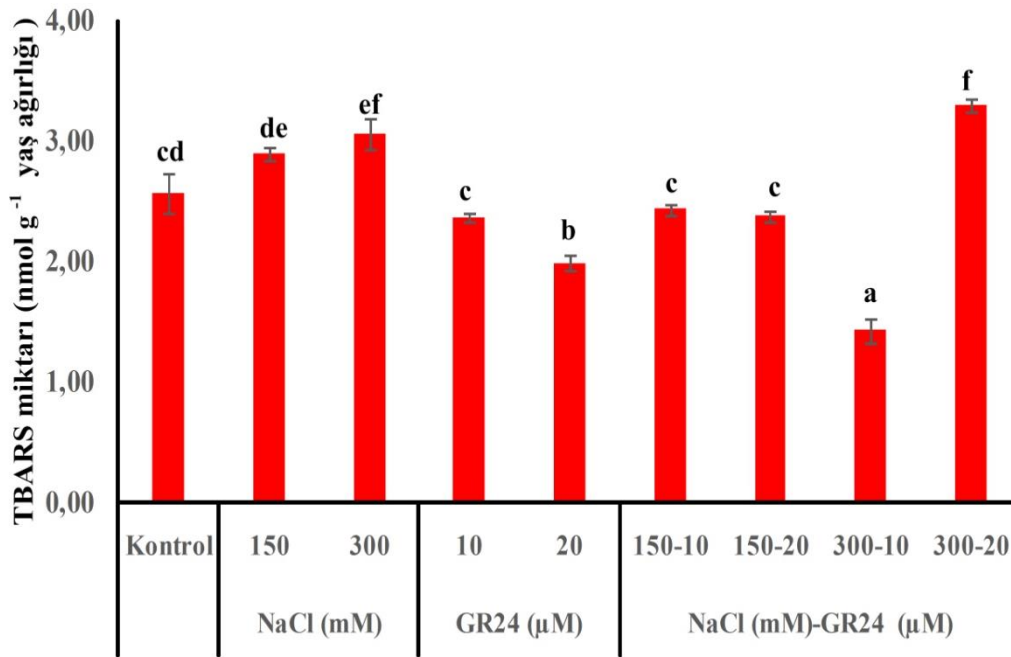
Şekil 4. 1. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası stoma iletkenliği ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Belek, Urla, Longoz bölgelerinin ortalamaları kullanılarak yapılan kontrol bitkilerine göre TBARS miktarı kıyaslandığında 150 mM NaCl %7,4 artışa, 300 mM NaCl %2,3 artışa, 10 μM GR24 %8,2 azalmaya, 20 μM GR24 %3,5 azalmaya sebep olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %21,3 ve %10,4 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamasında %33,9 oranında artışa ve %26,9 oranında artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının stoma iletkenliğinde sırasıyla %2,5 azalmaya, %10,7 ve %6,7 oranında artışa neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %9,1 azalma, %1,7 artış ve %9,4 artış şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 ve 300 mM NaCl uygulamaları yapılan bitkilerin stoma iletkenliğinde GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %5 artışa, Urla bölgesinde %21,4 artışa, Longoz bölgesinde %21,4 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %32,1 azalmaya, Urla bölgesi %28 artışa, Longoz bölgesi %31 artışa sebep olmuştur.

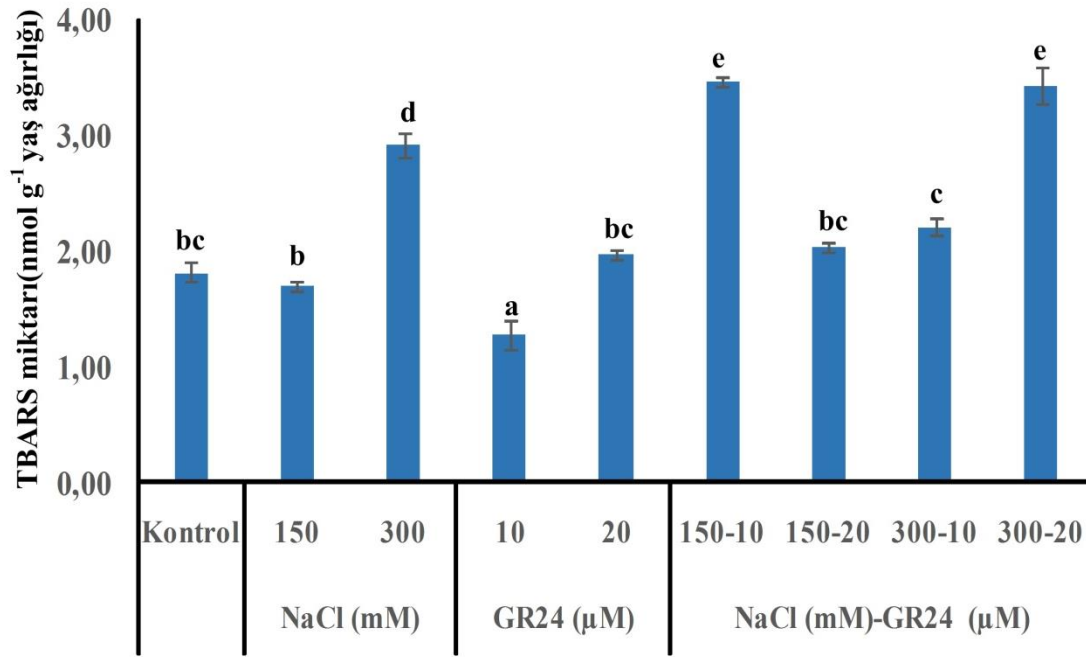
4.8. Lipit Peroksidasyon (TBARS) Miktarı

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine uygulanan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması TBARS miktarı kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %12,6 ve %18,6 artışa gözlemlenmiştir. Fidelere 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının sırasıyla %8,1 ve %22,7 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %5,2 ve %7,5 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 μ M GR24 uygulamasında %44,7 azalmaya; 20 μ M GR24 ön uygulamasında %28,1 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.22).



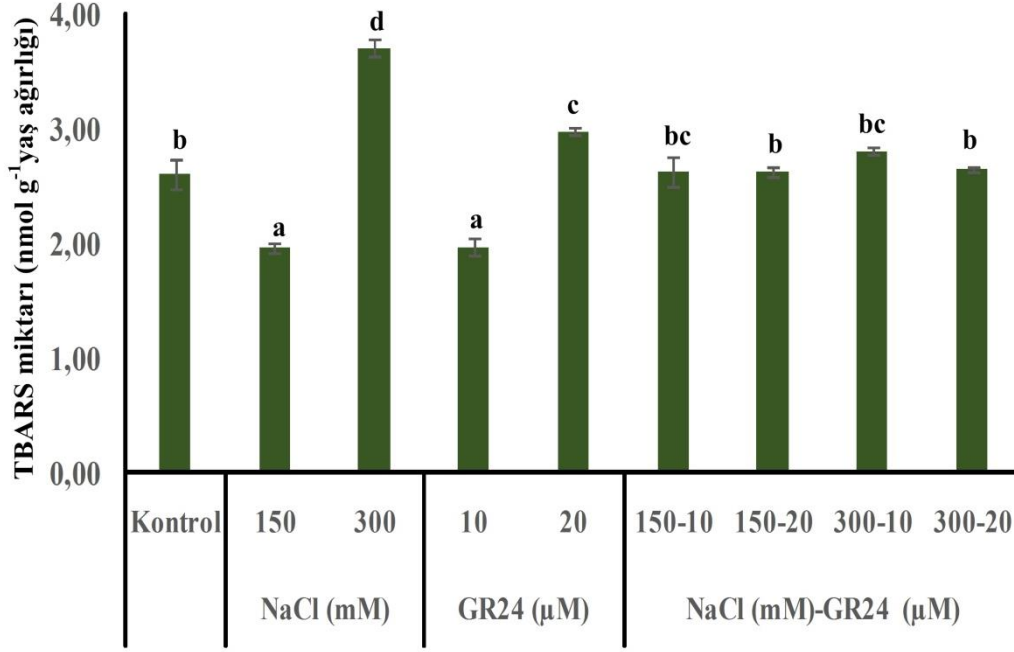
Şekil 4.22. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası TBARS miktarı (nmol g⁻¹ yaş ağırlık) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-f) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Urfa bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması TBARS miktarı %6,4 azalmaya; 300 mM NaCl uygulaması ise %60,2 artışa neden olmuştur. 10 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %29,2 azalmaya neden olmuşken 20 μ M GR24 %8,6 artışa saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %90,3 ve %11,8 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulamasından önce yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamaları ise sırasıyla %21,4 ve %88,2 oranında TBARS miktarında artışa neden olmuştur (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası TBARS miktarı (nmol g⁻¹ yaş ağırlık) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması TBARS miktarında %24,7 azalmaya; 300 mM NaCl uygulamasında ise %42,5 artışa neden olmuştur. Fidelere uygulanan 10 µM GR24 TBARS miktarında %24 azalmaya; 20 µM GR24 uygulamasında ise %14,6 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %0,8 ve %0,1 artışa neden olduğu belirlenmişken; 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %8 ve %2,1 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.24).



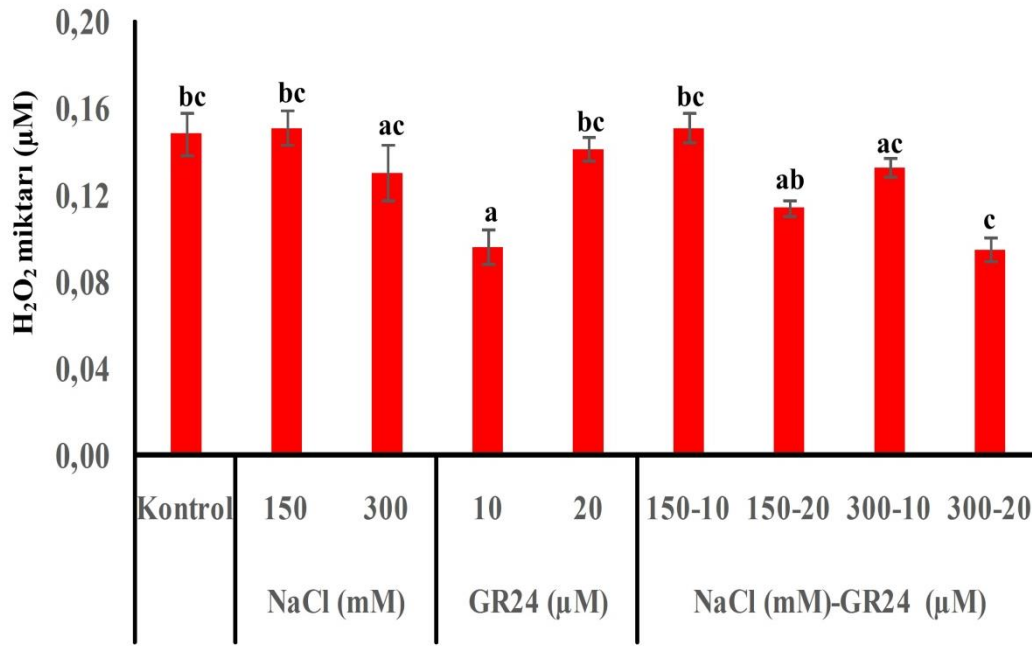
Şekil 4.24. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası TBARS miktarı (nmol g⁻¹ yaş ağırlık) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan tuz uygulamasının TBARS miktarı sırasıyla %15,6 artışa, %26,9 artışa ve %8,9 artışa oranında neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %15,4 azalma, %10,5 azalmaya ve %4,6 azalmaya şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %6,3 azalmaya, Urla bölgesinde %51 artışa, Longoz bölgesinde %0,4 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %8,3 azalmaya, Urla bölgesi %54,8 artışa, Longoz bölgesi %5,1 artışa sebep olmuştur.

Belek, Urla, Longoz bölgelerinin ortalamaları kullanılarak yapılan kontrol bitkilerine göre TBARS miktarı kıyaslandığında 150 mM NaCl %6,2 azalmaya, 300 mM NaCl %38,4 artışa, 10 µM GR24 %19,7 azalmaya, 20 µM GR24 %10,6 azalmaya sebep olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %21,9 ve %0,3 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamasında %7,8 oranında azalmaya ve %34,1 oranında artışa neden olmuştur.

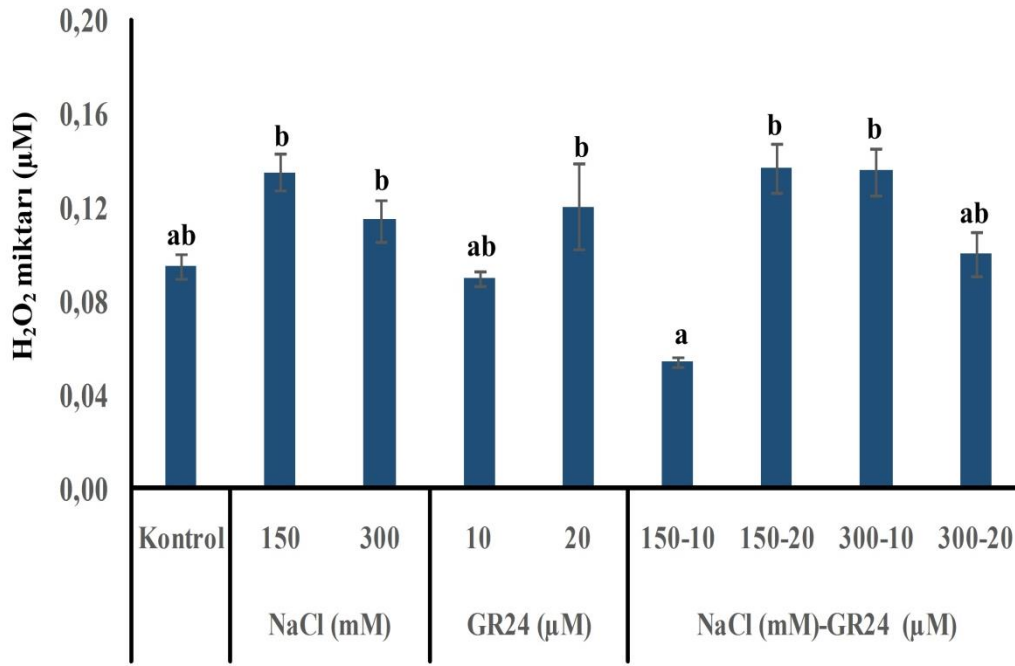
4.9. H₂O₂ Miktarı

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması H₂O₂ miktarını %1,9 artış saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması %11,8 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %35,1 ve %4,4 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %2,3 artışa ve %22,9 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 ve 20 µM GR24 uygulaması sırasıyla %10,2 ve %12,4 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.25).



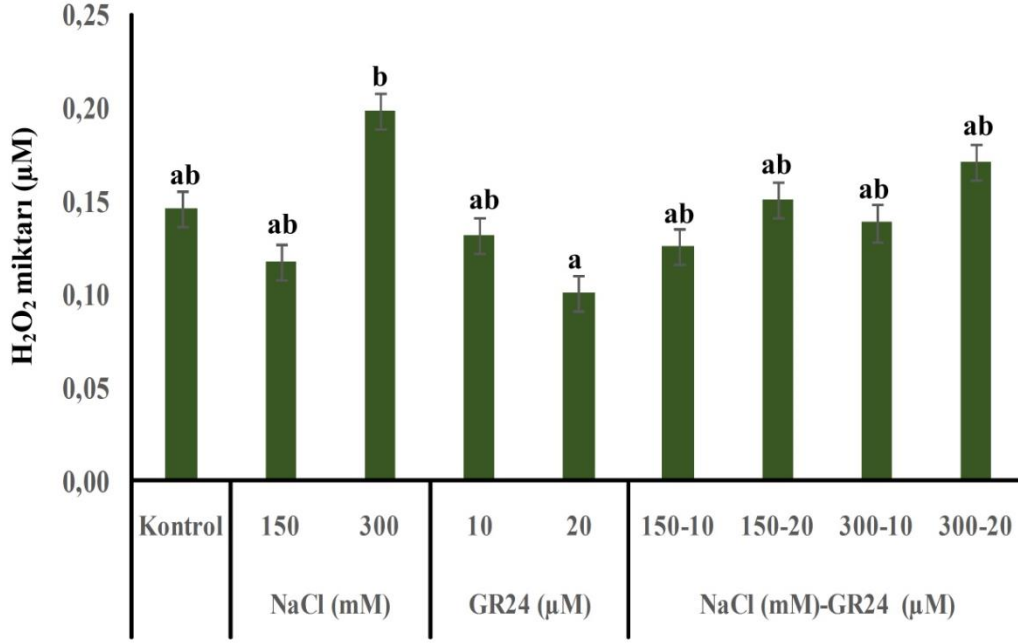
Şekil 4.25. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası H₂O₂ miktarı (µM) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-c) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Urla bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması H₂O₂ miktarında sırasıyla %42,7 ve %20,8 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %5,2 azalmaya ve %26,8 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %42,6 azalmaya ve %44,4 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %43,6 ve %5,7 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası H₂O₂ miktarı (µM) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması H₂O₂ miktarını %19,6 azalmaya 300 mM NaCl uygulamasında ise %35,7 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla %9,6 ve %30,6 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %13,5 azalmaya ve %3,6 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %5,2 azalmaya ve %16,9 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası H₂O₂ miktarı (µM) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Belek, Urla, Longoz bölgelerinin ortalamaları kullanılarak yapılan kontrol bitkilerine göre kıyaslandığında H₂O₂ miktarı sırasıyla 150 mM NaCl %3,7 artışa, 300 mM NaCl %13,9 artışa, 10µM GR24 %18,2 azalmaya, 20 µM GR24 %6,6 azalmaya sebep olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %14,5 azalmaya ve %3,4 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %4,6 artışa ve %12,5 oranında artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının H₂O₂ miktarı sırasıyla %4,9azalmaya, %31,7 artışa ve %8 artışa oranında neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %19,7 azalma, %10,8 artışa ve %20,1 azalmaya şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 Mm NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %10,2 azalma, Urla bölgesinde %0,8 artışa, Longoz bölgesinde %4,9 azalmaya neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %1 artışa, Urla bölgesi %24,4 artışa, Longoz bölgesi %5,8 artışa sebep olmuştur.

4.10. SOD Aktivitesi ve İzoenzimleri

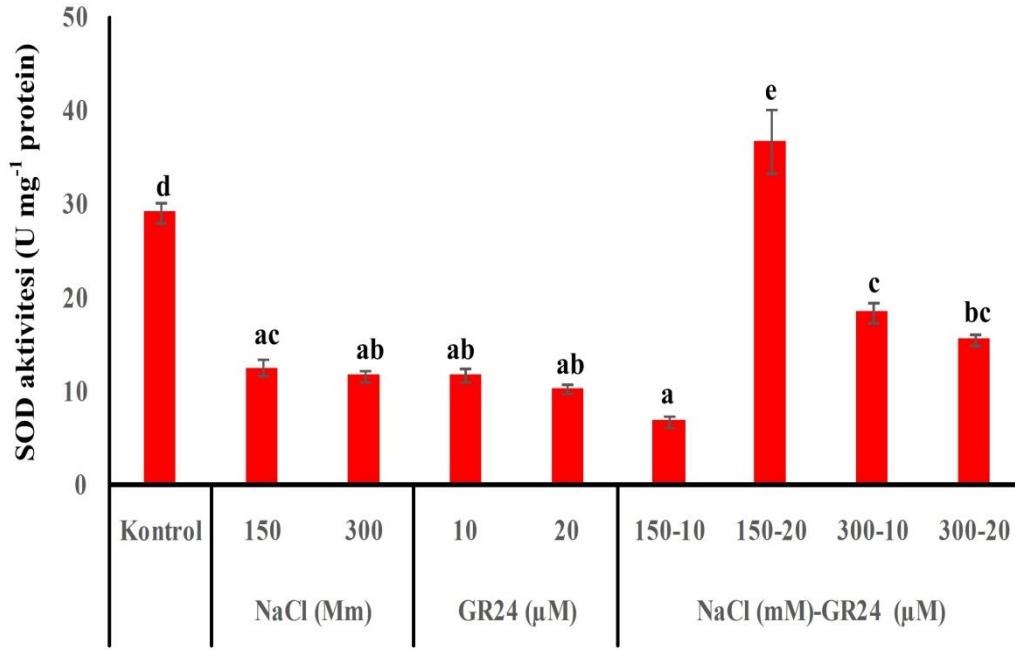
Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması SOD aktivitesi sırasıyla %56,9 ve %60 azalma saptanmıştır. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %59,8 ve %64,7 azalma belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %76,6 azalmaya ve %26 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %36,7 ve %46,6 oranında azalmaya neden olmuştur.

Belek bölgesi kum zambağı fideleri SOD izoenzim sonuçlarını incelediğimizde yapılan uygulamalarda MnSOD gözlenmemiştir (Şekil 4.28). FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunluğu kontrol grubunda sırasıyla %7,2, %32,1, %15,5, %25,1, %20,2 olarak belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %15, %69,9, %41,4, %37,5, %15,1 olarak saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %7,3, %11,1, %7,6, %5,8, %68,3 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM uygulamasının Fe-SOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %16,2, %52,3, %31,5 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 sırasıyla %12,7, %34,2, %10,6, %22,3, %43,4 bant yoğunluğu saptanmıştır. 150T-10GR24 uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunluğu sırasıyla %8,4, %32,6, %29,5, %17, %12,5 olarak belirlenmiştir. 150T-20GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 sırasıyla %10,9, %39,2, %19,4, %13,2, %17,3 olarak belirlenmiştir. 300T-10GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları sırasıyla %15,6, %31,2, %29, %13,7, %10,6 oranları belirlenmiştir. 300T-20GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 %6,8, %16,2, %5,8, %4,3, %66,9 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.28, Çizelge 4.1).

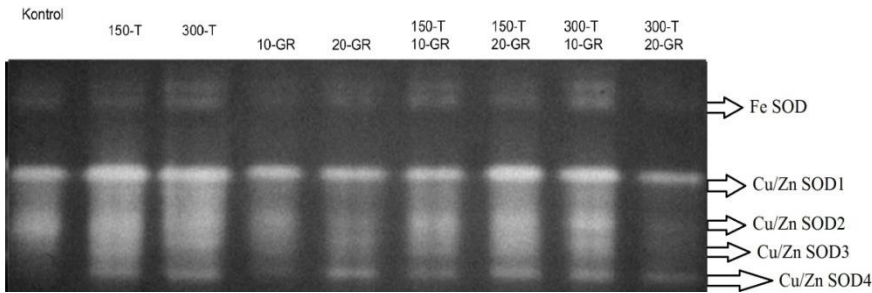
Çizelge 4. 1. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10günlük NaCl stresi sonrası SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: μ M GR24).

BELEK	Kontrol (%)	150-T (%)	300-T (%)	10-GR (%)	20-GR (%)	150-T 10-GR (%)	150-T 20-GR (%)	300-T 10-GR (%)	300-T 20-GR (%)
FeSOD	7,2	15	7,3	16,2	12,7	8,4	10,9	15,6	6,8
Cu/Zn SOD1	32,1	69,9	11,1	52,3	34,2	32,6	39,2	31,2	16,2
Cu/Zn SOD2	15,5		7,6	31,5	10,6	29,5	19,4	29	5,8
Cu/Zn SOD3	25,1		5,8		22,3	17	13,2	13,7	4,3
Cu/Zn SOD4	20,2	15,1	63,8		44,2	12,5	17,3	10,6	66,9
Toplam (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

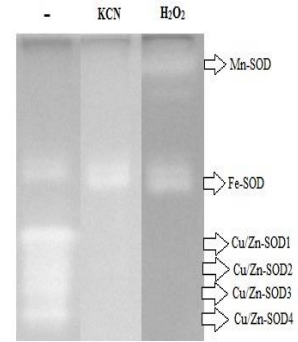
a)



b)



c)



Şekil 4.28. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) SOD aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) SOD izoenzim jel görüntüsü. c) SOD inhibitör çalışması.

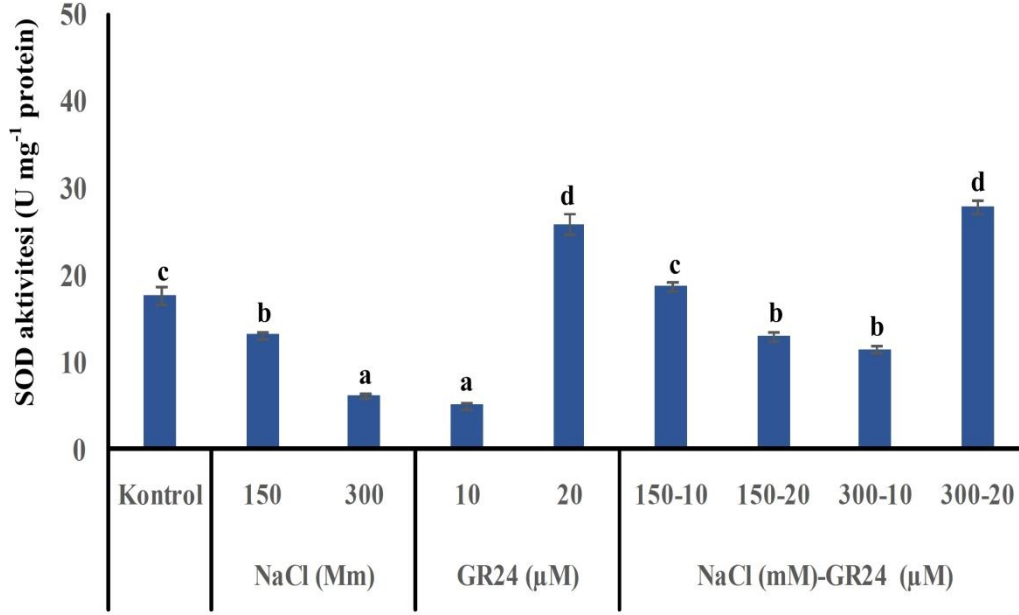
Urla bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması SOD aktivitesi kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %25 ve %64,4 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının sırasıyla %71,3 azalmaya ve %46,2 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %6,3 artışa ve %26,1 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 ve 20 µM GR24 uygulamaları ise sırasıyla %34,8 azalmaya ve %57,8 oranında artış gözlemlenmiştir (Şekil 4.29).

Urla bölgesi kum zambağı fideleri SOD izoenzim sonuçlarını incelediğimizde yapılan uygulamalarda MnSOD gözlenmemiştir (Şekil 4.29). FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunluğu kontrol grubunda sırasıyla %14,7, %30,7, %54,6 olarak belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %0,3, %11, %41,4, %37,5, %9,7 olarak saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/Zn-SOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %16,2, %35, %38,9, %9,9 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %67,2, %12,1, %20,7 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3 sırasıyla %22,3, %31,1, %34,4, %12,2 yoğunluğu saptanmıştır. 150T-10GR24 uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3 yoğunluğu sırasıyla %22,8, %31, %42,1, %4,1 olarak belirlenmiştir. 150T-20GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/Zn-SOD3, Cu/ZnSOD4 sırasıyla %19,6, %58,1, %4,8, %17,6 olarak belirlenmiştir. 300T-10GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3 yoğunlukları sırasıyla %46, %14,6, %31,9, %7,5 oranlarında belirlenmiştir. 300T-20GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 %78, %6,9, %15,1 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

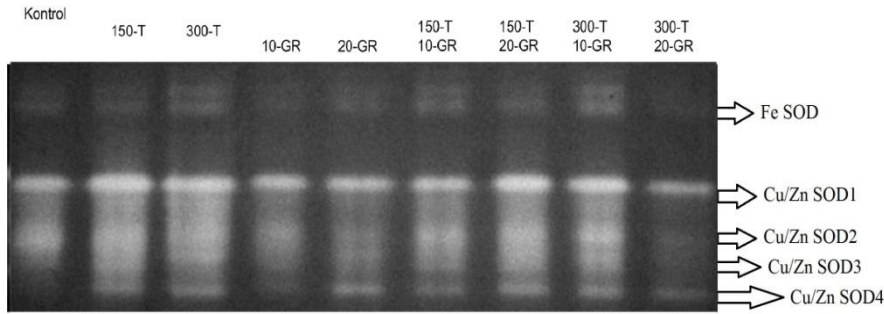
Çizelge 4. 2. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: μ M GR24).

URLA	Kontrol (%)	150-T (%)	300-T (%)	10-GR (%)	20-GR (%)	150-T 10-GR (%)	150-T 20-GR (%)	300-T 10-GR (%)	300-T 20-GR (%)
FeSOD	14,7	0,3	14,7	67,2	19,7	23,2	15,6	21	28,1
Cu/Zn SOD1	30,7	11	31,7	12,1	27,5	31,7	46,3	39,6	44,3
Cu/Zn SOD2	54,6	41,4	35,2	20,7	30,3	34,8	6,1	18,1	
Cu/Zn SOD3		37,5	9,0		10,8	4,2	14	9,2	
Cu/Zn SOD4		9,7	9,4		11,8	6,2	11,5	12,4	38,4
Toplam (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

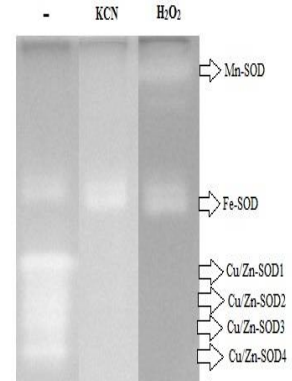
a)



b)



c)



Şekil 4.29. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) SOD aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) SOD izoenzim jel görüntüsü. c) SOD inhibitör çalışması.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması SOD aktivitesi %19,5 artış; 300 mM NaCl uygulaması ise %25,9 azalma belirlenmiştir. 10 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla %39,2 azalma; 20 μ M GR24 uygulamasının %171,2 artışa neden olduğu saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %19,4 ve %143,6 artışa neden olduğu

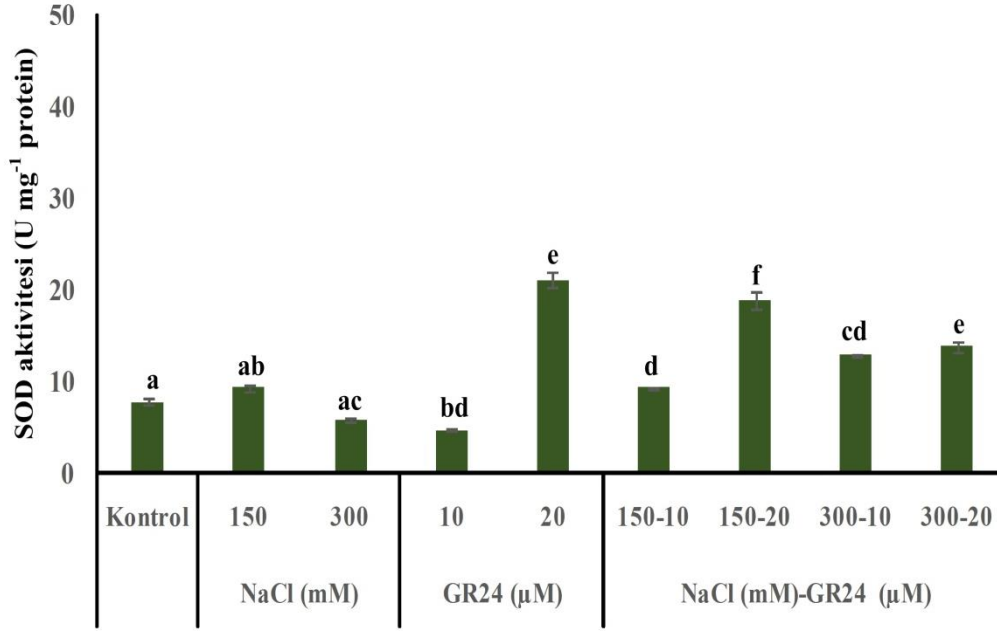
belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %65,4 ve %78,3 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 30).

Longoz bölgesi kum zambağı fideleri SOD izoenzim sonuçlarını incelediğimizde yapılan uygulamalarda Mn-SOD gözlenmemiştir (Şekil 4.30). FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunluğu kontrol grubunda sırasıyla %1,5, %19,6, %8,9, %6,8, %63,1 olarak belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %1,1 %16,7 %12, %5,4, %64, olarak saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %0,7, %13, %9,3, %32,7, %44,3 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/Zn-SOD4 yoğunlukları incelendiğinde sırasıyla %29,4, %1, %10,9, %5,3, %53,3 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM yukarıdaki sırayla %1,2, %0,7, %6,6, %42,8, %48,7 yoğunluğu saptanmıştır. 150T-10GR24 uygulamasının FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD4 yoğunluğu sırasıyla %64,3, %2,1, %33,4, %0,3 olarak belirlenmiştir. 150T-20GR24 uygulamasında Fe-SOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD4 sırasıyla %0,6, %8,9, %4,9, %50,2, %35,4 olarak belirlenmiştir. 300T-10GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 yoğunlukları sırasıyla %0,9, %42,2, %4,6, %15,8, %36,5 oranlarında belirlenmiştir. 300T-20GR24 uygulamasında FeSOD, Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4 %1,3, %0,7, %10,9, %0, %87 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

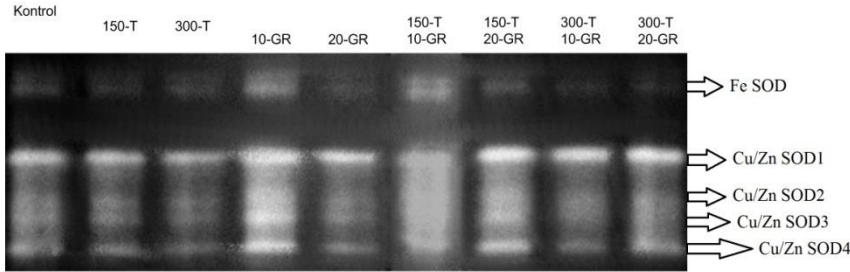
Çizelge 4. 3. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: µM GR24).

LONGOZ	Kontrol (%)	150-T (%)	300-T (%)	10-GR (%)	20-GR (%)	150-T 10-GR (%)	150-T 20-GR (%)	300-T 10-GR (%)	300-T 20-GR (%)
FeSOD	1,5	1,1	0,7	29,4	1,2	64,3	0,6	0,9	1,3
Cu/ZnSOD1	19,6	16,7	13	1	0,7	2,1	8,9	42,2	0,7
Cu/ZnSOD2	8,9	12	9,3	10,9	6,6	33,4	4,9	4,6	10,9
Cu/ZnSOD3	6,8	5,4	32,7	5,3	42,8		50,2	15,8	0,0
Cu/ZnSOD4	63,1	64,9	44,3	51,3	48,7	0,3	35,4	36,5	87,0
Toplam (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

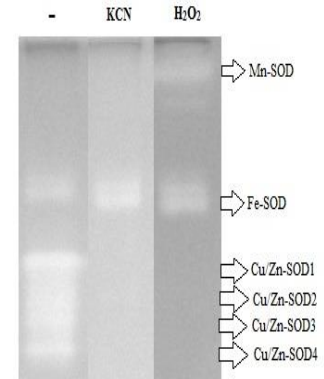
a)



b)



c)



Şekil 4.30. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) SOD aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-f) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) SOD izoenzim jel görüntüsü. c) SOD inhibitör çalışması.

Belek, Urla, Longoz bölgelerinin ortalamaları kullanılarak hesaplanan SOD miktarı kontrol bitkilerine göre kıyaslandığında 150 mM NaCl %35,7, 300 mM NaCl %56,6, 10 μ M GR24 %60,6 azalma belirlenirken 20 μ M GR24 %4,7 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla

sırasıyla %36,1 azalmaya ve %25,8 artışa artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %21,6 azalmaya ve %4,8 oranında artışa neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının SOD miktarı sırasıyla %58,5, %44,7 ve %3,1 azalmaya oranında neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %95,5 azalma, %12,5 azalmaya ve %66,2 artış şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %25,2 azalma, Urla bölgesinde %9,9 azalmaya, Longoz bölgesinde %81,5 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 Mm NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %41,7 azalmaya, Urla bölgesi %11,5 artışa, Longoz bölgesi %71,9 artışa sebep olmuştur.

4.11. POX Aktivitesi ve İzoenzimleri

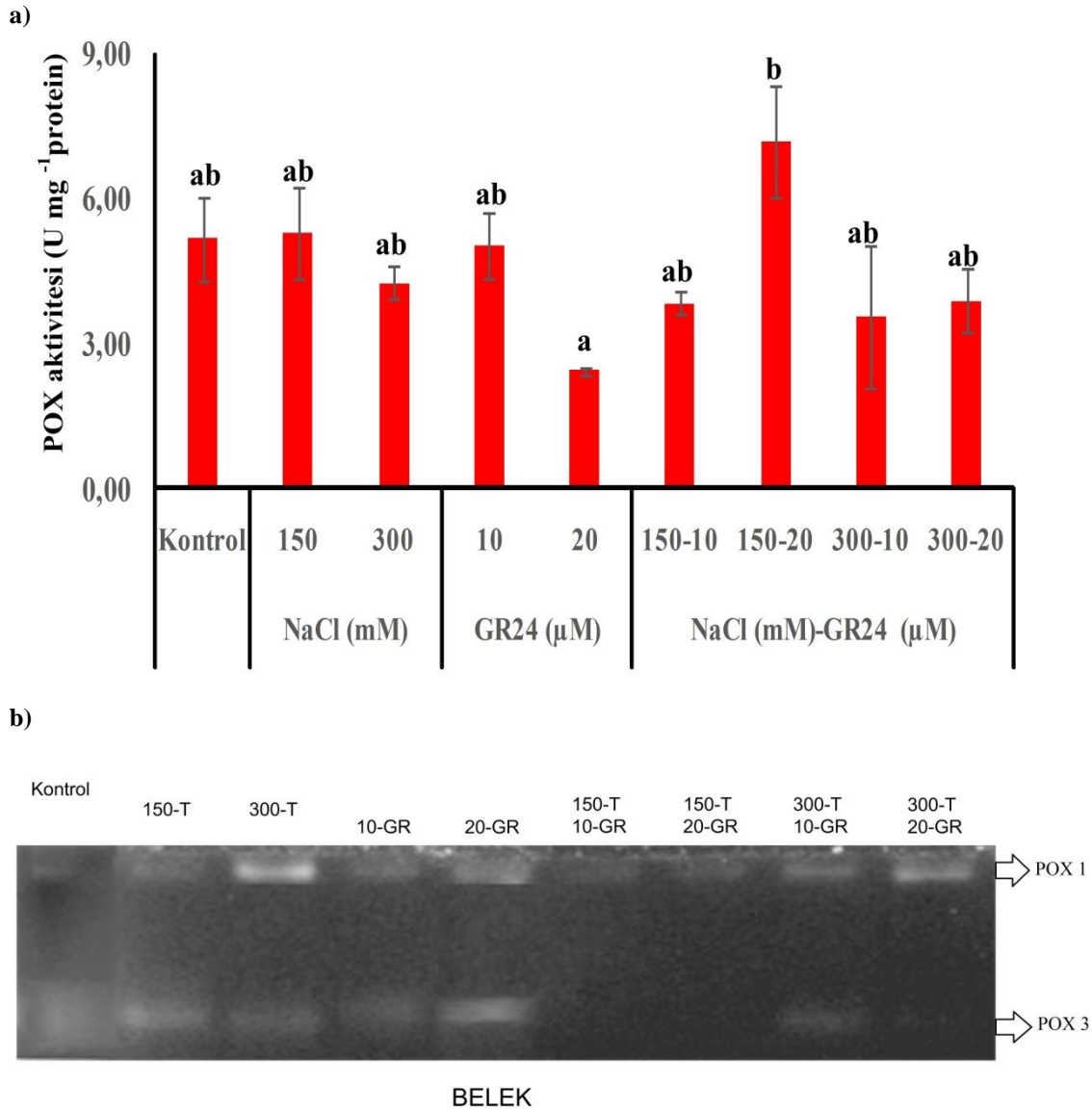
Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması POX aktivitesinde %2,1 artışa 300 mM NaCl uygulaması ise %17,5 artışa neden olmuştur. 10 ve 20 μ M GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %2,2 ve %52,7 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %25,6 azalmaya ve %39,4 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %30,8 ve %24,6 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.31).

Belek bölgesi kum zambağı fideleri POX izoenzim sonuçlarını incelediğimizde yapılan uygulamalarda POX1 in temel bant olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.31). POX1'in yoğunluğu kontrol grubunda %15,6 olarak saptanmıştır. Tuz uygulamalarının sonuçları incelendiğinde 150 mM NaCl %0,8 gözlemlenmiş, 300 mM NaCl %59 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. 10 μ M GR24 uygulamasında %19,2 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 μ M GR24 uygulamasında %11,4 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %100, 150T-20GR24 %100, 300T-10GR24 %48,3, 300T-20GR24 %90 yoğunluğunda bant belirlenmiştir. POX2 hiçbir uygulamada gözlenmemiştir. POX3 bant sonuçlarına incelediğimizde kontrol grubunda %98,9 olarak saptanmıştır. Tuz uygulamalarının sonuçları incelendiğinde 150 mM NaCl %99,1 belirlenmemiştir, 300 mM NaCl %40,9 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. 10 μ M GR24 uygulamasında %76 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 μ M GR24 uygulamasında %88,5 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 ve 150T-20GR24 bantlaşma gözlemlenmemiştir.

300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %22,8 ve %9,9 saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4. 4. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının on günlük NaCl stresi sonrası POX izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: μ M GR24).

BELEK	Kontrol (%)	150-T (%)	300-T (%)	10-GR (%)	20-GR (%)	150-T 10-GR (%)	150-T 20-GR (%)	300-T 10-GR (%)	300-T 20-GR (%)
POX1	1,6	0,8	59,0	19,2	11,4	100	100	65,1	90
POX2				4,7					
POX3	98,9	99,1	40,9	76,0	88,5			34,8	9,9
Toplam (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100



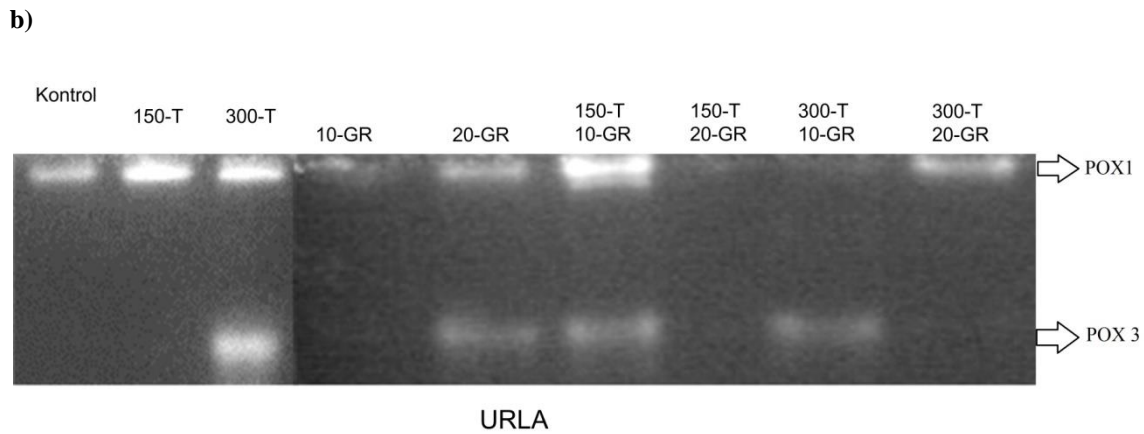
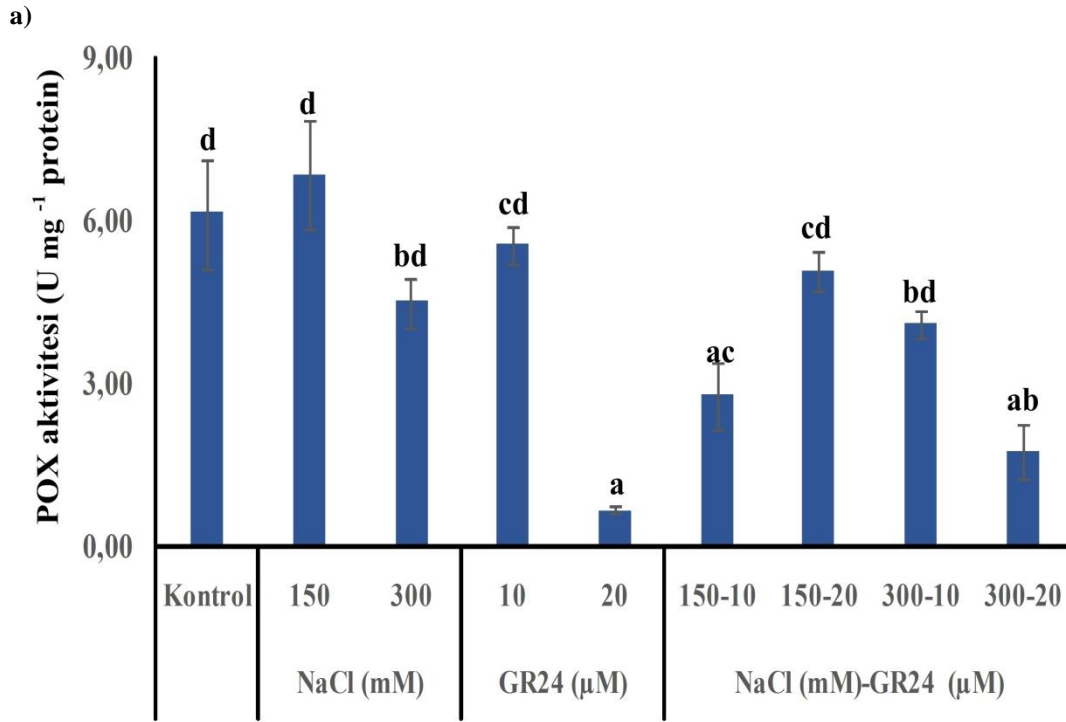
Şekil 4.31. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) POX aktivitesi (U mg⁻¹ protein) Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-b) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) POX izoenzim jel görüntüsü.

Urula bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması POX aktivitesinde %11,7 artışa 300 mM NaCl uygulaması ise %26,7 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %9,6 ve %89,2 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %54,5 ve %17,3 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %33,4 ve %71,4 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.32).

Urla bölgesi kum zambağı fideleri POX izoenzim sonuçlarını incelediğimizde yapılan uygulamalarda POX1 in temel bant olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.32). POX1'in yoğunluğu kontrol grubunda %100 olarak saptanmıştır. Tuz uygulamalarının sonuçları incelendiğinde 150 mM NaCl %100 gözlemlenmiş, 300 mM NaCl %40,7 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM %100 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM da %63 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %45,8, 150T-20GR24 %100 saptanmıştır. 300T-10GR24 uygulamasında %28,6 dır. 300T-20GR24 %100 yoğunluğunda bant belirlenmiştir. POX2 uygulamalarda gözlenmemiştir. POX3 bant sonuçlarına incelediğimizde kontrol grubu ve 150 mM NaCl uygulamasında saptanmıştır. 300 mM NaCl %59,2 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM bir bantlaşma görülmemişken; 20 µM da %37 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %54,1 iken; 150T-20GR24 bantlaşma gözlemlenmemiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi 10 µM GR24 uygulamasında %71,3 saptanmışken; 20 µM GR24 uygulamasında bant saptanmamıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 5. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası POX izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: µM GR24).

URLA	Kontrol (%)	150-T (%)	300-T (%)	10-GR (%)	20-GR (%)	150-T 10-GR (%)	150-T 20-GR (%)	300-T 10-GR (%)	300-T 20-GR (%)
POX1	100	100	40,7	100	63	45,8	100	28,6	100
POX2									
POX3			59,2		37	54,1		71,4	
Toplam (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.32. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) POX aktivitesi (U mg^{-1} protein) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) POX izoenzim sonuçları.

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 ve 300 mM NaCl uygulaması POX aktivitesi sırasıyla %13,5 ve %12 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 μM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %206,2 ve %29,3 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %50 ve %267,2 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi

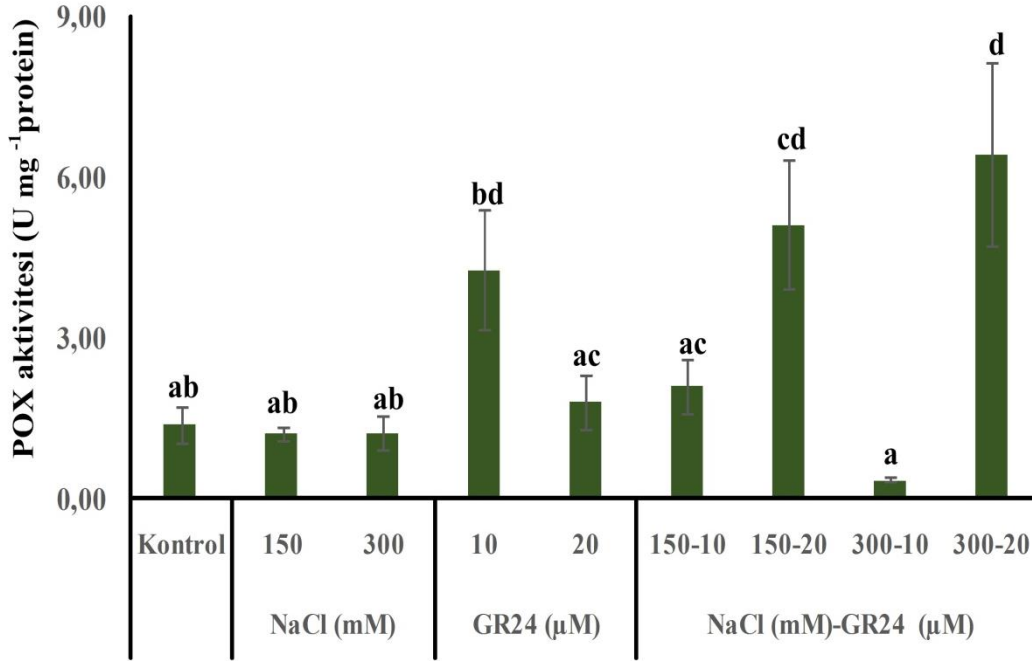
GR24 uygulamaları ise sırasıyla %74,8 azalmaya ve %360,5 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.33).

Longoz bölgesi kum zambağı fideleri POX izoenzim sonuçlarını incelediğimizde; POX1'in yoğunluğu kontrol grubunda saptanılmamıştır. Tuz uygulamalarının sonuçları incelendiğinde 150 mM NaCl %25,8 gözlemlenmiş, 300 mM NaCl %34,1 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM %29,3 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM da %37,7 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %31,5, 150T-20GR24 %34,8 saptanmıştır. 300T-10GR24 %37,1, 300T-20GR24 %36,7 yoğunluğunda bant belirlenmiştir. POX2 150 mM NaCl %30,9 saptanmıştır. POX3 bant sonuçlarına incelediğimizde kontrol grubunda %100 ve 150 mM NaCl %43,2 saptanmıştır. 300 mM NaCl %65,8 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM %70,6 görülmüşken; 20 µM da %62,2 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %68,4, 150T-20GR24 %65,2 bantlaşma gözlemlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 10 µM %62,8 saptanmışken; 20 µM uygulamasında %63,2 bant saptanmıştır (Çizelge 4.6).

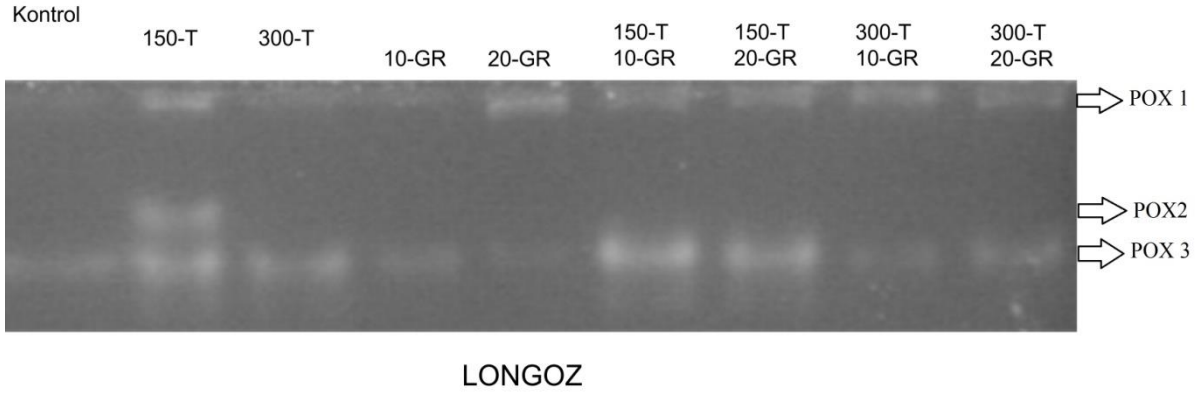
Çizelge 4. 6. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası POX izoenzim aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.

LONGOZ	Kontrol (%)	150-T (%)	300-T (%)	10-GR (%)	20-GR (%)	150-T 10-GR (%)	150-T 20-GR (%)	300-T 10-GR (%)	300-T 20-GR (%)
POX1		25,8	34,1	29,3	37,7	31,5	34,8	37,1	36,7
POX2		30,9							
POX3	100	43,2	65,8	70,6	62,2	68,4	65,2	62,8	63,2
Toplam (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

a)



b)



Şekil 4.33. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) POX aktivitesi (U mg⁻¹ protein) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) POX izoenzim sonuçları.

Belek, Urla, Longoz bölgelerinin ortalamaları kullanılarak yapılan kontrol bitkilerine göre POX miktarları kıyaslandığında 150 mM NaCl %5 artışa, 300 mM NaCl %21,3 azalmaya, 10 µM GR24 %17,1 artışa, 20 m GR24 %61,3 azalmaya sebep olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %31,3 azalmaya ve %37,1 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları ise sırasıyla %36,9 azalmaya ve %4,8 oranında azalmaya neden olmuştur.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamasının POX miktarı sırasıyla %7,7azalmaya, %7,4 azalmaya ve %12,7 azalmaya oranında neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %27,5 azalma, %49,4 azalmaya ve %117,8 artışa şeklinde değişimler meydana gelmiştir. GR24 ön uygulaması sonrası 150 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %6,9 artışa, Urla bölgesinde %25,4 azalmaya, Longoz bölgesinde %158,6 artışa neden olmuştur. GR24 ön uygulaması sonrası 300 mM NaCl uygulamasında Belek bölgesinde %27,7 azalmaya, Urla bölgesi %52,4 azalmaya, Longoz bölgesi %142,8 artışa sebep olmuştur.

4.12. CAT Aktivitesi ve İzoenzimleri

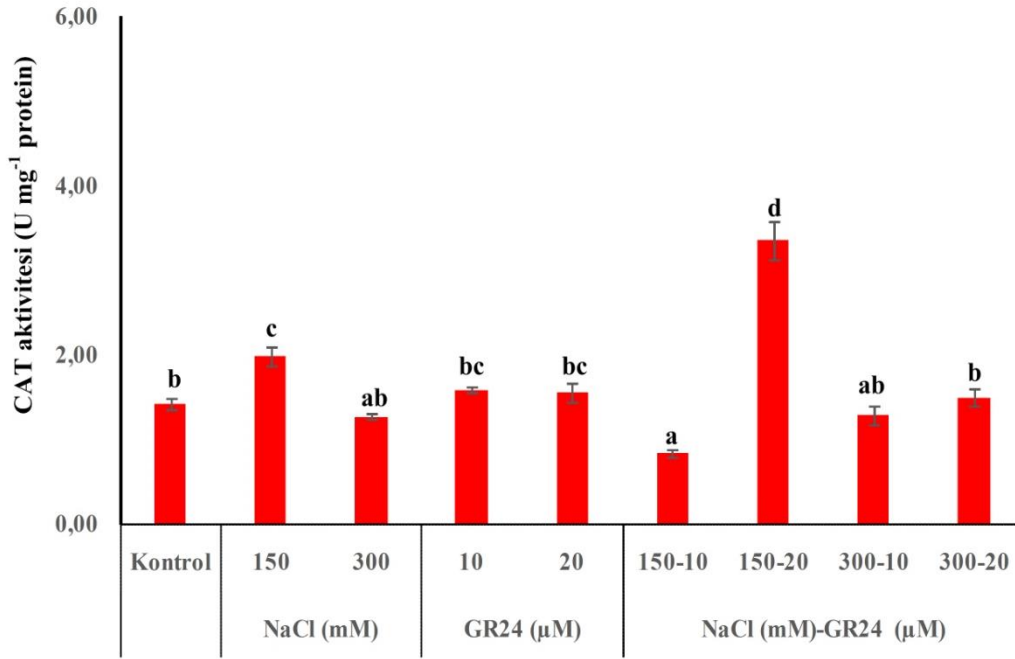
Belek bölgesi kum zambağıfidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması CAT aktivitesi %40,5 artışa; 300 mM NaCl uygulaması ise %10,3 azalmaya neden olmuştur. 10 µM ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %11,9 ve %10,3 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamasında kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %40,1 azalmaya 20 µM GR24 uygulamasında %138,5 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %8,8 azalmaya ve %5,8 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.34).

Belek bölgesi kum zambağı fidelerinde 1 adet izoenzim bandı belirlenmiştir (Şekil4.34). CAT'in yoğunluğu kontrol grubuna kıyasla 150 mM tuz uygulamasında %26,3 gözlemlenmiş, 300 mM'da %11,6 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10 µM %26,5 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM da %49 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %11,5, 150T-20GR24 %8,2, 300T-10GR24 %35,8, 300T-20GR24 %33,9 yoğunluğunda bant belirlenmiştir (Çizelge 4.7)

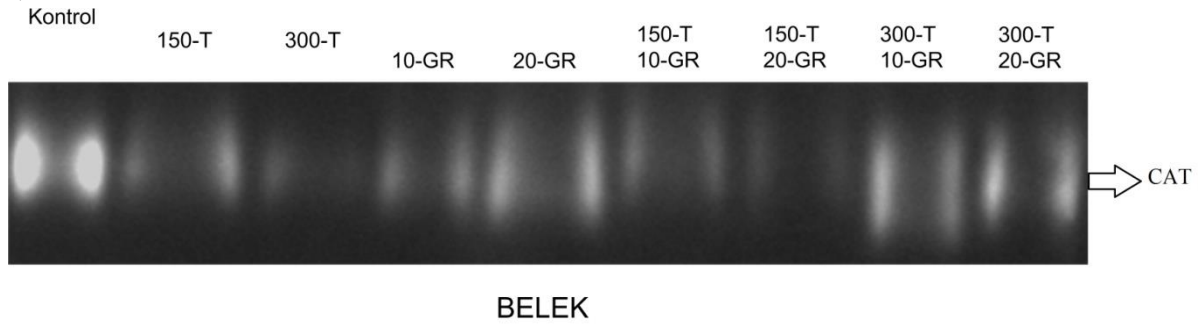
Çizelge 4. 7. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kontrol bitkilerine göre CAT izoenziminin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: μ M GR24).

Belek	Kontrol	150-T	300-T	10-GR	20-GR	150-T 10-GR	150-T 20-GR	300-T 10-GR	300-T 20-GR
CAT	100	26,3	11,6	26,5	49	11,5	8,2	35,8	33,9

a)



b)



Şekil 4.34. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) CAT aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) değişimleri gösterilmiştir. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) CAT izoenziminin jel görüntüsü.

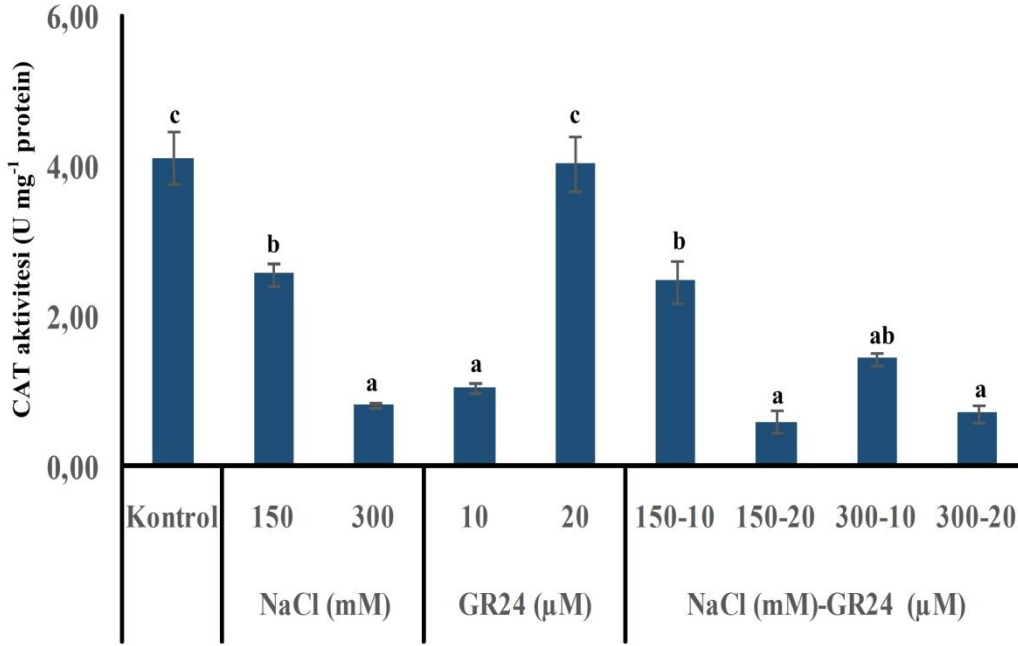
Urla bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulaması CAT aktivitesi sırasıyla %37,6 ve %80 azalmaya neden olmuştur. 10 ve 20 µM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %74,4 ve %1,8 azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %39,8 ve %85,4 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %64,9 ve %82,7 oranında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.35).

Urla bölgesi kum zambağı fidelerinde 1 adet izoenzim bandı gözlenmiştir (Şekil 4.35). CAT'in yoğunluğu kontrol grubuna kıyasla 150 mM tuz uygulamasında %175,5 gözlemlenmiş, 300 mM'da %223,1 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. GR24 uygulamasında 10µM %80 yoğunluğunda bir bantlaşma görünürken, 20 µM da %398,9 bantlaşma belirlenmiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %108, 150T-20GR24 %136,9, 300T-10GR24 %183,6, 300T-20GR24 %164,6 yoğunluğunda bant belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

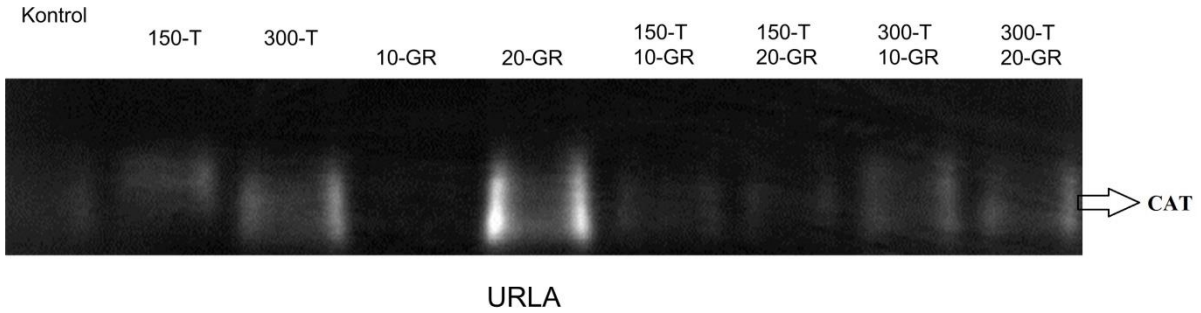
Çizelge 4. 8. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kontrol bitkilerine göre CAT izoenziminin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.

URLA	Kontrol	150-T	300-T	10-GR	20-GR	150-T 10-GR	150-T 20-GR	300-T 10-GR	300-T 20-GR
CAT	100	175,5	223,1		398,9	108	136,9	183,6	164,6

a)



b)



Şekil 4.35. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) CAT aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-c) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) CAT izoenziminin jel görüntüsü.

Longoz bölgesindeki kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulaması CAT aktivitesi sırasıyla %26,7 ve %32,2 artışa neden olmuştur. 10 μM ve 20 μM GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %118 ve %343 artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μM GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %220 ve %883 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl

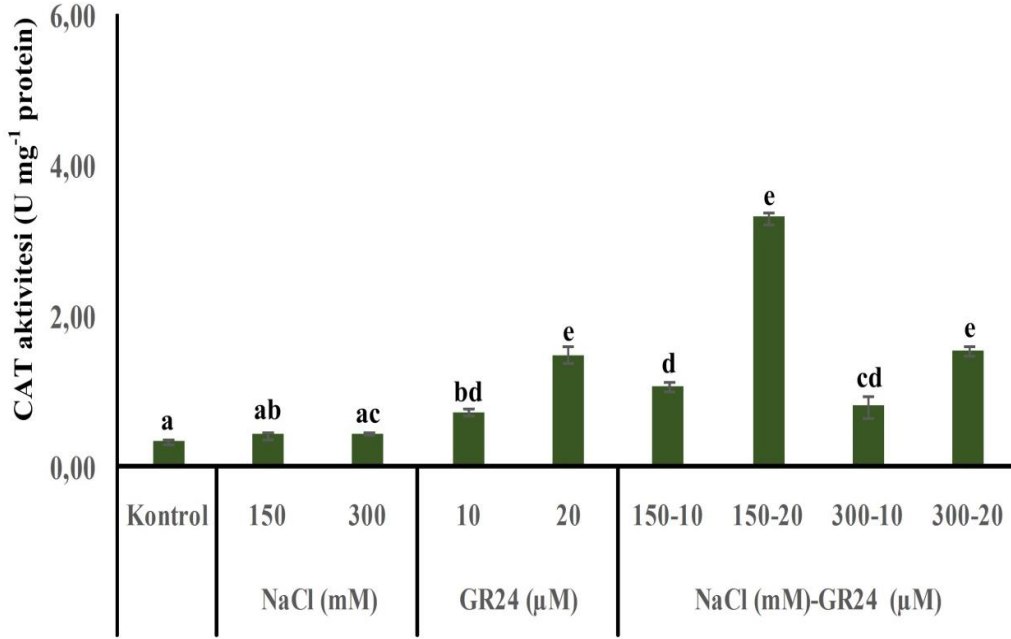
uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %139,6 ve %362,1 oranında artışa neden olmuştur (Şekil 4.36).

Longoz bölgesi kum zambağı fidelerinde 1 adet izoenzim bandı gözlenmiştir (Şekil4.36). CAT 'in yoğunluğu kontrol grubuna kıyasla tuz uygulamasında 150 mM da herhangi bir bantlaşma görülmezken; 300 mM NaCl uygulamasında %31 yoğunluğunda bant meydana gelmiştir. 10 µM GR24 uygulamasında %63,3 yoğunluğunda bir bantlaşma belirlenmişken, 20 µM GR24 uygulamasında bantlaşma belirlenmemiştir. Tuz ile birlikte GR24 uygulamasında 150T-10GR24 %38,2, 150T-20GR24 %42,1, 300T-10GR24 %2,4, 300T-20GR24 %3,5 yoğunluğunda bant belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

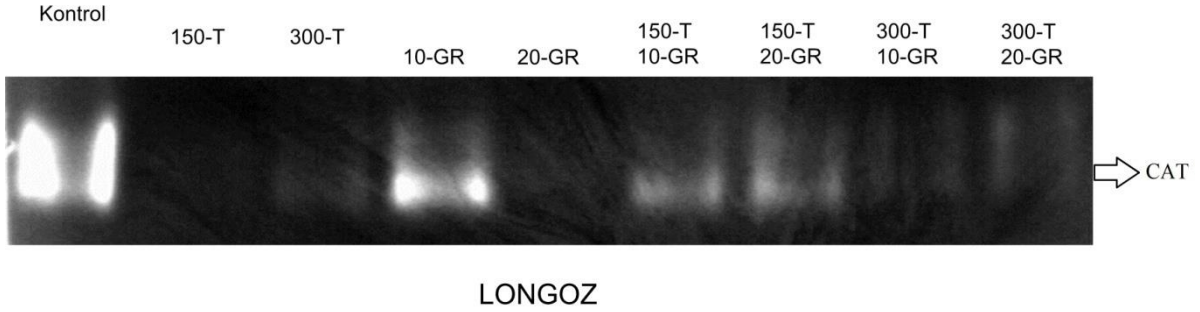
Çizelge 4. 9. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası kontrol bitkilerine göre CAT izoenziminin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler (T: mM NaCl; GR: µM GR24).

LONGOZ	Kontrol	150-T	300-T	10-GR	20-GR	150-T 10-GR	150-T 20-GR	300-T 10-GR	300-T 20-GR
CAT	100		3,1	63,3		38,2	42,1	2,4	3,5

a)



b)



Şekil 4. 2. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası a) CAT aktivitesi ($U\ mg^{-1}\ protein$) üzerine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Sütunlar üzerinde yer alan harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir. b) CAT izoenzim jel görüntüsü.

Belek, Urla, Longoz bölgelerinin ortalamaları kullanılarak CAT aktivitesi kontrol bitkilerine göre kıyaslandığında 150 mM NaCl %15,1 azalmış, 300 mM NaCl %56,8 azalmış, 10 μ M GR24 %42,5 azalmış, 20 μ M GR24 %20,9 artmış sebep olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 μ M GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla %24,9 azalmış ve %24,1 artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamaları ise sırasıyla %39,7 azalmaya ve %35,8 oranında azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Belek, Urla ve Longoz bölgelerine ait kum zambağı bitkilerine yapılan NaCl uygulamalarının ortalama CAT aktivitesinde sırasıyla %15,1 artışa, %58,8 azalmaya ve %29,4 oranında artışa neden olduğu saptanmıştır. GR24 uygulaması tek başına yapıldığında bitkilerde sırasıyla %11,1 artış, %38,1 azalma ve %230,9 artış şeklinde değişimler meydana gelmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları ortalama CAT aktivitesinde sırasıyla %49,2 artışa, %75,2 azalmaya, %551,5 oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları ise sırasıyla %1,5 ve %73,9 azalmaya, %250,9 oranında artışa neden olmuştur.

4.13. İstatistiksel Bulgular

Elde edilen biyokimyasal ve morfolojik veriler SPSS 18 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Belek (Çizelge 4.10), Urla (Çizelge 4.11) ve Longoz (Çizelge 4.12) bölgelerine ait kum zambağı bitkilerinin GU, KU, KYA, GYA, KKA, GKA, Sİ, MDA, H₂O₂, POX, SOD ve CAT verileri tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiştir.

Çizelge 4. 10. Belek bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası morfolojik ve biyokimyasal analizlere ait ANOVA sonuçları.

İncelenen parametreler (BELEK)	F değeri	Önemlilik Düzeyi (P değeri)
KU	3,884	0,009**
GU	0,880	0,553
KYA	1,484	0,238
GYA	0,444	0,878
KKA	0,685	0,700
GKA	0,401	0,905
Sİ	10,313	0,000***
MDA	41,191	0,000***
H₂O₂	5,164	0,001**
SOD	48,375	0,000***
POX	3,369	0,011*
CAT	42,110	0,000***

***p<0,001; **p<0,01; *p<0,1

Çizelge 4. 11. Urla bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası morfolojik ve biyokimyasal analizlere ait ANOVA sonuçları.

İncelenen parametreler (URLA)	F değeri	Önemlilik Düzeyi (P değeri)
KU	4,356	0,010*
GU	2,413	0,057*
KYA	1,476	0,241
GYA	1,019	0,457
KKA	3,863	0,013*
GKA	4,137	0,009**
Sİ	4,159	0,006**
MDA	73,021	0,000***
H₂O₂	7,489	0,000***
SOD	122,333	0,000***
POX	9,934	0,000***
CAT	34,308	0,000***

***p<0,001; **p<0,01; *p<0,1

Çizelge 4. 12. Longoz bölgesi kum zambağı 28 günlük fidelerine yapılan GR24 uygulamasının 10 günlük NaCl stresi sonrası morfolojik ve biyokimyasal analizlere ait ANOVA sonuçları.

İncelenen parametreler (LONGOZ)	F değeri	Önemlilik Düzeyi (P değeri)
KU	8,314	0,000***
GU	1,955	0,121
KYA	2,327	0,072*
GYA	2,558	0,049*
KKA	3,448	0,019*
GKA	2,063	0,096*
Sİ	3,895	0,008**
MDA	52,451	0,000***
H₂O₂	2,398	0,052*
SOD	129,215	0,000***
POX	8,090	0,000***
CAT	154,021	0,000***

***p<0,001; **p<0,01; *p<0,1

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkiler çeşitli stres faktörlerinin altında yaşamlarını sürdürmek zorunda olan canlılardır. Bitkilerin stres faktörlerine karşı olan adaptasyon kabiliyetleri onların hayatta kalmalarına olanak sağlamaktadır. Ekonomik olarak öneme sahip bitki türlerine ve/veya çeşitlerine dışarıdan strigolakton ve türevleri gibi çeşitli (prolin, glisin-betain, H₂O₂, ABA vb.) uygulamalarla bitki savunma sistemleri teşvik edilebilmektedir (Savvides ve ark. 2016). Tuz stresi bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz etkileyen önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir (Ashraf ve ark. 2002). Bu tez çalışmasında, bir kıyı kumul bitkisi olan kum zambağına yüksek konsantrasyonda tuz uygulaması yapılmadan önce spreyleme yoluyla yapılan sentetik strigolakton olan GR24'ün ön uygulamasının bitki tolerans seviyesine olan katkısı araştırılmıştır.

Morfolojik değişimler yönünden bitkiler incelendiğinde, Belek bölgesi fidelerine yapılan tüm uygulamaların kök uzunluğunu arttırdığı belirlenmiştir. Urla bölgesi fidelerinin kök uzunluğunda 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulaması haricinde tüm uygulamalarda artış saptanmıştır. Longoz bölgesi bitkilerinin kök uzunluğu incelendiğinde NaCl ve tek başına yapılan GR24 uygulamasının kök uzunluğunda azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulaması kök uzunluğunda azalmaya, 20 µM GR24 uygulamasının ise artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarından 10 µM GR24 ön uygulamasının kök uzunluğunda artışa ve 20 µM GR24 ön uygulamasının ise azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Belek bölgesi fidelerine yapılan NaCl uygulaması gövde uzunluğunda artışa neden olmuştur. 10 µM GR24 uygulaması gövde uzunluğunda artışa neden olmasına karşın 20 µM GR24 uygulaması azalmaya neden olmuştur. Fidelere yapılan 150 mM NaCl uygulamasından önce yapılan 10 µM GR24 uygulamasının gövde uzunluğunda artışa, 20 µM GR24 ön uygulamasının azalmaya neden olduğu belirlenmiş olup; 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarının gövde uzunluğunda azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Urla bölgesi fidelerine yapılan NaCl uygulaması gövde uzunluğunda artışa neden olduğu belirlenmiştir. GR24 uygulamasının gövde uzunluğunu baskıladığı belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulaması gövde uzunluğunda artışa neden olurken 20 µM GR24 ön uygulamasının azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları gövde uzunluğunda azalmaya neden olmuştur.

Longoz bölgesi fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması gövde uzunluğunda azalmaya; 300 mM NaCl uygulaması ise artışa neden olmuştur. GR24 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla fidelerin gövde uzunluğunda artışa neden olduğu saptanmıştır. Kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamasının gövde uzunluğunda artışa ve 20 µM GR24 uygulamasının ise azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamasının gövde uzunluğunda artışa ve 20 µM GR24 uygulamasının ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Belek bölgesi gövde yaş ağırlığı tuz uygulamasıyla azaldığı, GR24 uygulamasıyla artış gösterdiği saptanmıştır. NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulaması gövde yaş ağırlığında azalmaya sebep olmuştur. Urla bitkilerin gövde yaş ağırlığı değerlerinde NaCl ve tek başına yapılan GR24 uygulamalarının artışa sebep olduğu saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 azalmaya ve 20 µM GR24 uygulaması ise artışa neden olmuştur. Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması gövde yaş ağırlığında azalmaya; 300 mM NaCl uygulamasında ise artışa neden olmuştur. 10 µM GR24 uygulamasının gövde yaş ağırlığında azalmaya; 20 µM GR24 uygulamasının artışa neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 ve 20 µM GR24 uygulamalarının gövde yaş ağırlığında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulaması artışa ve 20 µM GR24 uygulaması ise azalmaya neden olmuştur.

Belek bölgesi fidelerine uygulanan 150 mM NaCl uygulaması kök yaş ağırlığında artışa sebep olurken; 300 mM NaCl uygulaması azalmaya neden olmuştur. 10 µM GR24 uygulamasının kök yaş ağırlığında azalmaya ve 20 µM GR24 uygulamasının ise artışa neden olduğu saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları kök yaş ağırlığında artışa neden olduğu, 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamasının ağırlığı azalmaya neden olurken 20 µM GR24 uygulaması artışa neden olmuştur. Urla bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan NaCl uygulamasının kök yaş ağırlığında artışa neden olduğu belirlenmiştir. 10 µM GR24 uygulaması artışa ve 20 µM GR24 uygulaması ise azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarının kök yaş ağırlığında azalmaya neden olduğu, 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarının ise artışa neden olduğu saptanmıştır. Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması kök yaş ağırlığında azalmaya 300 mM NaCl uygulaması ise artışa neden olmuştur. GR24 uygulamaları kök yaş ağırlığında artışa neden olmuştur. Tuz

uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamasının kök yaş ağırlığında artışa sebep olduğu belirlenmiştir.

Belek bölgesi fidelerine yapılan tüm uygulamalar gövde kuru ağırlığında azalmaya sebep olurken Urla bölgesi fidelerinde artışa neden olmuştur. Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması gövde kuru ağırlığı değerini azalmaya neden olurken 300 mM NaCl uygulaması artışa neden olmuştur. 10 µM GR24 uygulamasının gövde kuru ağırlığında azalmaya ve 20 µM GR24 uygulamasının artışa neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarının gövde kuru ağırlığı değerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulaması gövde kuru ağırlığında artışa ve 20 µM GR24 uygulaması azalmaya neden olmuştur.

Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması kök kuru ağırlığında artışa 300 mM NaCl uygulaması ise azalmaya neden olmuştur. GR24 uygulamaları kök kuru ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Tuz uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulaması kök kuru ağırlığında azalmaya sebep olmuştur. Urla bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan NaCl uygulaması kök kuru ağırlığında artışa neden olmuştur. 10 µM GR24 uygulamasının kök kuru ağırlığında artışa ve 20 µM GR24 uygulaması ise azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamaları ağırlığın azalmasına; 20 µM GR24 uygulaması artmasına neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları kök kuru ağırlığında artışa neden olmuştur. Longoz bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması kök kuru ağırlığında azalmaya; 300 mM NaCl uygulaması ise artışa neden olmuştur. 10 µM GR24 uygulamasını kök kuru ağırlığında azalmaya neden olurken 20 µM GR24 uygulaması artışa neden olmuştur. Tuz uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamalarının genel olarak kök kuru ağırlığında artışa sebep olduğu belirlenmiştir.

Tuzluluğun bitki üzerindeki etkisinin anlaşılmasındaki en önemli kriterlerden biri stoma açıklığı değeridir. Kök çevresindeki tuzluluğun yarattığı ozmotik etki doğrudan stomaların açılıp kapanma mekanizmasını etkiler. Tuzluluk bitkinin su dengesinin bozulmasına ve ABA miktarının artmasına bağlı olarak stoma iletkenliğinin azalmasına neden olur (Munns ve Tester 2008). Stoma iletkenliği değişimleri incelendiğinde Belek bölgesi fidelerine yapılan yüksek tuz uygulamasının iletkenlik değerinde azalmaya neden olmasına karşın, Urla ve Longoz bölgeleri fidelerinde düşük seviyede olasa da artışa neden olmuştur. Fidelere yapılan GR24

uygulamasının bölge ayrımı yapılmaksızın kontrol bitkilerine kıyasla stoma iletkenliğinde azalmaya neden olmasına rağmen, tuz stresi uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları stoma iletkenliğinde anlamlı seviyede artışa neden olduğu saptanmıştır. Kum zambağının tersine glikofit özelliğe sahip olan bezelye (Hernandez ve ark. 2000) ve çeltik (Guerfel ve ark. 2009) gibi bitkilerin tuz stresi altında stoma iletkenliğinde azalma olduğu önceki çalışmalarda belirtilmektedir.

TBARS ve H_2O_2 miktarlarında meydana gelen artışlar birçok çalışmada hücre düzeyinde tuz stresinin neden olduğu hasarın bir göstergesi olarak gösterilmiştir (Hernandez ve Almansa 2002). Belek bölgesi fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması H_2O_2 miktarında artışa, 300 mM NaCl uygulaması ise azalmaya neden olmuştur. Tuz uygulaması yapılmaksızın uygulanan GR24'ün H_2O_2 miktarını azalttığı, 150 mM NaCl uygulama öncesi yapılan 10 μ M GR24 ön uygulamasının H_2O_2 miktarını arttırıcı bir etkiye sahipken 20 μ M GR24 ön uygulamasının baskılayıcı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 ön uygulaması H_2O_2 miktarında azalmaya neden olmuştur. Urla bölgesi fidelerine yapılan NaCl uygulamasının H_2O_2 miktarını arttırdığı saptanmıştır. 10 μ M GR24 uygulamasının H_2O_2 miktarında azalmaya 20 μ M GR24 uygulamasının ise artışa neden olduğu saptanmıştır. 10 μ M GR24 ön uygulamasının 150 mM NaCl uygulaması yapılan bitkilerin H_2O_2 miktarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Longoz bölgesi fidelerine yapılan GR24 uygulaması H_2O_2 miktarında azalmaya sebep olmuştur. 10 μ M GR24 ön uygulamasının 150 mM NaCl uygulamasında H_2O_2 miktarını azalttığı, 20 μ M GR24 ön uygulamasının arttırdığı belirlenmiştir. Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan NaCl uygulamasının lipid peroksidasyonu seviyesinin göstergesi olan TBARS miktarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. GR24 uygulamasının TBARS seviyesinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulama öncesi yapılan GR24 uygulamasının TBARS miktarında azalmaya neden olduğu, 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 μ M GR24 uygulamasının TBARS miktarında azalmaya 20 μ M GR24 uygulamasının ise artışa neden olduğu saptanmıştır. Urla ve Longoz bölgeleri fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması TBARS miktarında kontrol bitkilerine göre daha düşük seviyede belirlenirken 300 mM NaCl uygulamasının TBARS miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Urla ve Longoz bölgeleri fidelerine yapılan GR24 ön uygulamasının tuz uygulaması yapıldığında TBARS miktarında artışa neden olmuştur. Bu iki bölge fidelerine tuz uygulanmaksızın 10 μ M GR24 uygulandığında TBARS miktarında azalma, 20 μ M GR24 uygulandığında ise artış olduğu belirlenmiştir.

SOD oksidatif strese karşı bitkilerin oluşturduğu savunma sisteminde önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Strese karşı bu enzimin aktivitesinin artış göstermesi bitki savunmasındaki önemini göstermektedir (Ashraf ve Ali 2008). Belek bölgesi fidelerine tek başına uygulanan NaCl ve GR24 uygulamalarında SOD aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamasının SOD miktarının azalmasına, 20 µM GR24 uygulamasının ise aktivitede artışa sebep olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 ön uygulaması SOD miktarını azalttığı belirlenmiştir. Urla bölgesi fidelerine yapılan NaCl uygulamasının SOD aktivitesini baskıladığı belirlenmiştir. Urla ve Longoz bölgesi fidelerine yapılan 10 µM GR24 uygulamasının SOD miktarının azalmasına, 20 µM GR24 uygulaması ise artışa sebep olduğu belirlenmiştir. Urla bölgesi fidelerine 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 ön uygulamasının SOD miktarının artmasına, 20 µM GR24 uygulaması ise aktivitenin azalmasına sebep olmuştur. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 ön uygulaması SOD miktarını azalmasına, 20 µM GR24 ön uygulamasının ise aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir. Longoz bölgesi fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması SOD aktivitesinde artışa, 300 mM NaCl uygulaması ise azalmaya neden olduğunu saptanmıştır. Tuz uygulamasından önce yapılan GR24 uygulamalarının SOD aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir.

Stres altındaki tuza toleranslı bitkilerin POX aktivitesini arttırdıkları bilinmektedir (Bor ve ark. 2003). Belek bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan NaCl uygulaması POX aktivitesinde artışa neden olmuştur. Benzer olarak, tuz stresi uygulanan pamuk (Grosser ve ark. 1994), marul (Sudhakar ve ark. 2001) ve çeltik (Lin ve Kao 2000) bitkilerinde POX aktivitesinin artış gösterdiği rapor edilmiştir. GR24 uygulaması POX aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulaması POX aktivitesinde azalmaya ve 20 µM GR24 uygulaması ise artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamalarında ise aktivitede azalma saptanmıştır. Urla bölgesi fidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması POX aktivitesinde artışa; 300 mM NaCl uygulaması ise azalmaya neden olmuştur. GR24 uygulamalarında aktivitenin azaldığı saptanmıştır. NaCl öncesi uygulanan GR24 uygulamaları POX aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. Longoz bölgesi fidelerine yapılan tuz uygulaması POX aktivitesinde azalmaya neden olurken GR24 uygulaması artışa neden olmuştur. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamaları aktivitede artışa neden olurken 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamalarında 10 µM GR24 azalmaya ve 20 µM GR24 uygulaması ise artışa neden olmuştur.

Hidrojen peroksitin parçalanmasında etkili olan enzimlerden biri CAT olarak bilinmektedir (Jones 1994). Belek bölgesi kum zambağıfidelerine yapılan 150 mM NaCl uygulaması CAT aktivitesinde artışa, 300 mM NaCl uygulaması ise azalmaya neden olmuştur. GR24 uygulamasının aktivitede artışa neden olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulaması aktivitede azalmaya neden olurken 20 µM GR24 uygulaması ise artışa neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi GR24 uygulamalarından 10 µM GR24 uygulaması azalmaya, 20 µM GR24 uygulaması ise artışa neden olmuştur. Urla bölgesi kum zambağı fidelerine yapılan tüm uygulamalar kontrol bitkilerine göre CAT aktivitesinde azalmaya neden olurken Longoz bölgesindeki fidelerde tam tersi olarak CAT aktivitesinde artış olduğu saptanmıştır.

Kum zambağının ülkemizde yayılış gösterdiği üç bölgeden toplanan tohumlardan yetiştirilen bitkilerde SOD izoenzimlerinden MnSOD izoenziminin bulunmamasına karşın 1 adet FeSOD ve 4 adet Cu/ZnSOD (Cu/ZnSOD1, Cu/ZnSOD2, Cu/ZnSOD3, Cu/ZnSOD4) izoenzimi, 1 adet CAT izoenzimi ve 3 adet POX izoenzimi (POX1, POX2, POX3) belirlenmiştir. SOD izoenzimlerinden MnSOD mitokondri ve peroksizomda aktivite gösterirken, Cu/ZnSOD kloroplast ve sitoplazmada, FeSOD plastit gibi organellerde aktivite göstermektedir (Gill ve Tuteja 2010). POX izoenzimlerinin bitkilerin tuz toleransında görevli olduğu (Sreenivasulu ve ark. 1999), CAT izoenzimlerinin peroksizom, sitoplâzma ve mitokondride aktivite gösterdiği bilinmektedir (Amor ve ark. 2007).

Belek bölgesi fidelerin SOD izoenzim seviyeleri incelediğinde 150 mM NaCl uygulanan bitkilerde Cu/ZnSOD2 ve Cu/ZnSOD3 belirlenmezken en yüksek band yoğunluğunun Cu/ZnSOD1 izoenziminde olduğu belirlenmiştir. 10 µM GR24 uygulamasının Cu/ZnSOD3 ve Cu/ZnSOD4 izoenzim seviyeleri üzerine etkisinin olmadığı, buna karşın en yüksek band yoğunluğunun Cu/ZnSOD1 izoenziminde olduğu belirlenmiştir. Urla bölgesi fidelerinde en yüksek band yoğunluğunun kontrol grubunda Cu/ZnSOD2 izoenziminde olduğu belirlenmiştir. Longoz bölgesi fidelerine yapılan tüm uygulama gruplarında FeSOD ve Cu/ZnSOD izoenzimleri belirlenmiştir. En yüksek bant yoğunluğunun 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 20 µM GR24 uygulamasında Cu/ZnSOD4 izoenziminde olduğu belirlenmiştir.

Kum zambağı fidelerinin POX izoenzim yoğunluğu ve sayıları uygulanan tuz ve GR24 konsantrasyonuna göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. POX2 sadece Longoz bölgesi 150 mM NaCl uygulamasında belirlenirken, POX1 Longoz bölgesi kontrol bitkileri hariç tüm

uygulama gruplarında saptanmıştır. Belek bölgesi fidelerine yapılan tuz uygulaması POX1 miktarında artışa, POX3 miktarında ise azalmaya neden olmuştur. GR24 tek başına uygulandığında ise POX1 miktarında artış, POX3 miktarında ise azalma olduğu belirlenmiştir. Tuz uygulamasından önce yapılan GR24 uygulaması POX1 miktarında artışa, GR24 ön uygulaması 150 mM NaCl uygulamasında POX3 miktarında azalmaya neden olmuştur. Urla bölgesi fidelerine uygulanan NaCl ve GR24 konsantrasyonundaki artışın POX1 miktarında azalmaya, POX3 miktarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. GR24 ön uygulamasındaki konsantrasyon artışının NaCl uygulaması yapıldığında POX1 miktarını arttırdığı, 10 µM GR24 uygulamasının ise POX3 miktarında artışa sebep olduğu belirlenmiştir.

Belek bölgesi fidelerinin CAT izoenzim aktivitesi kontrol bitkileriyle kıyaslandığında NaCl uygulamasının CAT izoenzim aktivitesini baskıladığı, tek başına GR24 uygulamasının aktivitede artışa neden olduğu belirlenmiştir. GR24 ön uygulamasının 150 mM NaCl uygulamasında CAT izoenzim aktivitesinde azalmaya neden olmasına karşın 300 mM NaCl uygulamasında bu izoenzimin aktivitesini arttırdığı saptanmıştır. Urla bölgesi fidelerine 10 µM GR24 uygulaması yapıldığında CAT izoenzim aktivitesi tespit edilmezken, NaCl uygulamasının CAT izoenzim miktarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. NaCl uygulamasından önce yapılan GR24 uygulaması CAT izoenzim aktivitesinin azalmasına sebep olmuştur. Longoz bölgesi fidelerinin CAT izoenzim aktivitesi incelendiğinde 150 mM NaCl ve 20 µM GR24 uygulamalarında aktivite belirlenmemiştir. Fidelere yapılan GR24 ön uygulaması 150 mM NaCl uygulamasında CAT izoenzim aktivitesini arttırdığı, GR24 konsantrasyonu arttıkça CAT izoenzim aktivitesinde de artış olduğu saptanmıştır. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan 10 µM GR24 uygulamasının CAT izoenzim aktivitesinde azalmaya; 20 µM GR24 ön uygulamasının ise artışa sebep olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen verilere göre, tuz stresi altında kum zambağı fidelerinin stoma iletkenliği ve SOD, POX, CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma olduğu, bitkilerin strese girdiğinin göstergesi olarak belirtilen H₂O₂ ve TBARS miktarının da arttığı saptanmıştır. Bitkilerin morfolojik gelişimleri incelendiğinde tuz uygulamasıyla bitkilerin gövde ve kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığında artış belirlenirken gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığında azalma meydana geldiği belirlenmiştir. GR24 uygulaması POX, SOD, CAT aktivitelerinde artışa, stoma iletkenliği, H₂O₂ ve TBARS miktarında azalmaya neden olmuştur. Bitkilerin morfolojik gelişimleri incelediğimizde gövde uzunluğu ve kök kuru ağırlığında azalma olduğu kök uzunluğu, kök ve gövde yaş ağırlığı ve gövde kuru ağırlığında artış olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamasının

SOD, POX, CAT aktivitelerini arttırdığı, bu uygulamadan H₂O₂ içeriğinin etkilenmemesine karşın TBARS miktarının artmasına, morfolojik gelişimde kök uzunluğu ile kök yaş ağırlığında artışa ve gövde uzunluğu, gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde kuru ağırlığında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 300 mM NaCl uygulaması öncesi yapılan GR24 uygulamasının 150 mM NaCl uygulamasına benzer şekilde SOD, POX, CAT ve stoma iletkenliğinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. GR24 ön uygulamasına rağmen yüksek tuz uygulamasının bitkilerin H₂O₂ ve MDA miktarında artışa neden olduğu, morfolojik gelişimi yönünden bitki gövde ve kök uzunluğu ile gövde yaş ve kuru ağırlığında azalmaya, kök yaş ve kuru ağırlığında ise artışa neden olduğu saptanmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde, Abogadallah ve ark. (2010) yedi haftalık kum zambağı bitkilerine 300 mM NaCl uygulamasının TBARS ve H₂O₂ içeriğini artırdığını, CAT aktivitesini önemli ölçüde baskılamasına karşın POX aktivitesinin tuz uygulamasındaki artışa paralel olarak arttığı saptanmıştır. Aynı şekilde, Khedr ve ark. (2003) kum zambağına yapılan 300 mM NaCl uygulamasının büyümede ve protein içeriğinde azalmaya neden olduğunu, bu tez çalışmasında yapılan GR ön uygulamasına benzer olarak prolin uygulamasıyla bu baskının belirgin bir şekilde azaldığını saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise (Seckin ve Aksoy 2013), kuraklık uygulamasının kum zambağı fidelerinin bağıl büyüme oranı (RGR) ve BSİ değerlerini baskıladığı, buna karşın askorbat-glutasyon döngüsü (SOD-APX-GR) enzimlerinin kum zambağı bitkilerinin kuraklık stresi altında kısa vadede oksidatif hasarı gidermede etkili olabileceği saptanmıştır. GR ön uygulamasıyla ilgili yapılan başka bir çalışmada da (Demirbaş ve ark. 2015) soya bitkisinde tuz stresi öncesi yapılan GR24 uygulamasının tuz stresinin meydana getirdiği (TBARS seviyesinde artış, BSİ ve stoma iletkenliğinde azalma) hasarı azaltmada etkili olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, 20 µM GR24 ön uygulamasının kum zambağı bitkilerinin yüksek tuzlu ortam şartlarında antioksidan savunma sistemini uyararak tolerans seviyesini arttırabilme potansiyeli olduğu bu tez çalışmasıyla ilk defa ortaya konmuş olup bundan sonra yapılacak olan çalışmalara önemli katkılar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abbassy MA, El-Gougary OA, El-Hamady S, Sholo MA (1998). Insecticidal, Acaricidal And Synergistic Effects of Soosan, *Pancreatium maritimum* Extracts and Constituents. Journal of the Egyptian Society of Parasitology, 28 (1): 197- 205.
- Abogadallah GM (2011). Differential Regulation of Photorespiratory Gene Expression by Moderate and Severe Salt and Drought Stress in Relation to Oxidative Stress. Plant Science, 180: 540-547.
- Alscher RG, Ertürk N, Heath LS (2002). Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants. Journal of Experimental Botany, 53 (372): 1331-1341.
- Arora D, Bhatla SC (2017). Melatonin and Nitric Oxide Regulate Sunflower Seedling Growth Under Salt Stress Accompanying Differential Expression of Cu/Zn SOD and Mn SOD. Free Radical Biology and Medicine, 106: 315-328.
- Ashraf M (2002). Salt Tolerance of Cotton: Some New Advances. Critical Reviews in Plant Sciences, 21 (1): 1-30.
- Ashraf M (2009). Biotechnological Approach of Improving Plant Salt Tolerance Using Antioxidants as Markers. Biotechnology Advances, 27 (1): 84-93.
- Ashraf M, Foolad M (2007). Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. Environmental and Experimental Botany, 59 (2): 206-216.
- Ashraf M, Harris PJC (2004). Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants. Plant Science, 166: 3–16.
- Avşar C, Keskin H, Berber İ (2016). Hastane İnfeksiyonlarından İzole Edilen Mikroorganizmalara Karşı Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi. International Journal of Pure and Applied Sciences. 2 (1): 22-29.
- Aydın (2005). Bartın İnkumu, Güzelcehisar ve Mugada Kıyılarında Yetişen Kumul Bitkilerinin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
- Balestri E, Cinelli F (2004). Germination and Early-Seedling Establishment Capacity of *Pancreatium maritimum* L. (Amaryllidaceae) on Coastal Dunes in the North-Western Mediterranean. Journal of Coastal Research, 20 (3): 761-770.
- Beauchamp C, Fridovich I (1971). Superoxide Dismutase: Improved Assay and Applicable to Acrylamid Gels. Anal. Biochem., 44: 276-287.
- Beauchamp C, Fridovich I (1986). Biological Effects of the Superoxide Radical. Archives of Biochemistry and Biophysics, 247(1): 1-11.
- Bella K, Horváth E, Gallé A, Szabados L, Tari I, Csiszár J (2015). Plant Glutathione Peroxidases: Emerging Role of The Antioxidant Enzymes in Plant Development and Stress Responses. Journal of Plant Physiology, 176, 192–201
- Bergmeyer N (1970). Methoden der Enzymatischen Analyse. Akademia Verlag, 636-647.
- Berkov S, Evstatieva L, Popov S (2004). Alkaloides in Bulgarian *Pancreatium maritimum* L. Zeitschrift für Naturforschung, 59: 65-69.
- Berkov S, Pavlov A, Georgiev V, Weber J, Bley T, Viladomat F, Bastida J, Codina C (2010). Changes in Apolar Metabolites During *in vitro* Organogenesis of *Pancreatium maritimum*. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 827-835.

- Berkov S, Romani S, Herrera M, Viladomat F, Codina C, Momekov G, Ionkova I, Bastida J (2011). Antiproliferative Alkaloids from *Crinum zeylanicum*. Journal of Experimental Botany, 25: 1686-1692.
- Bernt E, Bergmeyer HU (1974). Inorganic Peroxides. In: Bergmeyer HU. (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, 2246-2248.
- Bor M, Ozdemir F, Türkan I (2003). The Effect of Salt Stress on Lipid Peroxidation and Antioxidants in Leaves of Sugar Beet *Beta vulgaris* L. and Wild Beet *Beta maritima* L. Plant Sciences, 164: 77-84.
- Boyer FD, Germaina A S, Pouvreauc JB, Clavéb G, Pillota JP, Rouxb A, Rasmussend A, Depuydtf S, Laouesserguesh D, Freyh NF, Heugebaerti TSA, Stevensi CV, Geelend D, Goormachtigf S, Rameaua C (2014). New Strigolactone Analogs as Plant Hormones with Low Activities in the Rhizosphere. Molecular Plant, 7 (4): 675-690.
- Bradford MM (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Brewer PB (2013). Diverse Roles of Strigolactones in Plant Development. Molecular Plant, 6 (1): 18-28.
- Büyük İ, Aydın SS, Aras S (2012). Bitkilerin Stres Koşullarında Verdiği Moleküler Cevaplar. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69 (2): 97-110.
- Cakıcı I, Ulug HY, Inci S, Tunctan B, Abacıoğlu N, Kanzik I, Sener B (1997). Antinociceptive Effect of Some Amaryllidaceae Plants in Mice. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 49 (8): 828-830.
- Cardinale F, Krukowski PK, Schubert A, Visentin I (2018). Strigolactones: Mediators of Osmotic Stress Responses with a Potential for Agrochemical Manipulation of Crop Resilience. Journal of Experimental Botany, 69 (9): 2291–2303.
- Charnikhova TV, Gaus K, Lumbroso A, Sanders M, Vincken JP, Mesmaeker AD, Ruyter-Spira CP, Screpanti C, Bouwmeester HJ (2017). Zealactones. Novel Natural Strigolactones from Maize. Phytochemistry, 137: 123-131.
- Cohen M, Prandi C, Occhiato EG, Tabasso S, Wininger S, Resnick N, Kapulnik Y (2013). Structure–Function Relations of Strigolactone Analogs: Activity as Plant Hormones and Plant Interactions. Molecular Plant, 6 (1): 141-152.
- Cooper JW, Hu Y, Beyyoudh L, Dasgan HY, Kunert K, Beveridge CA, Foyer CH (2018). Strigolactones Positively Regulate Chilling Tolerance in Pea and in Arabidopsis. Plant, Cell & Environment, 41 (6): 1298-1310.
- Çaylak E (2011). Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi, 9 (1): 73-83.
- Çulha Ş, Çakırlar H (2011). Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 11 (2): 11-34.
- Demirbaş S, Balkan A, Üder F, Peköz AG (2015). Hidrojen Peroksit Ön Uygulamasının Tuz Stresi Koşullarında Tritikalenin Erken Gelişme Dönemindeki Etkisi. I. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, Erzurum, 79.

- Desikan R, Hancock J, Neill S (2005). Reactive Oxygen Species as Signalling Molecules. Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Ed. Smirnoff N. John Wiley & Sons, Australia, 169-191.
- Desikan R, Soheila AH, Hancock JT, Neill SJ (2001). Regulation of the Arabidopsis Transcriptome by Oxidative Stress. *Plant Physiology*, 127 (1): 159-172.
- Dun EA, Germainb AS, Rameaub C, Beveridge CA (2013). Dynamics of Strigolactone Function and Shoot Branching Responses in *Pisum sativum*. *Molecular Plant*, 6 (1): 128–140.
- Filipovic BK, Simonovic AD, Trifunovic MM, Dmitrovic SS, Savic JM, Jevremovic SB, Subotic AR (2015). Plant Regeneration in Leaf Culture of *Centaurea Erythraea* Rafn. Part 1: The Role of Antioxidant Enzymes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 121 (3): 703-719.
- Flanagan LB, Jefferies RL (1988). Stomatal Limitation of Photosynthesis and Reduced Growth of the Halophyte, *Plantago Maritima* L. At High Salinity. *Plant, Cell & Environment*, 11 (4): 239-245.
- Flematti GR, Waters MT, Scaffidi A, Merritt DJ, Ghisalberti EL, Dixon KW, Smith SM (2013). Karrikin and Cyanohydrin Smoke Signals Provide Clues to New Endogenous Plant Signaling Compounds. *Molecular Plant*, 6 (1): 29-37.
- Foo E (2013). Auxin Influences Strigolactones in Pea Mycorrhizal Symbiosis. *Journal of Plant Physiology*, 170 (5): 523-528.
- Foyer C, Noctor G (2009). Redox Regulation in Photosynthetic Organisms: Signaling, Acclimation, and Practical Implications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11 (4): 861-905.
- Fukui K, Ito S, Asami T (2013). Selective Mimics of Strigolactone Actions and Their Potential Use for Controlling Damage Caused by Root Parasitic Weeds. *Molecular Plant*, 6 (1): 88-99.
- Gemici (2011). *Pancretium maritimum* L. (Amaryllidaceae) Üzerinde Ekofizyolojik Bir Araştırma. X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. 189.
- Georgiev V, Ivanov I, Berkov S, Pavlov A (2011). Alkaloids Biosynthesis by *Pancretium maritimum* L. Shoots in Liquid Culture. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33 (3): 927-933.
- Giannopolities N, Ries SK (1977). Superoxide Dismutase Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 59: 309-314.
- Gill SS, Tuteja N (2010). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12): 909-930.
- Grassi F, Cazzaniga E, Minuto L, Peccenini S, Barberis G, Basso BG (2005). Evaluation of Biodiversity and Conservation Strategies in *Pancretium maritimum* L. for the Northern Tyrrhenian Sea. *Biodiversity and Conservation*, 14: 2159-2169.
- Grosset DR, Millhollon EP, Lucas MC (1994). Antioxidant Response to NaCl Stress in Salt Tolerant and Salt Sensitive Cultivars of Cotton. *Crop Science*, 34: 706-714.
- Gümüş (2015). Kum zambağı (*Pancretium maritimum* L.) Bitkisinde Yapılan Araştırmalar Üzerinde bir İnceleme. III. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, 435-438.

- Habib D, Chaudhary MF, Zia M (2014). The Study of Ascorbate Peroxidase, Catalase and Peroxidase During *in vitro* Regeneration of *Argyrolobium Roseum*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 172 (2): 1070-1084.
- Harinasut P, Poonsopa D, Roengmongkol K, Charoensataporn R (2003). Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar. ScienceAsia, 29: 109-113.
- Hernandez JA, Almansa MS (2002). Short-Term Effects of Salt Stress on Antioxidant Systems and Leaf Water Relations of Pea Leaves. Physiol Plant, 115: 251–257.
- Hernández JA, Jiménez A, Mullineaux P, Sevilla F (2000). Tolerance of Pea (*Pisum sativum* L.) to Long-Term Salt Stress is Associated with Induction of Antioxidant Defences. Plant Cell Environ, 23: 853-862.
- Hetta MH, Shafei AA (2013). Comparative Cytotoxic and Antimicrobial Activities of the Alkaloid Content of Egyptian *Panocratium maritimum* L. Fruits and Flowers. The Journal of American Science, 9 (7): 104-109.
- Holmberg N, Bülow L (1998). Improving Stress Tolerance in Plants by Gene Transfer. Trends in Plant Science, 3 (2): 61-66.
- Hossain MA, Fujita M (2012). Regulatory Role of Components of Ascorbate-Glutathione (Asa-GSH) Pathway in Plant Tolerance to Oxidative Stress. Oxidative Stress in Plants: Causes, Consequences and Tolerance. IK International Publishing House Pvt. Ltd., 81-147.
- Ibrahim SRM, Mohamed GA, Shaala LA, Youssef DTA, El-Sayed KA (2013). New alkaloids from *Panocratium maritimum*. Planta Medica, 79 (15): 1480-1484.
- Impa SM, Nadaradjan S, Jagadish SVK (2012). Drought Stress Induced Reactive Oxygen Species and Anti-oxidants in Plants. Springer New York, 131-143.
- Jiang M, Zhang J (2001). Effect of Abscisic Acid on Active Oxygen Species, Antioxidative Defence System and Oxidative Damage in Leaves of Maize Seedlings. Plant and Cell Physiology, 42 (11): 1265-1273.
- Jones JD (1994). Plant pathology, Paranoid plants have their genes examined. Curr Biol, 4 (8): 749-751.
- Kaçar B (2015). Genel bitki fizyolojisi. Nobel Akademik Yayıncılık.
- Kanmaz E (2013). Kum zambağı (*Panocratium maritimum* L.)'nın *in vivo* ve *in vitro* Koşullarda Tohumla Üretimi Üzerine Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kanner J, Kinsella JE (1983). Lipid Deterioration Initiated by Phagocytic-Cells in Muscle Foods-Beta-Carotene Destruction by a Myeloperoxidase HydrogenPeroxide Halide System. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 31: 370-376.
- Kapulnik Y, Koltai H (2014). Strigolactone Involvement in Root Development, Response to Abiotic Stress and Interactions with the Biotic Soil Environment. Plant Physiology, 166: 560-569.
- Khedr AA, Abbas MA, Abdel-Wahid AA, Quick WP, Abogadallah GM (2003). Proline Induces the Expression of Salt-Stress-Responsive Proteins and May Improve the Adaptation of *Panocratium maritimum* L. to Salt-Stress. Journal of Experimental Botany, 54: 2553–2562.

- Kocaçalışkan İ (2008). Büyüme- Gelişme ile İlgili Fizyolojik Olaylar. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayınları, Ankara, 157-183.
- Koç E, Üstün AS (2016) Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24: 1-2.
- Könükol S (1992). *Panocratium maritimum* L. bitkisinin alkaloidleri üzerinde farmakognozik araştırmalar. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Leisinger U, Rüfenacht K, Fischer B, Pesaro M, Spengler A, Zehnder A (2001). The Glutathione Peroxidase Homologous Gene from *Chlamydomonas Reinhardtii* is Transcriptionally Up-Regulated by Singlet Oxygen. *Plant Molecular Biology*, 46: 395-408.
- Lin CC, Kao CH (2000). Effect of NaCl on Metabolism in Rice Leave. *Plant Growth Reg.* 30: 151-155.
- Lopez-Obando M, Ligerot Y, Bonhomme S, Boyer F, Rameau C (2015). Strigolactone Biosynthesis and Signaling in Plant Development. *The Company of Biologists*, 142: 3615-3619.
- Madhava Rao KV, Stresty TVS (2000). Antioksidative Parameters in The Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses. *Plant Science*, 157: 113-128.
- Mahajan S, Tuteja N (2005). Cold, Salinity and Drought Stresses: an Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444 (2): 139-158.
- Meloni DA, Oliva MA, Martinez CA, Cambraia J (2003). Photosynthesis And Activity of Superoxide Dismutase, Peroxidase and Glutathione Reductase in Cotton under Salt Stress. *Environ Exp Bot*, 49: 69–76.
- Mishra S, Upadhyay S, Shukla RK (2017). The Role of Strigolactones and Their Potential Cross-Talk under Hostile Ecological Conditions in Plants. *Frontiers in Physiology*, 7: 691.
- Mitter R (2002). Oxidative Stress, Antioksidants and Stress Tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.
- Munns R, Tester M (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59: 651-681.
- Noctor G, Foyer CH (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annual Review of Plant Biology*, 49 (1): 249-279.
- Oberley LW, Oberley TD (1988). Role of Antioxidant Enzymes in Cell Immortalization and Transformation. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 84 (2): 147-153.
- Öztetik E (2012). An Introduction to Oxidative Stress in Plants and the Role of Non-Enzymatic Antioxidants. *Oxidative Stress in Plants: Causes, Consequences and Tolerance*. IK Publications, 1-50.
- Parida AK, Das AB (2005). Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review. *Ecotoxicol Environ*, 60: 324-349.
- Parida AK, Das AB, Mohanty P (2004). Investigations on the Antioxidative Defense Responses to NaCl Stress in a Mangrove, *Bruguiera Parviflora*: Differential, Regulations of Isoforms Some Antioxidant Enzymes. *Plant Growth Regulation*, 42: 213-226.

- Passardi F, Cosio C, Penel C, Dunand C (2005). Peroxidases Have More Functions than a Swiss Army Knife. *Plant Cell Reports*, 24 (5): 255-265.
- Passardi F, Penel C, Dunand C (2004). Performing the Paradoxical: How Plant Peroxidases Modify the Cell Wall. *Trends Plant Science*, 9: 534–540.
- Patakas A (2012). Abiotic Stress-Induced Morphological and Anatomical Changes in Plants. in *Abiotic Stress Responses in Plants*. Springer New York, 21-39.
- Pettit GR, Pettit III GR, Groszek G, Backhaus RA, Doubek DL, Barr RJ, Meerow AW (1995). Antineoplastic Agents, 301. An Investigation of the Amaryllidaceae Genus *Hymenocallis*. *Journal of Natural Products*, 58 (5): 756- 759.
- Reizelman-Lucascen A (2003). Synthesis and Fncction of Germination Stimulants for Seed of Parasitic Weeds *Striga* and *Orobanche* spp., (Doktora tezi), Nijmenge University Organic Chemistry Department, The Netherlands.
- Rokbeni N, M'rabet Y, Cluzet S, Richardb T, Krisa S, Boussaidc M, Boulila A (2016). Determination of Phenolic Composition and Antioxidant Activities of *Pancratium maritimum* L. from Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 94: 505–513.
- Ruyter-Spira C, Al-Babili S, Krol SVD, Bouwmeester H (2012). The Biology of Strigolactones. *Trends in Plant Science*, 18 (2): 1360-1385.
- Sanaa A, Abid SB, Boulila A, Messaoud C, Boussaid M, Fadhel NB (2015). Modeling Hydrochory Effects on the Tunisian Island Populations of *Pancratium maritimum* L. Using Colored Petri Nets. *BioSystems*, 29: 19–24.
- Sanaa A, Boulila A, Bejaoui A, BoussaidaM, Fadhel NB (2012). Variation of the Chemical Composition of Floral Volatiles in the Endangered Tunisian *Pancratium maritimum* L. Populations (Amaryllidaceae). *Industrial Crops and Products*, 40: 312–317.
- Sanaa A, Fadhel NB (2010). Genetic Diversity in Mainland and Island Populations of the Endangered *Pancratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 125 (4): 740-747.
- Savvides A, Ali S, Tester M, Fotopoulos V (2016). Chemical Priming of Plants Against Multiple Abiotic Stresses: Mission Possible. *Trends Plant Science*, 21: 329-340.
- Seckin B, Aksoy M (2013). The Responses of Ascorbate- Glutathione Cycle Enzymes in Seedlings of *Pancratium maritimum* L. under Drought Treatments. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 9 (2): 148-158.
- Seçkin B (2010). Tuzluluk Stresinin Bazı Arpa (*Hordeum Spp*) Türleri Üzerindeki Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- SeEVERS PM, DALY JM, CATEDRAL FF (1971). The Role of Peroxidase Isozymes in Resistance to Wheat Stem Rust Disease. *Plant Physiology*, 48 (3): 353-360.
- Sekmen Esen AH (2009). Tuz Stresinin Farklı Tuz Toleransına Sahip İki *Plantago Türünün* Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Senel G, Ozkan M, Kandemir N (2002). A Karyological Investigation on Some Rare and Endangered Species of Amaryllidaceae in Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, 34 (3): 229-235.

- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012). Reactive Oxygen Species Oxidative Damage and Antioxidative Defense Mechanism in Plants Under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 1-26.
- Smirnoff N (2000). Ascorbic Acid: Metabolism and Functions of a Multifaceted Molecule, *Curr Opin Plant Bio*, 3: 229–35
- Smirnoff N (2005). *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Blackwell Publishing Book.
- Soto MJ, Fernández-Aparicio M, Castellanos-Morales V, García-Garrido JM, Ocampo JA, Delgado MJ, Vierheilig H (2010). First Indications for the Involvement of Strigolactones on Nodule Formation in Alfalfa (*Medicago sativa*). *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 383-385.
- Sreenivasulu N, Grimm B, Wobus U, Weschke W (2000). Differential Response of Antioxidant Compounds to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Seedlings of Foxtail Millet (*Setaria italica*). *Physiologia Plantarum*, 109 (4): 435-442.
- Sür Altın D, Gürkan E, Mutlu G, Tuzlaci E, Ang Ö (1999). The Antifungal Activity of *Pancreaticum maritimum*. *Fitoterapia*, 70 (2): 187-189.
- Şereflioğlu S, Dinler BS (2015). Tuz Stresi Altındaki Soya (*Glycine max* L.) Yapraklarına Uygulanan Alfa-Tokoferolün Köklerde Oluşturduğu Etkilerin İncelenmesi. I. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, Erzurum, 77.
- Tsikakos D (2017). Assessment of Lipid Peroxidation by Measuring Malondialdehyde (MDA) and Relatives in Biological Samples: Analytical and Biological Challenges. *Analytical Biochemistry*, 524: 13-30.
- Türkan İ (2008a). Stres Fizyolojisi. Bitki Fizyolojisi 3. Baskıdan Çeviri. Ed. İ Türkan . Palme Yayıncılık, Ankara, 591-621.
- Türkan İ (2008b). Bitki Yapısı ve İşlevi. Biyoloji 6. Baskıdan Çeviri. Ed. E Gündüz, A Demirsoy, İ Türkan. Palme Yayıncılık, Ankara, 720-745.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Yozuka J (2008). Inhibition of Shoot Branching by New Terpenoid Plant Hormones. *Nature*, 455 (7210): 195.
- Waldie T, McCulloch M, Leyse O (2014). Strigolactones and the Control of Plant Development: Lessons From Shoot Branching. *The Plant Journal*, 79, 607-622.
- Woodbury W, Spencer AK, Stahmann MA (1971). An Improved Procedure Using Ferricyanide for Detecting Catalase Isozymes. *Analytical Biochemistry*, 44 (1): 301-305.
- Xie X, Yoneyama K, Kisugi T, Nomura T, Akiyama K, Asami T, Yoneyama K (2015). Strigolactones are Transported From Roots to Shoots, Although Not Through the Xylem. *Journal of Pesticide Science*, 40: 214-216.
- Xie X, Yoneyama K, Kisugi T, Uchida K, Ito S, Akiyama K, Yoneyama K. (2013). Confirming Stereochemical Structures Of Strigolactones Produced by Rice and Tobacco. *Molecular Plant*, 6 (1): 153-163.
- Yıldız M, Akçalı N, Terzi H (2015). Kanola (*Brassica napus* L.) Fidelerinde NaCl- Teşvikli Proteomik Değişimler Üzerine Dışsal Lipoik Asidin Etkisi. I. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, Erzurum, 66.

- Yıldız M, Terzi H, Akçalı N (2014). Tuz Stresi Altındaki Bitkilerin Metabolik Yollarındaki Proteom Değişimleri. BEÜ Fen Bilimleri Dergisi, 3 (1): 81-93.
- Yılmaz E, Tuna AL, Bürün B (2011). Bitkilerin Tuz Stresi Etkilerine Karşı Geliştirdikleri Tolerans Stratejileri. C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 7 (1): 47-66.
- Youssef DT, Frahm AW (1998). Alkaloids of the Flowers of *Pancreatium maritimum*. Planta Medica, 64 (7): 669-670.
- Zhang Y, Van Dijk AD, Scaffidi A (2014). Rice Cytochrome P450 MAX1 Homologs Catalyze Distinct Steps in Strigolactone Biosynthesis. Nature Chemical Biology, 10: 1028-1033.
- Zhu JK (2002). Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants. Annual Review of Plant Biolog, 53: 247-273.
- Zwanenburg B, Pospíšil T, Zeljković SĆ (2016). Strigolactones: New Plant Hormones in Action. Planta, 243 (6): 1311-1326.

ÖZGEÇMİŞ

Şahsine GÖK ÖZEL 15.11.1991 tarihinde Tekirdağ'da doğmuştur. İlköğrenimini, Naip İlköğretim Okulu'nda 2006 yılında tamamlamıştır. Lise öğrenimini 2010 Tuğlacılar Lisesi'nde tamamladıktan sonra Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümüne girmeye hak kazanmıştır. Lisans eğitimini 2014 yılında bitirmiş ve 2015 yılında Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünde yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Yüksek lisans eğitiminde ulusal ve uluslararası kongrelerde sunumlar yapmıştır.