

Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları

Şeküre Çulha ve Hüsnü Çakırlar

*Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06800, Ankara
e-posta: sekureculha85@hacettepe.edu.tr, husnuc@hacettepe.edu.tr*

Geliş Tarihi: 31 Kasım 2011; Kabul Tarihi: 07 Ocak 2012

Özet

Tuz stresi, özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde bitkilerin gelişimini etkileyerek ürün verimliliğini sınırlandıran önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Bitkilerde osmotik ve iyon stresine neden olarak büyümeyi ve gelişmeyi etkileyen tuz stresinin bu olumsuz etkileri; tuzun çeşidine, stresin düzeyine ve süresine, strese maruz kalan bitkinin genotipine ve gelişim evresine bağlı olarak değişir. Tuzluluğa maruz kalan bitkilerde çeşitli metabolik olayların ve özellikle de fotosentetik aktivitenin etkilenmesi bitkilerin hayatta kalma şansını azaltabilmektedir. Bazı bitkiler bu koşullara karşı duyarlılık gösterirken, bazıları çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevaplar ile indüklenen tolerans mekanizmalarıyla hayatta kalmayı başarırlar. Tuzluğa karşı bu tolerans mekanizmalarını sağlayan fizyolojik ve biyokimyasal cevapları; iyonların seçici olarak biriktirilmesi veya atılması, kökte iyon alımının ve sürgüne iletiminin kontrolü, iyonların bitkide ve hücrelerde belirli bölümlerde biriktirilmesi, osmotik düzenleyicilerin sentezi ve antioksidan sistemler oluştururken; moleküler cevapları sinyal iletim yolları ile çeşitli genlerin aktivasyonu ve /veya inaktivasyonu oluşturur. Fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevapların sonucunda bitkilerde tuz regülasyonunun korunması sağlanır.

Anahtar kelimeler

Tuz stresi; tuz toleransı; morfolojik ve oksidatif değişiklikler; tolerans mekanizmaları.

Abstract

Salt stress is one of the abiotic stress factors which restricts crop productivity to affect developments of plant especially in arid and semi arid regions. Salt stress negatively affects plant growth and development by causing osmotic and ionic stress, these negative effects alter depending on the type of applied salt, the intensity and duration of the stress, the genotype and the development stage of plant exposure to the stress. In plants exposed to salinity may reduce the chance of survival to affected various metabolic events and photosynthetic activities particularly. While some of plants shows susceptibility to this conditions, some of them achieve to survive with tolerance mechanisms which is induced with various physiological, biochemical and molecular responses. As physiological and biochemical responses which provide tolerans mechanisms against the salinity consist of excretion or accumulation of selective ions, controls of taking ions at root and transferring to shoot, accumulation of the ions at specific compartments of cell and plant, synthesis of osmotic regulators and antioxidant systems, molecular responses occurs signal transmission ways with activation/inactivation of various genes. As a result of physiological, biochemical and molecular responses, protection of salt regulation is procured at the plants.

Key words

Salt stress; Salt tolerance; morphologically and oxidative changes; tolerance mechanisms.

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

1.Giriş

Bitkiler en iyi gelişimi kendileri için optimum olan koşullarda gösterirler. Normal metabolizmanın esnekliğine bağlı olarak, bitkiler günlük ve mevsimlik değişimler karşısında büyümelerini devam ettirebilmelerine rağmen, beklenmedik bir koşula sürekli veya zaman zaman maruz kalmaları sonucunda, gelişimlerini ve hayatta kalmalarını

etkileyecek hastalıklar, hasarlar veya fizyolojik değişimler meydana gelebilir (Shao vd., 2008). Bu elverişsiz şartlara sebep olan faktörlere “stres” denir. Bitkileri etkileyen stres faktörleri biyotik (bitkiler, mikroorganizmalar, hayvanlar ve antropogenik etkiler) ve abiyotik stres faktörleri (radyasyon, sıcaklık, su, gazlar, mineraller vb.) olmak üzere ikiye ayrılır (Larcher, 1995).

Abiyotik streslerden minarel stresi %20'lik oranıyla kuraklıktan (%26) sonra kullanılabilir alanları en fazla etkileyen stres faktörüdür (Blum, 1986). Minarel stresinin çoğunu tuzluluk oluşturur ve dünyada tuzluluğa maruz kalmış alan 9 milyon ha'dan fazladır (Tuteja, 2007). Yeryüzünde tarım alanlarının %17'si sulanmakta olup bu sulanan tarım alanlarının yaklaşık %20'sinin (227 milyon ha) tuzdan etkilendiği belirlenmiştir (Pitman ve Läuchli, 2002; Tuteja, 2007). Türkiye'de ise çorak alanlar yüzey alanının %2'sini kaplamaktadır ve bu çorak alanların da %74'ünü (yaklaşık 12 bin ha) tuzlu topraklar oluşturmaktadır (Kendirli vd., 2005). Dünyada verimli toprakları kuşatan tuz stresi, bitkilerin gelişimini yapısal, fizyolojik ve biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarında değişimlere neden olarak etkilemektedir.

Bu derlemede, tuz stresine maruz kalan bitkilerde meydana gelen değişimleri morfolojik, yapısal, fotokimyasal, biyokimyasal ve moleküler düzeyde inceleyen son yıllardaki çalışmalar referans alınarak bu konu ile ilgili literatürün güncelleştirilmesi amaçlanmıştır.

2. Tuz Stresi

Tuzluluk, artan insan nüfusu ile birlikte dünyamızda verimli tarımı tehlikeye atarak besin ürünlerinin üretimini önemli düzeyde kısıtlayan çevresel faktörlerden birisidir (Botella vd., 2005). Tuzluluk, oluşma sebeplerine göre primer (doğal) ve sekonder tuzluluk olarak ikiye gruba ayrılabilir. Primer tuzluluğun oluşma nedenlerini; ana kayaların ayrışması, tuz deposu okyanuslar ve iklimsel etmenler oluşturmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Sekonder tuzluluğun oluşma sebepleri ise; tarımsal alanlarda yoğun sulama ile çeşitli tuzlar bakımından zengin yer altı suyu seviyesinin toprak yüzeyine kadar yükselmesi, aşırı otlatma, bir bölgenin doğal vejetasyonunu yok ederek tarım arazilerinin açılması ve toprakların tuzluluğa sebep olan kimyasallarla kontaminasyonu (Pessarakli ve Szabolcs, 1999) olarak sıralanabilir. Dünyadaki tuzdan etkilenmiş toprakların büyük kısmını Na_2SO_4 ve NaCl 'nin sebep olduğu tuzlu topraklar oluşturmaktadır (Pessarakli ve Szabolcs,

1999).

3. Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkisi

Tuz stresi, bitkilerin büyümesini ve gelişmesini osmotik ve iyon stresine neden olarak engeller (Parida ve Das, 2005). Kök rizosferinde tuz miktarının artmasıyla birlikte ilk olarak osmotik stres oluşmaktadır. Oluşan bu dışsal osmotik stres, kullanılabilir su miktarının da azalmasına sebep olur ve bu olay "fizyolojik kuraklık" olarak da adlandırılır (Tuteja, 2007). Kullanılabilir su miktarının azalması, hücre genişlemesinin azalmasına ve sürgün gelişiminin yavaşlamasına neden olur. Osmotik stresin devamında ortaya çıkan iyon stresi evresinde, ortamda artan Na ve Cl iyonlarının K^+ , Ca^{+2} ve NO^{-3} gibi gerekli besin elementleri ile rekabete girmesiyle bitkilerde, besin eksikliği veya besin dengesizliği meydana gelir (Hu ve Schmidhalter, 2005).

Tuzluluk, bitkiler üzerindeki doğrudan etkisini osmotik ve iyon stresi oluşturarak gösterirken, dolaylı etkisini (sekonder etki) bu stres faktörleri sonucu bitkide meydana gelen yapısal bozulmalar ve toksik bileşiklerin sentezlenmesi ile gösterir. NaCl 'nin sebep olduğu başlıca sekonder etkileri; DNA, protein, klorofil ve zar fonksiyonuna zarar veren aktif oksijen türlerinin (AOT) sentezi; fotosentezin inhibisyonu; metabolik toksisite; K^+ alımının engellenmesi ve hücre ölümü olarak sayılabilir (Botella vd., 2005; Hong vd., 2009).

Tuz stresinin bitkiler üzerindeki etkileri; bitkinin çeşidine, uygulanan tuz çeşidi ile miktarına ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişmektedir. Tuzlu ortamlarda bitkiler genotipik farklılıklara bağlı olarak çok farklı cevaplar verirler (Dajic, 2006). Tuzluluğa karşı verilen bu farklı büyüme cevapları sadece farklı iki bitki türü için değil aynı türün farklı çeşitleri için de geçerlidir (Munns, 2002a)

3.1. Organ Düzeyinde Etkisi

Tuz stresi, hücre bölünmesini ve uzamasını etkileyerek, bitkilerde kök ve gövdede hücre sayısının, mitotik aktivitenin ve hücre bölünme oranının azalmasına neden olur (Burssens vd.,

2000). Buna bağlı olarak bitkinin gövde ile kök uzunluğunda ve ağırlığında azalma; yapraklarda küçülme ve incelme ile sayılarında azalma; yaprak yüzeyinde bulunan mumsu tabaka ile kutikula tabakasında incelme; vasküler doku farklılaşmasında ve gelişiminde azalma meydana gelir. Ayrıca, erken dönemde kökte lignifikasyon oluşumu da gözlenir (Mohammad vd., 1998; Reddy ve Iyengar, 1999).

NaCl'e direkt olarak maruz kalan kök sistemlerinden primer kök sisteminin büyümesi, hücre genişlemesi ve hücre döngüsünü baskılaması sonucunda doğrudan engellenir (Wang vd., 2009). Kök tüyleri ise artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak aktivitelerini kaybeder ve kaybolurlar (Ali vd., 1999). Kök sistemi tuzluluğa doğrudan maruz kalmasına karşın, yaprak büyümesi tuz stresine karşı kök büyümesinden daha duyarlıdır ve bu yüzden tuz stresinde bitkilerde kök/sürgün oranı artar. Bu artışın mekanizması henüz açıklanamamış olmasına rağmen, tuzluluk karşısında kök ile yaprağın hücre duvarlarında farklı değişimlerin meydana gelmesi buna neden olarak gösterilmektedir (Munns ve Tester, 2008).

Tuz stresi bitkinin bütün gelişim evrelerini etkilemesine rağmen, en çok etkilenen evre tohum üretim safhası, dolayısıyla da tohum verimidir (Khatun ve Flowers, 1995). Ayrıca tuzluluk, bitkilerde reprodüktif evrede üretken çiçek sayısında azalmalara ve çiçeklenme zamanında değişimlere de neden olur (Munns, 2002b).

3.2.Hücresel Düzeyde Etkisi

3.2.1. Hücre zarı ve hücre duvarı üzerine etkisi

Hücre duvarı, bitki hücrelerinde hücrenin en dışında bulunan, hücrenin salgıladığı polisakkaritler ve polimerlerden oluşan, hücrenin hacmini düzenlemek ve şeklini belirlemek gibi temel işlevlere sahip destek örtüsüdür. Tuz stresi koşullarında apoplastta yüksek konsantrasyonda Na^+ birikir. Biriken Na^+ , hücre duvarı yapısında bulunan pektin gibi yapısal elemanların iyonik bağlantılarını bozarak veya apoplastik enzimleri olumsuz yönde etkileyerek hücre duvarının temel

işlevlerini yerine getirmesini engelleyebilir (Rengel, 1992).

Tuz stresinin bir diğer zararlı etkisi ise hücre zarı üzerinedir. Hücre zarı, çift fosfolipid tabakası ile bu tabakanın içinde gömülü proteinlerden oluşan seçici geçirgen bir zardır. Tuz stresi zarın yapısındaki lipid kompozisyonunun değişimini tetikleyerek zar hasarlarının oluşumuna neden olur. Lipid kompozisyonundaki değişimler, lipidlerin sentezlenmesinde görev alan enzimlerin aktivitesindeki değişimler, degradasyonlar (parçalanma, yıkılma) veya fosfolipid çeşitlerinin hidrolizi sonucu meydana gelir (Huang, 2006) ve bu durum, zarın akışkanlığını, geçirgenliğini ve zar proteinlerinin aktivitesini etkiler (Wu vd., 1998). Ayrıca tuz stresi, lipidlerin parçalanma ve modifikasyonunda görev alan lipoksigenaz enzim aktivitesinin artmasını da sağlamaktadır ve bu artış hücre zarında yer alan fosfolipidlerin miktarının azalmasını tetiklemektedir (Huang, 2006).

Hücre zarındaki lipidler, proteolize karşı koruma sağlayan ve hidrojen atomlarının komşu olduğu olefinik çifte bağlar bakımından zengindir. Bu olefinik bağlar, tuz stresine bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif saldırıların ana hedeflerinden biridir. Oksidatif stres ile oluşan bazı AOT'ların hücre zarındaki lipidlere saldırması sonucu zarda lipid oksidasyonu meydana gelir (Parida ve Das, 2005). Tuz stresi olefinik bağları etkilemesinin yanı sıra, hücre zarındaki sterollerin serbest hale geçmesine de neden olur. Serbest hale geçen steroller fosfolipidlerin yağ asidi zincirleri ile etkileşime girer ve hücre zarının akışkanlığı azalır (Reddy ve Iyengar, 1999).

3.2.2. İyon içeriği üzerine etkisi

NaCl, su potansiyelini azaltmasının yanı sıra, hücredeki iyon dengesini bozarak da bitki gelişimini etkilemektedir. Yüksek miktarda NaCl alımı hücrede Na^+ ve Cl^- düzeyinin artmasına, Ca^{+2} , K^+ ve Mg^{+2} konsantrasyonlarının ise azalmasına sebep olur (Parida ve Das, 2005). Hücreye giren Na^+ , zar potansiyelini bozar ve anyon kanalları vasıtasıyla hücre dışındaki Cl^- 'un pasif olarak hücreye girişini kolaylaştırır (Niu vd., 1995; Tuteja, 2007).

Büyüme ve gelişme için gerekli temel elementlerden biri olan K^+ , osmotik dengenin korunmasında, enzim aktivitesinin düzenlenmesinde, protein sentezinde, negatif yüklü proteinlerin nötralizasyonunda ve stomaların hareketinde rol alır (Wu vd., 1996). Bitki hücrelerinde birçok sitozolik enzimin fonksiyonel olabilmesi belirli bir Na^+-K^+ dengesine bağlıdır (Mahajan vd., 2008). Dış ortamda Na^+ miktarının artmasıyla hücreye Na^+ 'un girişi artarken, K^+ 'un hücreye alınımı azalır, buna bağlı olarak da Na^+-K^+ dengesi bozulur. Bunun sebebi, Na^+ 'un, K^+ 'un bağlanacağı alanlar için K^+ ile yarışmasıdır (Tester ve Davenport, 2003).

Büyüme ve gelişme için gerekli temel elementlerden bir diğeri de Ca^{+2} iyonudur. Tuz stresi, K^+ gibi Ca^{+2} alınımını da olumsuz etkilemektedir. Na^+ , hücre zarındaki Ca^{+2} ile yer değiştirerek zarın apoplast kısmında Na^+/Ca^{+2} iyon oranının artmasını sağlar. Bu durumda, zarın fizyolojik ve fonksiyonel yapısı bozulur ve hücrenin Ca^{+2} dengesi etkilenir. Yüksek Na^+ konsantrasyonu; hücrenin iç zar yapılarında bağlı halde bulunan Ca^{+2} 'ların serbest hale geçerek içsel Ca^{+2} depolarının boşalmasına ve hücrede serbest Ca^{+2} 'un artışına neden olur (Yokoi vd., 2002). Ayrıca, NaCl birikiminin mikrotübüllerin depolimerizasyonuna neden olduğu ve hücre bölünmesinde iğ ipliklerinin oluşumunu engellediği düşünülmektedir (Rengel, 1992).

3.2.3. Organel düzeyinde etkisi

Tuz stresinde en belirgin değişimlerin meydana geldiği organel, kloroplasttır (Koyro, 2002). NaCl'ün kloroplastta tetiklediği en önemli değişim tilakoidlerin ve stromanın şişmesidir. Kloroplast tilakoidleri, hücre içi AOT'ların üretiminde önemli role sahiptir. NaCl'ün bulunduğu koşullarda kloroplastların ürettiği AOT'lar oksidatif stres oluşumunu tetikler ve oluşan OH^- (hidroksil radikali) ile H_2O_2 (hidrojen peroksit), tilakoidlerin şişmesine ve dalgalı bir hal almasına sebep olur. Bu durum, tuz stresinin tilakoidler üzerine etkisinin dolaylı yönden olduğunu göstermektedir (Hernandez vd., 1995; Miyake vd., 2006a).

Kloroplastlarda nişasta miktarı da tuz stresine bağlı olarak artar. Bunun nedeni sukroz (sakkaroz) sentezlenmesini sağlayan sukroz fosfat sentaz'ın zarar görmesi olabileceği gibi kloroplastlarda nişasta parçalayan enzimlerin zarar görmesi de olabilir (Rahman vd., 2000). Ayrıca, translokasyonun azalması da nişastanın birikmesine sebep olabilecek etmenlerden bir diğeridir (Koyro, 2002).

Kloroplastlarda plastoglobülinlerin sayısı ve boyutunda artış olması ile grana lamellerinin bozulması, tuz stresinin neden olduğu cevaplardan diğer bir kaçını oluşturur. Grana lamellerinin bozulma nedeni, tuz stresinin iyonik kompozisyonunun değişmesini tetiklemesi ile grana lamellerinin oluşumunu kontrol eden ve yüzeyinde yer alan elektrik yükünün bozulmasıdır (Rahman vd., 2000).

Ayrıca, tuz stresi hücrelerde lipid damlacıkları birikimini de tetikler. Bu damlacıklar hücre zarındaki lipidlerle ilişkili olabileceği gibi, tuzluluğu tolere edebilmek için artan metabolik enerji ihtiyacının karşılanması amacıyla enerji kaynağı olarak da birikebilir (Rahman vd., 2000).

Tuz stresinde önemli düzeyde etkilenen bir diğer organel ise mitokondridir ve mitokondride tuz stresi sonucu ortaya çıkan değişimler; yapısal olarak parçalanma, şişme, kristalarda azalma, vakuol oluşumunda artış ve elektron transportunun azalmasıdır (Koyro, 2002). Kloroplastlarda olduğu gibi mitokondride de AOT'lar üretilmektedir. Elektron transport zincirlerinden sızan elektronlarla üretilen AOT'lar (Blockhina ve Fagerstedt, 2010) ve antioksidan enzimlerin aktivitesinde meydana gelen azalmalar (Mittova vd., 2004) nedeniyle ortaya çıkan oksidatif stres, mitokondrilerin NaCl'ün toksik düzeyde birikmesinden hem direkt olarak hem de dolaylı olarak etkilendiklerini ortaya koymaktadır.

Tuz stresi, hücrenin diğer organellerini de etkilemektedir. Tuz stresinde çekirdek boyutunda değişimler, degradasyonlar ve bu degradasyonları takiben yıkımlar, endoplazmik retikulumda kısmi şişmeler ve vakuolizasyon; tonoplastta vesikülasyon ve parçalanma ile golgi aparatında hipertrofi (aşırı büyüme) gözlenir (Katsuhara ve

Kawasaki, 1996; Rahman vd., 2000).

4. Fotosentez Üzerine Etkisi

Fotosentetik aktivite; yüksek tuz konsantrasyonunda zarar görürken, düşük tuzlulukta azalmaktadır. Bu durumun nedeni, stomaların kapanmasına bağlı olarak gerçekleşen stoma kaynaklı sınırlamalar, stoma kaynaklı olmayan sınırlamalar veya her iki sınırlamanın etkisi olabilir (Ashraf, 2004).

4.1. Stomaların Kapanması

Tuz stresi, ortamda osmotik basıncı arttırarak kullanılabilir su içeriğini azaltır. Bu sorunla karşı karşıya kalan bitkilerde transpirasyon ile su kaybını önlemek için meydana gelen ilk tepki, stomaların kapanmasıdır. Stomaların kapanması transpirasyonu engelleyerek stoma iletkenliğinin azalmasına sebep olur (Munns ve Tester, 2008). Stoma iletkenliğinin azalması ile kloroplastlara giren CO₂ miktarı sınırlandırılır (Degl'Innocenti vd., 2009) ve bu durumda asimilasyon oranı da azalır.

Tuz stresinin neden olduğu stoma kapanması; su potansiyeli ve turgor basıncındaki azalmaya bağlı olarak hiçbir metabolik katılım olmaksızın kapanma (hidropasif kapanma) ve stomaların açılmasını sağlayan metabolitlerin geri dönüşümüne bağlı olarak kapanma (hidroaktif kapanma) olmak üzere iki şekilde gerçekleşir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bitkiler, stoma kapanmasının hidroaktif olarak gerçekleşmesi için çeşitli kimyasal sinyal molekülleri sentezlerler. Bu kimyasal sinyal moleküllerinden biri olan ABA, önemli bir stres hormonu olup bitki büyüme ve gelişmesini düzenlemesinde, osmotik stres toleransı ile bitki su dengesinin kontrol edilmesinde görev alır (Zhu, 2002).

Düşük su potansiyeli altında ABA, iki kaynak (kök ve yaşlı yapraklar) tarafından ksileme aktararak stoma hücrelerine taşınır (Zhang vd., 2006). Topraktaki düşük su potansiyeli öncelikle önemli su/tuz stres sensörü olan kök ucu tarafından algılanır ve kökte ABA sentezlenir. Sentezlenen ABA ksileme aktarılır ve transpirasyon akıntısı ile sürgünlere taşınır. Taşınan ABA, sürgünlerden su

kaybı durumunda stomal iletkenliği düzenleyerek yaprak su içeriğinin azalmasını engeller (Berkowitz, 1998). Bu koşullarının devam etmesi durumunda stres daha şiddetli bir hal alır ve yaşlı yapraklar, ana gövde ile düşük hidrolik bağlantı veya stomal iletkenlik kontrolünün daha da zayıflamasından dolayı sararır. Bu sararmış yapraklarda da ABA sentezlenir ve ksileme aktarılır. Ksilemde miktarı artan ABA sayesinde genç yapraklarda daha şiddetli stomal inhibisyon meydana gelir (Zhang vd., 2006).

4.2. Fotosentetik Mekanizmanın Bozulması

NaCl, stomaların kapanmasını tetiklemesinin yanında, kloroplast tilakoidlerinde yer alan proteinlerin yapısında da değişimlere neden olarak elektron transport aktivitesini etkilemektedir. Yapılan çalışmalar, artan Na⁺'un oksijen oluşturan kompleksin yapısında değişimler meydana getirmesi ve PSII'nin reaksiyon merkezinde yer alan D1 proteininin degradasyonuna neden olması sebebiyle, NaCl'ün tilakoid zarda asıl hedefinin PSII olduğunu göstermektedir (Ferroni vd., 2007). Ayrıca, tuz stresinin fotosistemlerin Işık Toplayıcı Komplekslerinde (ITK) yer alan fotosentetik pigmentlerin (klorofil ve karotenoid) miktarının azalmasına da neden olduğu saptanmıştır (Parida ve Das, 2005).

Tuz stresi, D1 proteininin tamir mekanizmalarını inhibe eder. Işığı fotosentetik elektron transportunda kullanmak için absorbe eden bitkiler, günlük olarak birkaç saat boyunca daha fazla ışığa maruz kalırlar ve bu kullanılmayan fazla ışık çeşitli mekanizmalarla dağıtılır. Eğer bu dağılımı düzgün bir şekilde gerçekleşmez ise maksimum fotosentez oranı ve/veya fotosentez etkinliği azalır ve bu olay fotoinhibisyon olarak adlandırılır (Lu vd., 2002). Fotoinhibisyon sonucu PSII boyunca elektron taşınması engellediği gibi, PSII'de serbest O₂'den bir AOT çeşidi olan süperoksit radikali de sentezlenebilir (Pandey vd., 2009). Ayrıca bu durumda P680 molekülü aşırı indirgenerek singlet oksijen oluşturacak triplet forma dönüşebilir (Apel ve Hirt, 2004). Fazla ışık enerjisi, D1 proteininde degradasyonuna ve bu proteinin PSII kompleksi ile olan sıkı bağlantısının serin-tipi bir proteinaz

tarafından parçalanmasına da sebep olur (Aro vd., 1993). Bitkiler, fazla ışığın meydana getirdiği bu hasarı düzeltmek için degrade olmuş D1 proteinini parçalayarak, yenisini sentezleyebilecek PSII tamir mekanizmalarına sahiptir (Sundby vd., 1993). PSII'nin tamiri mekanizmasında D1 proteininin yeniden sentezlenmesini sağlayan transkripsiyon ve translasyon aşamaları ortamda bulunan NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak inhibe olmaktadır (Allakhverdiev vd., 2002).

Tuz stresi, PSII gibi PSI'i de etkilemektedir. Stomaların kapanmasına bağlı olarak CO₂ miktarı sınırlandırıldığında O₂, PSI tarafından da indirgenir Calvin döngüsündeki enzimlerin inaktivasyonu döngüye katılan NADPH'nin indirgenememesine neden olur. PSI'deki ferredoksin, ortamda indirgeyecek NADP⁺ bulamayınca elektronunu Ferredoksin NADP redüktaz (FNR) yerine O₂'e aktarır ve O₂, H₂O₂'e dönüştürülür. Buna Mehler reaksiyonu adı verilir (Asada, 1999; Apel ve Hirt, 2004).

Karbon reaksiyonlarının karboksilasyon evresinde CO₂'in Calvin döngüsüne katılmasını sağlayan enzim Rubisko'dur. Tuz stresinde, stoma kaynaklı CO₂ fiksasyonunun sınırlandırılması sonucu, O₂ ortamda azalan CO₂ ile rekabete girerek rubiskoya substrat olarak bağlanır ve enzimin karboksilaz aktivitesi azalırken oksijenaz aktivitesinin artmasına neden olur (Sivakumar vd., 2000). Rubiskonun oksijenaz aktivitesinin artışı tetikleyen bir diğer faktör ise stomaların

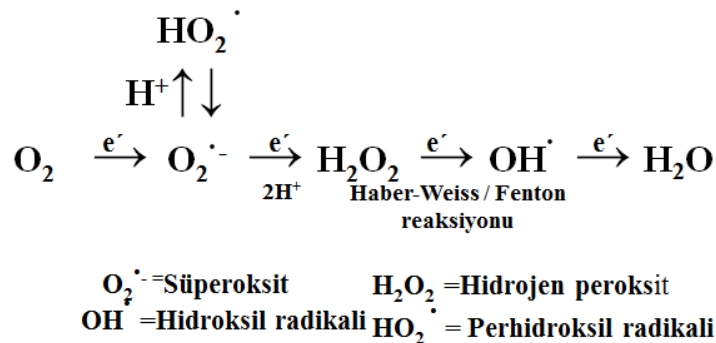
kapanmasıyla meydana gelen sıcaklık artışıdır (Apel ve Hirt, 2004). Ayrıca, tuz stresi kloroplast stromasında pH'nın azalmasına da sebep olabilir ve bu durum karbon reaksiyonlarında görev alan enzimlerin aktivitelerini olumsuz etkiler. Örneğin; Fruktoz-1,6-bisfosfat enziminin aktivitesi, çok küçük pH düşüşlerinde bile ciddi düzeyde azalır (Berkowitz, 1998).

5. Oksidatif Stres Oluşumu

5.1. Aktif Oksijen Türleri (AOT)'nin Sentezi

Bitkiler ve tüm aerobik canlılar için atmosferik oksijen (O₂) düzeyi oldukça önemlidir. O₂ normal koşullar altında bitki büyümesi ve gelişmesi için gerekli iken, konsantrasyonu gereğinden fazla arttığı zaman, ölüm ile sonuçlanabilecek hücre hasarları oluşmasına neden olabilir. Bunun nedeni, moleküler oksijenin hücrede sürekli indirgenerek çeşitli aktif oksijen türlerini oluşturmasıdır (Şekil 1).

Hücre metabolizmalarda AOT'ları sürekli üretilmektedir ve bitki hücreleri normal koşullar altında bu AOT'ların miktarını antioksidanlar ve çeşitli korunma sistemleri ile düşük düzeyde tutmaktadır. Ancak, çevresel stres faktörlerinin (tuzluluk, kuraklık, yüksek veya düşük sıcaklık, UV, ozon gibi) etkisi altında antioksidan sistemlerin aktiviteleri azalır ve bu koşullar AOT'ların sentezlenmesini tetikleyerek birikimine neden olur (Breusegem vd., 2001).



Şekil 1. AOT'ların kimyası. AOT'lar genellikle moleküler oksijenin kademeli indirgenmesi ile oluşur (Desikan vd., 2005'den modifiye edilerek alınmıştır).

AOT'lar [singlet oksijen (¹O₂), süperoksit molekülü (O₂^{·-}), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve

hidroksil radikali (OH[·]), perhidroksil radikali (HO₂[·])]; moleküler O₂'nin H₂O oluşturmak için enerji veya

elektron transferinin gerçekleştirdiği indirgenme reaksiyonlarının ara ürünleridir (Apel ve Hirt, 2004). Stres koşulları altında artan AOT'lar; zarda lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, enzim inhibisyonuna, klorofil parçalanmasına, DNA ile RNA'da hasarlara ve hücre ölümlerine neden olurlar (Mittler, 2002). Ayrıca AOT'lar; bitki gelişiminde önemli rol oynayan hormonal sinyal üretiminde, hücre duvarı polimer yapısının değişiminde, bitkinin çevreyi algılamasıyla ilişkili mekanizmalarda, gen ekspresyonlarında, metabolik ve fizyolojik düzenlemelerde kritik fonksiyonlara sahip olması nedeniyle "oksidatif sinyal molekülü" olarak da görev alırlar (Swanson ve Gilroy, 2010).

AOT'lar bitki hücrelerinin birçok bölümünde, farklı yollarla sentezlenir. Kloroplastlar, AOT'ların en önemli kaynağını oluşturur ve bunlar, pigmentlerin yüksek enerjili eksitasyonu ve elektron akışı esnasında O_2 'nin indirgenmesi sonucu sentezlenir (Galvez-Valdivieso ve Mullineaux, 2010). Mitokondride de elektron taşıma sisteminde yer alan kompleksler tarafından AOT'ların sentezi gerçekleştirilir ve sentezlenme düzeyi dışsal uyarımlara bağlı olarak artar (Blokhina ve Fagerstedt, 2010). Peroksizom ise AOT'ların sentezlendiği diğer bir organel olup AOT'lar, burada ksantin oksidaz, glikolat oksidaz ve yağ asidi oksidasyon enzimleri tarafından sentezlenir. Ayrıca AOT'ların sentezi; apoplastta amin oksidaz ile okzalot oksidaz enzimleri tarafından, hücre duvarında ise hücre duvarına bağlı peroksidazlar ve NADPH oksidazlar tarafından gerçekleştirilir (Mittler, 2002; Desikan vd., 2005).

Moleküler O_2 , normal koşullar altında ortamdan aldığı dört elektron ile H_2O 'ya indirgenir. Eğer O_2 bulunduğu ortamdan sadece bir elektron alırsa $O_2^{\cdot-}$ 'ne indirgenir (Şekil 1). $O_2^{\cdot-}$ dış yörüngesinde bulunan paylaşılmamış bir elektrona sahip olması nedeniyle kararsız bir moleküldür ve kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz enzimi tarafından H_2O_2 'e indirgenir. H_2O_2 'in biyolojik toksisitesi -SH (tiyol) gruplarını okside etmesinden kaynaklanır. Diğer AOT'lara göre daha kararlı olan ve yüklü bir molekül olmadığı için membranlardan geçebilme özelliğine sahip H_2O_2 (Blokhina ve Fagerstedt, 2010) yüksek konsantrasyonlarda toksik bir molekül olarak,

düşük konsantrasyonlarda olduğunda ise sinyal molekülü olarak da görev alır (Fedina vd., 2009). $O_2^{\cdot-}$ ise yükünden dolayı zarları geçebilecek özelliğe sahip olmamasına rağmen yükseltgenerek yüksüz HO_2^{\cdot} 'ni oluşturabilir (Şekil 1) (Breusegem vd., 2001; Desikan vd., 2004).

Aktif metaller varlığında H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ile birlikte Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu ile OH^{\cdot} 'ne dönüştürülür (Breusegem vd., 2001). Hücresel reaksiyonlar sonucu geçiş metal iyonlarının (Fe^{+2} , Cu^{+2}) serbest bırakılması OH^{\cdot} 'nin oluşumunu tetikler. OH^{\cdot} , diğer AOT'lara göre daha reaktif olup (Jamei vd., 2009) DNA, karbohidratlar, lipidler ve proteinlerle etkileşime girer ve bu makromoleküllerde oksidatif hasar meydana gelir (Blokhina ve Fagerstedt, 2010). AOT'lar arasında en fazla hasar oluşturan OH^{\cdot} olduğu için hücreler katalitik metalleri etkin bir biçimde metalosaperonlara dönüştürerek OH^{\cdot} 'nin oluşumundan sakınırlar (Jasper ve Kangasjärvi, 2010).

5.2. Aktif Oksijen Türlerine Karşı Geliştirilen Savunma Mekanizmaları

Bitkilerin tuz stresine karşı dayanıklılığını arttırmak için, artan AOT'ların neden olduğu oksidatif hasarları azaltması gerekmektedir. Bu yüzden bitkiler, AOT'ların sentezlenmesini engellemek için çeşitli korunma yöntemleri geliştirmişlerdir. Bu yöntemler: (1) Yaprak hareketleri ve kıvrılma, ışığın epidermiste kırılması ve stomaların özel yapılarda tutulması gibi anatomik adaptasyonlar; (2) C4 ve CAM metabolizması gibi fizyolojik adaptasyonlar; (3) Işığın niteliğine ve şiddetine bağlı olarak, fotosentetik aparatların ve anten sistemlerinin yeniden düzenlenmesi ile fotosentezin tümüyle baskılanmasını içeren moleküler mekanizmalar; (4) Alternatif oksidazların (AOS) sentezidir (Mittler, 2002).

Bitki, fungus ve protista mitokondrileri ikiye ayrılmış elektron transport zincirine sahiptir. Bitkilerde sitokrom respiratör yolun yanı sıra, ana respiratör zincirlerinin bir basamağı olan ve ubikinondan elektronları uzaklaştıran ikinci bir alternatif yol daha vardır (Vanlerberghe ve

McIntosh, 1997). Bu alternatif yolu, alternatif oksidaz (AOS) denilen ve içsel mitokondriyal zar da bulunan homodimer bir protein oluşturur (Şekil 2-d) (Umbach ve Siedow, 1993). Stres koşullarında zar yapısının değişmesiyle sitokrom respiratör yolunun işlevi sınırlandırılmasıyla AOT'ların sentezi artar. Alternatif yol bu durumda elektron akışını kendisine çevirir ve ortamdaki O_2 'i suya indirgeyerek mitokondride AOT'ların düşük miktarda tutulmasını sağlar (Maxwell vd., 1999). Ayrıca mitokondrideki AOS'lerin bir homologunun kloroplast tilakoidlerinde de bulunduğu ve plastokinon havuzunda bulunan elektronları kullanarak O_2 'i H_2O 'ya indirgediği belirtilmiştir (Şekil 2-a) (Mittler vd., 2004).

Sakinme yöntemleri dışında AOT'ların toksik düzeye ulaşmasının engellenmesi, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler tarafından gerçekleştirilir (Bohnert vd., 1999). Enzimatik olmayan antioksidan sistemlerini önemli redoks tepkimelerine tampon görevi yapan askorbat, glutatyon (GSH), α -tokoferoller, karotenoidler ve fenolik bileşikler oluşturur. Enzimatik savunma sistemlerini ise süperoksit dismutaz (SOD) askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve peroksidaz (POD), monodehidroksiaskorbat redüktaz (MDAR) ve dehidroksiaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon peroksidaz (GPX) enzimleri oluşturur (Mittler vd., 2004).

SOD; AOT'lara karşı koruyucu sistemin ilk adımını oluşturmaktadır ve iki molekül O_2^- ile reaksiyona girerek birer molekül H_2O_2 ve O_2 sentezlenmesini sağlar (Asada, 1999). O_2^- , H_2O_2 gibi zarlardan difüze olabilme özelliğine sahip olmadığından, bu molekülün sentezlendiği hücrel bölümlerde ortadan kaldırılması için SOD enzimi bulunur (Alscher vd., 2002). Metallo enzimler grubunda yer alan SOD, Mangan SOD (Mn SOD), Bakır-çinko SOD (CuZn SOD) ve Demir SOD (Fe SOD) olmak üzere içerdiği metal gruplarına göre üç farklı izoenzim çeşidine sahiptir. Bu izoenzimlerden Fe SOD kloroplastlarda, Mn SOD mitokondri ile peroksizomda ve CuZn SOD ise kloroplast, peroksizom, sitozol ve hücreler arası boşlukta bulunur (Alscher vd., 2002). Stres koşulları altında SOD aktivitesinin artması ve bu düzeyin korunması,

gen ekspresyonunun ve SOD transkripsiyonunun artmasına bağlıdır (Minkov vd., 1999).

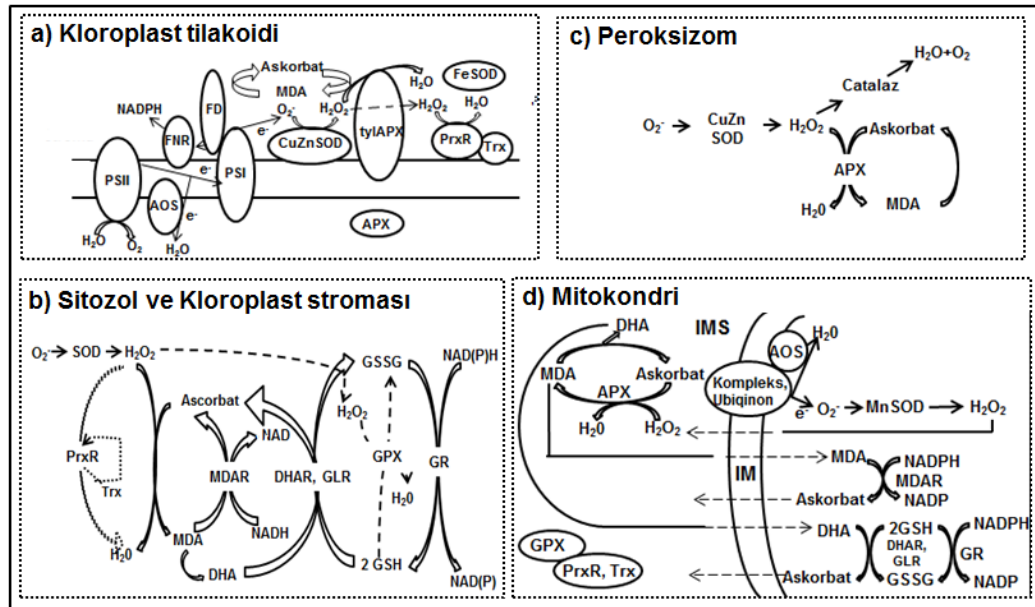
O_2^- 'den sentezlenen H_2O_2 , tiol gruplarını oksitleyen güçlü bir oksidant olduğu için, bu AOT çeşidinin, tiol-düzenleyici enzimlerin bulunduğu organellerde birikmesi engellenmelidir (Noctor ve Foyer, 1998). SOD'un sentezlediği H_2O_2 'i CAT, POD ve APX enzimleri detoksifiye eder. CAT, H_2O_2 'i O_2 'e ve H_2O 'ya dönüştüren enzimdir (Şekil 2-c) ve bu enzim yüksek bitkilerde peroksizomda bulunur (Jamei vd., 2009). Yüksek katalitik aktiviteye fakat düşük substrat afinitesine sahip CAT kloroplastta bulunmadığı için buradaki tiol-düzenleyici enzimlerin korunmasında görev alamaz. Bu enzimin yerine ortamdaki H_2O_2 'leri detoksifiye eden ve H_2O_2 'e karşı daha yüksek affinite gösteren POD'lar bulunur (Noctor ve Foyer, 1998). POD, fenolik bileşikler ve/veya antioksidanlar gibi yardımcı substratlarla H_2O_2 'i suya dönüştürür (Meloni vd., 2003).

APX, H_2O_2 detoksifikasyonunda yer alan diğer bir enzim olup bu enzimin izoenzim grupları kloroplast stroması ile tilakoid zarı, mitokondri, sitozol ve peroksizom olmak üzere dört farklı kısımda bulunur (Şekil 2). APX, H_2O_2 'i suya dönüştürürken, askorbatı (AsA) spesifik elektron donörü olarak kullanır ve bu reaksiyona AsA'nın tek değerlikli oksidant formu olan monodihidroaskorbat (MDA, MDAsA olarak da kullanılmaktadır) oluşumu eşlik eder. MDA direkt olarak NADPH-bağlı MDA redüktaz (MDAR) enziminin aktivitesiyle AsA'ya indirgenebilir (Mittler vd., 2004). Ayrıca MDA bir enzimatik reaksiyon olmaksızın kendiliğinden dihidroksiaskorbata (DHA) da indirgenebilir (Sairam ve Tyagi, 2004). DHA'dan AsA sentezlenmesine DHAR enzimi aracılık eder ve bu reaksiyonda itici güç olarak GSH (redükte glutatyon)'ın GSSH (okside glutatyon)'a oksidasyonu kullanılır. Son olarak da GR, NAD(P)H'ı indirgeyici ajan olarak kullanıp GSH'ın GSSH'dan tekrar sentezlenmesini sağlar. APX'in H_2O_2 'i detoksifiye etmek için ihtiyaç duyduğu ve AsA ile GSH'ın yeniden sentezlendiği bu döngü askorbat-glutatyon döngüsü veya Halliwell-Asada döngüsü olarak adlandırılır (Secenji vd., 2008). Ayrıca, H_2O_2 gibi glutatyon ve AsA da zarlardan kolayca diffüze olabilir ve farklı bölümler arasında taşınabilirler

(Mittler vd., 2004).

APX gibi glutatyon peroksidaz (GPX) enzimi de H_2O_2 'i suya dönüştürür. GPX, GSH'ı direkt olarak indirgeyici ajan olarak kullanır ve bu yüzden GPX döngüsü, GSSH'dan GR aracılığıyla GSH'ın yeniden

sentezlendiği reaksiyonla bağlantılıdır (Apel ve Hirt, 2004). Kloroplast stroması ve sitozolde bulunan Peroksiredoksin (PrxR) enzimi ise tiyoredoksin aracılığıyla H_2O_2 'in zararsız hale getirilmesinde görev alır (Şekil 2-b) (Mittler vd., 2004).



Şekil 2. Bitki hücresinde AOT'ları enzimatik mekanizmalar ile yok etme yolları (Mittler vd., 2004'den modifiye edilerek alınmıştır).

Kısaltmalar: DHA, dihidroksiaskorbat; DHAR, DHA redüktaz; FD, ferrodoksin; FNR, ferrodoksin NADPH redüktaz; GLR, glutaredoksin; GR, glutatyon redüktaz; GSH, redükte glutatyon; GSSG, okside glutatyon; IM, iç membran; IMS, IM alanı; MDA, monodihidroaskorbat; MDAR, MDA redüktaz; PSI, fotosistem I; PSII, fotosistem II; Trx, tiyoredoksin; tyl, tilakoid.

Yüksek bitkilerin kloroplastlarında, AOT'lerin detoksifikasyonunda yer alan sistemlerden birisi de su-su döngüsüdür. Bu döngünün isminin su-su döngüsü olmasının nedeni hem elektron vericinin hem de son ürünün su molekülü olmasıdır (Logan, 2005). H_2O 'dan alınan elektronun PSI'de O_2 molekülüne aktarılmasıyla oluşan O_2^- , CuZn SOD ile H_2O_2 'e dönüştürülür. Oluşan H_2O_2 , APX aracılığıyla suya dönüştürülürken AsA'yı spesifik elektron donörü olarak kullanır ve bu reaksiyona MDA'nın oluşumu eşlik eder (Miyake vd., 2006b). MDA'dan tekrar askorbat sentezlenir ve bu reaksiyonda gerekli olan elektron ferrodoksinde sağlanır (Şekil 2-a). Su-su döngüsü sadece O_2^- ve H_2O_2 'in detoksifikasyonunda değil, PSI'den küçük bir elektron alıcısı olduğu için tilakoid zarın iki yanı arasında pH gradiyentinin oluşmasını sağlar. Bu pH farklı ışık enerjisinin ışımsal olmayan dağılımının (fotokimyasal olmayan kullanım-NPQ) artmasına

neden olur ve böylece su-su döngüsü fazla foton enerjisinin yayılmasını da sağlar (Makino vd., 2002).

Tuz stresine karşı tolerans kazanırken AOT'ların detoksifikasyonlarında, enzimatik antioksidan sistemleri gibi enzimatik olmayan savunma sistemleri de önemli role sahiptir. Enzimatik olmayan savunma sistemlerini düşük molekül ağırlıklı α -tokoferoller, askorbat (AsA), glutatyon, karotenoidler ve fenolik bileşikler oluşturur ve bu bileşiklerin birbirleri ile etkileşimi hücresel antioksidan korunmanın etkinliğini artırır (Mascio vd.,1991).

Askorbat (AsA, Vitamin C), antioksidan moleküller içinde en fazla bulunan küçük ağırlıklı bir moleküldür. Heksoz şekerlerden sentezlenen askorbat, kuru tohumlar hariç bütün bitki dokularında bulunur (Smirnov, 2005). Askorbat, enzimatik reaksiyonlarda rol almasının yanında, H_2O_2 ile enzimatik olmayan reaksiyona girer

(Rizhsky vd., 2002). Askorbatın bir diğer önemli görevi de α -tokoferollerin geri dönüşümünde görev almasıdır. α -tokoferoller lipide, askorbat ise suda çözünen antioksidanlardır. Askorbat, okside α -tokoferol radikalini indirger ve α -tokoferolün tekrardan serbest radikalleri yakalayıcı antioksidan olarak görev almasını sağlar (Noctor ve Foyer, 1998).

Glutasyon (γ -Glu-Cys-Gly, GSH) bitki hücrelerinde multifonksiyonel bir metabolit olup kloroplast, sitozol ve diğer hücresel bölümlerde yüksek miktarda sentezlenen önemli bir antioksidandır. GSH, ATP'ye bağlı reaksiyonlar ile sentezlenir (May vd., 1998) GSH, H_2O_2 'i detoksifiye etmek için askorbat-glutasyon döngüsüne katılır. Ayrıca, GSH proteinlerin tiyol gruplarını okside ederek onları denaturasyona karşı korur. Her iki durumda da GSH, glutasyon disülfid formuna (GSSG) dönüşür. Hücresel fonksiyonlar için GSH/GSSG oranı önemlidir ve bu oran GR tarafından korunur (Noctor vd., 2002). Çevresel streslere maruz kalmak, başta GSH olmak üzere antioksidanların düzeyinde değişimlere neden olur ve toplam glutasyon artışını takiben GSH/GSSG oranının artması tuzluluk, soğuk ve kuraklık gibi stresler karşısında hücresel glutasyon havuzunda meydana gelen ilk cevaplardır (Foyer vd., 2005).

Enzimatik olmayan antioksidanlardan bir diğeri olan α -tokoferoller, kloroplastların içsel zar yapılarında sentezlenirler. Hidrofobik özellikleri nedeniyle zarlara tutunan α -tokoferoller, buradaki çoklu doymamış yağ asiti zincirleri ile etkileşerek zar yapısının stabilizasyonunu sağlarlar (Smirnoff, 2005). Ayrıca α -tokoferoller sahip oldukları antioksidan özellikleri ile zarları oksidatif hasarlara karşı korurlar. Bu koruma için iki farklı oksidasyon mekanizmasına sahiptirler. Bu mekanizmalardan ilki, bir elektron transferi ile α -tokoferol radikali oluşmasıdır. İkincisi ise, α -tokoferolün 1O_2 ile etkileşime girerek iki elektron transferi ile H_2O_2 oluşturmalarıdır. Oluşan α -tokoferol radikali ve H_2O_2 , askorbat tarafından indirgenir (Krieger-Liszkay ve Trebst, 2006). α -tokoferoller antioksidan özellikleri sayesinde sadece zarları değil bu zarlarda bulunan diğer yapıların da korunmasını sağlar (Kanwischer vd., 2005).

Fotosentetik veya fotosentetik olmayan dokularda bulunan karotenoidler, 40C'lu terpenoid bileşikler olup kloroplast ve kromoplast zarlarında bulunan sarı, turuncu ve kırmızı renkli yağda-çözünen pigmentlerdir (Bartley ve Scolnik, 1995). Işık toplayıcı komplekslerdeki pigment gruplarından biri olan karotenoidler, fazla ışık enerjisini termal ısı şeklinde yaymalarının yanı sıra bulundukları zarlarda pigment-protein komplekslerinin stabilizasyonunu da sağlarlar. Bunların yanında karotenoidlerin en önemli görevi, ışıkla fotosentetik komplekslerin eksitasyonlarının bir sonucu olarak oluşan triplet klorofil ile singlet oksijene ve diğer AOT'lara karşı fotosentetik yapıları korumasıdır (Dankov vd., 2009). Ayrıca karotenoidler fotosistemleri; lipid peroksidasyon ürünü olan lipid peroksil radikali ile reaksiyona girerek (Smirnoff, 2005) ya da fazla eksitasyon enerjisini ksantofil döngüsüne doğru yayarak koruma işlemini gerçekleştirirler. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan karotenoid radikalleri ise α -tokoferoller veya askorbat tarafından indirgenir ve böylece antioksidan özelliğe sahip karotenoidler yeniden sentezlenmiş olur (Smirnoff, 2005).

Bitki fenolikleri; ikincil metabolit ürünlerden olup bir veya daha fazla asidik fenolik hidroksil grubu içerdiği için aromatik bileşikler olarak da adlandırılırlar. Bu bileşikler bitkilerde normal koşullar altında sürekli ifade olurken, çevresel streslere maruz kalma sonucu bunları sentezleyen fenilpropanoid metabolizması indüklenir. Fenolikler; hidrosinamik acid (HCAs), flavanoidler, antosiyaninler ve taninler olmak üzere 4 büyük sınıfa ayrılırlar (Grace, 2005). Bunlardan flavonoidler ve HCAs, guaiakol peroksidaz (GuPXs)'a elektron verici olarak H_2O_2 'in detoksifikasyonunda rol alırlar (Sakihama vd., 2002). Antosiyanin ise antioksidan özelliği bakımından askorbat ve α -tokoferollere göre 4 kat daha fazla oksijen radikallerini yakalama kapasitesine sahiptir. Antosiyaninler; AOT'ların direkt olarak yok edilmesinde görev alırlar (Gould vd., 2002).

6. Tuz Stresine Karşı Geliştirilen Tolerans Mekanizmaları

Bitkiler, tuzun etkilerinden sakınmasına rağmen tuzlu habitatlarda yetişebilirler ve bunu tuzluluğa karşı geliştirdikleri tolerans mekanizmaları ile gerçekleştirirler. Bitkiler tuza karşı dayanıklılığı, tuz regülasyonu denilen protoplazmaya ulaşan fazla tuzdan sakınma veya artan iyon konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan osmotik ve iyon stresine karşı geliştirilen tolerans mekanizmaları ile kazanırlar.

6. 1. Tuz İçeriğinin Regülasyonu

Tuzlu ortamlarda yetişen bitkiler yapılarındaki tuz miktarını çeşitli mekanizmalar ile düzenlerler. Bu mekanizmalar (Dajic, 2006);

a) Tuzun bünyeye alınmaması ile tuzdan sakınma. Tuzun bünyeye alınmaması, rizosferde yüksek tuz konsantrasyonu varlığında kökün belirli iyonlar için (Na^+ , Cl^-) düşük geçirgenliğe sahip olması ile gerçekleşir. Bu esnada yine de belirli bir miktar tuz bünyeye alınmaktadır (Lüttge, 2002). Kökte bu engelleme ultrafiltrasyon denilen (kaspari şeridi) filtre sistemi ile gerçekleştirilir (Botella et al., 2005). Bazı bitkiler, kökleri ile topraktan Na^+ almasına rağmen fazla tuzun kök, gövde ve yaprak ile çiçek saplarında tutulması sonucu meristemlere, gelişen yapraklara ve genç meyvelere ulaşan tuz miktarı azalır (Larcher, 1995). Kökten tuzu uzaklaştırmanın bir diğer yolu da; sürgüne ulaşan Na^+ miktarını minimum düzeyde tutmak için kökün toprakla ilişkili olan hücrelerinden Na^+ girişi baskılanırken, toprak çözeltisine doğru Na^+ çıkışını artırmaktır. Buna karşın, kökten ksileme Na^+ geçişini minimuma indirgerken ksilemden köke Na^+ girişini maksimum düzeye ulaştırılmaktadır (Tester ve Davenport, 2003). Na^+ miktarının kök tarafından bu şekilde düzenlenmesi kökte iletim hücrelerinde yer alan kontrol noktaları (transport proteinleri vb.) tarafından gerçekleştirilir (Botella vd., 2005).

b) Tuzun eliminasyon (eleme, atma) yoluyla uzaklaştırılması sonucu tuzdan sakınma. Bitkiler fazla tuzdan, tuzun özelleşmiş yapılar aracılığıyla uzaklaştırılması ve tuz içeren yaprak bölümlerinin

dökülmesiyle kurtulurlar. Bu uzaklaştırma işlemi yaprak epidermisinde lokalize tuz salgı tüyleri (trikomdan kökenli) ve tuz bezleri (epidermis hücrelerinin modifikasyonu ile oluşmuş) tarafından gerçekleştirilir (Munns ve Tester, 2008). Tuz salgı bezleri tuzu dışa salgımlarken, tuz tüyleri fazla tuzu büyük vakuollerinde biriktirir ve her iki durumda da tuz aktif dokulardan fizyolojik olarak uzaklaştırılır (Breckle, 2002). Tuzdan sakınmanın bir diğer mekanizması ise, tuzca zengin yaşlı yaprakların absisyonu ile fazla tuzun atılmasıdır ve bu yöntem tuzlu çevrelere adapte olmuş tuz salgılama mekanizması olmayan bitkilerde karakteristik bir özelliktir (Cram vd., 2002).

c) Bitki dokularında sukkulentlik kazanma veya tuzun yeniden dağılımı (retranlocation) ile yüksek tuz konsantrasyonunun seyreltilmesi. Sukkulentlik, yaprak dokusundaki fazla NaCl 'ün seyrelmesini sağlayan mekanizmadır (Glenn vd., 1999) ve hücre duvarının elastikiyetine bağlıdır. Sukkulent halofitik bitkilerde meydana gelen morfolojik ve anatomik değişiklikler; özellikle sünger ve su içeren depo parankimasını oluşturan hücrelerin hacimlerinde ve yaprak kalınlığında artış ile stoma sayısında azalmadır (Dajic, 2006). Tuzun yeniden dağılımı ise transpirasyonun gerçekleştiği, aktif ve genç dokulardan Na^+ 'un ve Cl^- 'un tekrar floeme aktararak, yapraklardaki tuz miktarının seyreltilmesi ile gerçekleşir (Larcher, 1995). Floeme gönderilen iyonlar, yapraklardan köke (Botella vd., 2005), tuzun atılması için özelleşmiş yapılara veya fazla tuzu biriktiren yaşlı yapraklara gönderilerek zararsız hale getirilebilir.

6.2. Tuz Tolerans Mekanizmaları

Bitkiler, tuzluluğun meydana getirdiği osmotik ve iyon stresine karşı çeşitli biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu biyokimyasal mekanizmaları; seçici olarak iyonların biriktirilmesi veya atımı, kökten iyon alımının ve sürgüne iletiminin kontrolü, tüm bitkide ve hücrelerde iyonların belirli bölümlerde biriktirilmesi ve osmotik düzenleyicilerin sentezi ile antioksidan sistemler oluşturur (Parida ve Das, 2005).

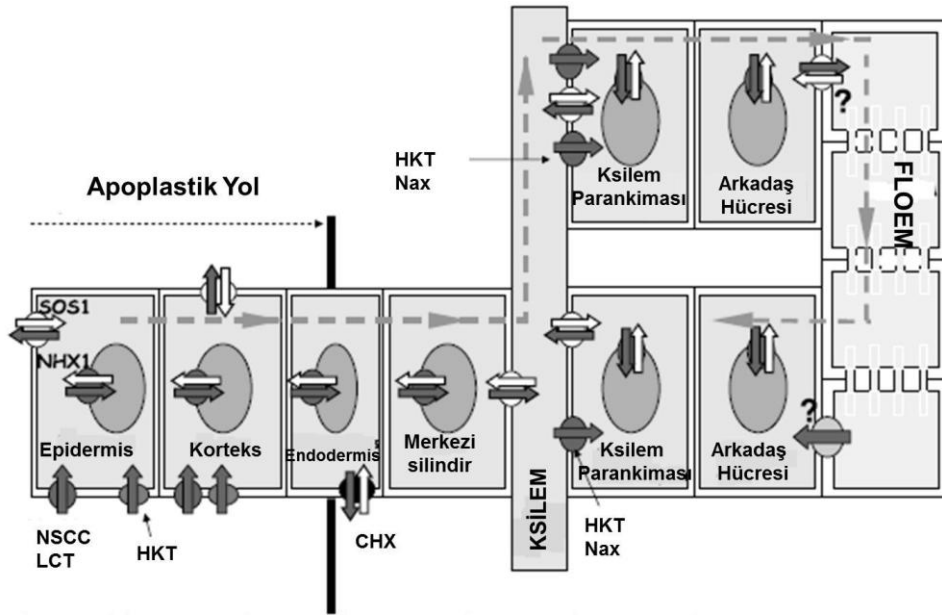
6.2.1. İyon homeostasisının düzenlenmesi ve SOS sinyal iletim yolu

Bitkiler, tuzlu koşullarda hayatta kalmayı; düşük K^+/Na^+ oranına sahip çevrelerde uygun sitozolik K^+/Na^+ oranını kaybetmeyerek ve koruyarak, sitoplazmaki Na^+ miktarının toksik düzeye ulaşmasını engelleyerek ve turgor basıncının devamlılığı için yeterli miktardaki su girişini koruyarak sağlarlar (Reinhold ve Guy, 2002).

Toprak çözeltisinde bulunan $NaCl$ 'e doğrudan maruz kalan kökten Na^+ 'un girişi pasif olarak gerçekleşir. Bu pasif giriş, kolaylaştırılmış difüzyon veya iyon kanalı şeklindeki taşıyıcılarla [HKT (yüksek afiniteli K^+ kanalları), LCT (düşük afiniteli katyon kanalları) ve NSCC (seçici olmayan katyon kanalları)] ile sağlanır (Şekil 3). Bu taşıyıcı çeşitleri bitki türüne ve büyüme koşullarına göre değişse de, yapılan çalışmalarda, farklı taşıyıcı sistemlerin kökten Na^+ alımında birlikte çalıştıkları gösterilmiştir (Apse ve Blumwald, 2007). Na^+ 'un toprak çözeltisinden sürgüne taşınımında yolun ilk kısmını kök epidermisi ve korteksi oluşturur. Epidermise taşıyıcılar aracılığıyla giren Na^+ , taşıyıcılar veya plazmadesmler tarafından merkezi silindire, oradan da ksileme taşınırlar. Bu yol simplastik yol olarak adlandırılır. Ayrıca Na^+ , apoplastik yol ile hücre dışı matriksini de kullanarak suya ve suda çözünmüş maddelere karşı geçirgen olmayan kaspari şeridinin bulunduğu endodermise kadar taşınırlar. Bu yolun devamında hücreye

girerek simplastik yol ile kaspari şeridini geçerler (Botella vd., 2005). Ayrıca, CHX (katyon/ proton değiştirici) benzeri katyon/ H^+ taşıyıcıları Na^+ 'un endodermal hücrelerden merkezi silindirin apoplastına taşınımını sağlarlar ve böylece ksileme taşınım apoplastik yol vasıtasıyla da gerçekleşebilir (Şekil 3).

Köke giriş yapan Na^+ 'un bir kısmı sürgüne doğru taşınırken, bir kısmı geçilen hücrelerin vakuollerinde vakuol tipi Na^+/H^+ taşıyıcıları (NHX) aracılığı ile depolanır ve böylece sürgüne taşınan Na^+ miktarı azalır (Şekil 3). Na^+ , merkezi silindirden ksileme hücre zarına bağlı Na^+/H^+ taşıyıcıları (SOS1) ile yüklenir. Kökte, Na^+ 'un ksilemden köke geri yüklenmesi Na^+ 'a karşı seçici olmayan uniportlar (HKT ve Nax) aracılığıyla gerçekleştirilir. Yapraklarda ise Na^+ 'un ksilemden parankima hücrelerine taşınımı Na^+ 'a karşı seçici olmayan uniportlarla ve NSCC kanallarıyla gerçekleşir (Apse ve Blumwald, 2007). Yaprakta biriken fazla Na^+ , SOS1'ler ile ksileme geri yüklenerek veya floem döngüsüne katılarak köke geri gönderilebileceği gibi NHX aracılığıyla vakuolde biriktirilerek de azaltılır (Botella vd., 2005). Na^+ 'un floemden köke geri taşınmasıyla ilgili mekanizma tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen, Berthomieu vd. (2003)'nin Arabidopsis ile yaptıkları çalışmada, Na^+ 'un sürgünde floeme aktarılacak köke geri gönderilmesine, AtHKT1 geninin ürünü olan Na^+ taşıyıcılarının aracılık ettiği belirtilmiştir.



Şekil 3. Na^+ un bitkide hareketi. Na^+ un topraktan köke, ksilemden sürgüne ve sürgünden köke geri dönüşümünde radyal iletiminin ve aksial hareketinin şematik gösterimi (Apse ve Blumwald, 2007'den modifiye edilerek alınmıştır).

NaCl kaynaklı tuzluluk, hücrelerde Na^+ , Cl^- , Ca^{+2} ve K^+ gibi iyonların stabil durumlarının bozulmasını tetikler. Hücre dışında artan Na^+ ların hücreye alınımı, hücre zarında yer alan çeşitli taşıyıcılar aracılığıyla gerçekleşir. Hidrate Na^+ ile K^+ un yarıçaplarının yakınlığı, K^+ taşıyıcılarının bu iyonlar arasında ayırım yapmasını zorlaştırır ve bu durumda Na^+ , K^+ ile rekabete girer (Aharon vd., 2003). K^+ a karşı yüksek, Na^+ a karşı ise düşük afinite gösteren içe-yöneltici K^+ kanalları (KIRCs) (AKT1 gibi), dışa-yöneltici K^+ kanalları (KORCs) ve KUP-HAK familyasının K^+ - H^+ simport taşıyıcıları, hücre dışında Na^+ konsantrasyonunun yüksek olması durumunda Na^+ un hücre zarından sitoplazmaya geçişini sağlarlar (Rus vd., 2001). Bunların dışında HKT, LCT ve voltaj bağımlı katyon kanalları (VIC) (Blumwald, 2000; Vijayan, 2009) sitoplazmada Na^+ miktarının artmasına neden olur (Yokoi vd., 2002).

Sitozoldeki Na^+ un aktif olarak hücre dışına veya vakuole gönderilmesi, bu iyonun hücreye alınan ve vakuolde depolanan net miktarının düzenlenebilmesi için gereklidir. Fizyolojik ve biyokimyasal veriler Na^+/H^+ antiportunun plazma zarında (SOS1) ve tonoplastta (NHX) bu çıkışa aracılık ettiğini göstermektedir (Niu vd., 1995). Bu protein, hücresel pH'nın ve Na^+ homeostasisinin sağlanmasında önemli bir role sahiptir (Shi ve Zhu, 2002). Na^+ un vakuoldeki Na^+/H^+ antiporter aracılığıyla vakuole taşınım mekanizması, bu iyonun

sitoplazmada meydana getireceği zararlı etkilerin ortadan kaldırılmasını ve vakuolde Na^+ birikimi ile osmotik dengenin korunarak hücreye su girmesini sağlar (Apse vd., 1999). Na^+/H^+ antiportu, sitotoksik iyonların vakuolde depolanması veya sitozolden uzaklaştırılması için elektrokimyasal potansiyel gradiente karşı H^+ pompalarının oluşturduğu H^+ gradiente enerji kaynağı olarak kullanılır (Mansour vd., 2003). Hücre zarında bulunan H^+ pompası, P-tipi ATPaz olup pH ve zar potansiyel gradiente oluşumundan sorumludur. Tonoplastta bulunan H^+ pompalarını ise vakuol tipi H^+ -ATPazlar ve vakuol pirofosfatazları oluşturur. Bu taşıyıcılar da tonoplastın iki yanında zar potansiyelini ve pH farkını oluştururlar (Yokoi vd., 2002).

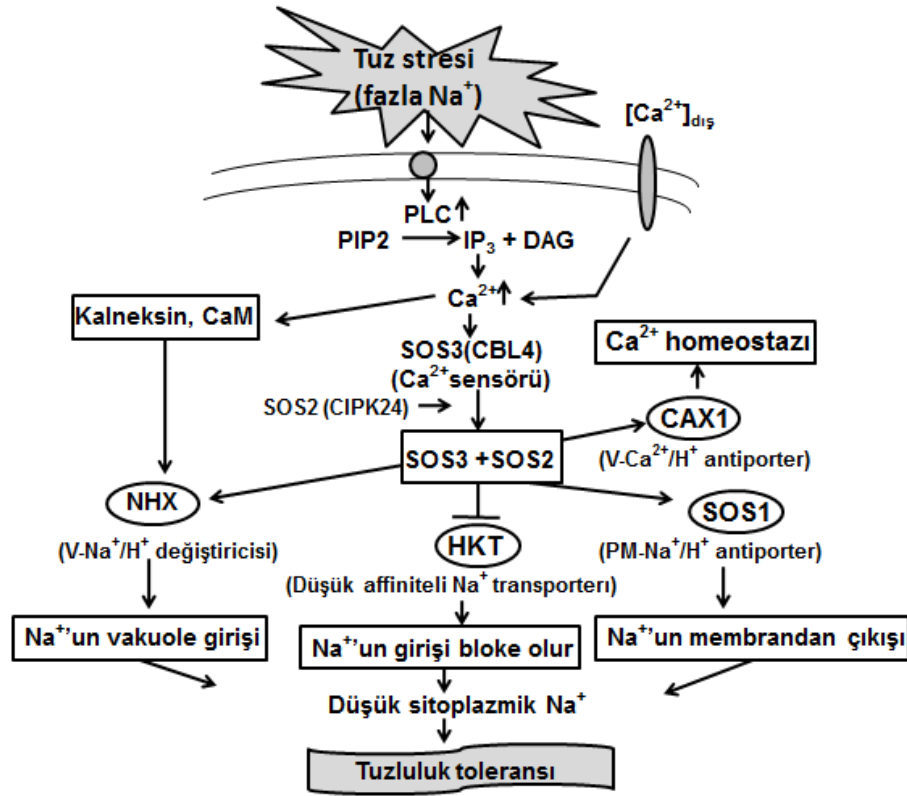
Cl^- un hücreye alınması anyon kanalları veya $\text{Cl}^-/2\text{H}^+$ simportırları ile sağlanır ve bu iyonun hücreye alınımı, stresin başlangıç evresi ile iyon dengesi tekrar kurulduktan sonraki safhada farklı yolları izler. Tuz stresi ile birlikte hücreye Na^+ girişi zar potansiyelini yok eder ve bozulan elektrokimyasal gradiente, Cl^- un hücreye pasif olarak alınmasını kolaylaştırır. İçsel zar potansiyelinin negatif olduğu stabil koşullar sağlandığında ise, normal koşullar altında olduğu gibi (Örn; $[\text{Cl}^-]_{\text{dış}} < [\text{Cl}^-]_{\text{sitozol}}$) Cl^- hücreye $\text{Cl}^-/2\text{H}^+$ simportu ile aktif olarak alınır, bu koşulda Cl^- un anyon kanalları ile alımı azalmaktadır (Hasegawa vd., 2000).

Fazla NaCl'ün sitozolde Ca^{+2} 'un artışı tetiklediği daha önce belirtilmiştir. Sitozoldeki bu artış, hücre dışından, vakuol veya diğer organellerden iyon taşıma sistemleri aracılığıyla Ca^{+2} 'un sitozole aktarımı ile gerçekleşir (Yokoi vd., 2002). Bu taşınım; hücre zarında stresin aktive ettiği Ca^{+2} kanallarıyla, içsel depo bölgelerinden de tonoplast ve diğer endomembranlarda bulunan inositol (1,4,5)-trifosfat'ın düzenlediği kanallarla gerçekleşir (Niu vd., 1995). Sitozolik Ca^{+2} artışı gerçekleştiren bir diğer mekanizmanın da AOT üreten NADPH oksidazların Ca^{+2} kanallarının aktive etmesi olduğu düşünülmektedir (Jaspers ve Kangasjärvi, 2010). Önemli fonksiyonlara sahip Ca^{+2} 'un sitozoldeki konsantrasyonunun artışı tuz toleransı ile ilişkili sinyal iletim yollarının uyarılmasını da başlatır (Tuteja, 2007). Ayrıca bu yeni durumda, sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunu stabil halde tutabilmek veya sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonunu azaltmak için çeşitli taşıyıcı kanallar mevcuttur. Bu kanallar; hücre zarı ve içsel zarlarda bulunan Ca^{+2} -ATPazlar ve tonoplastta yer alan H^{+}/Ca^{+2} antiportlarıdır (Yokoi vd., 2002).

Tuz stresinin de aralarında bulunduğu çeşitli abiyotik stresler hücre zarında bulunan reseptörler tarafından algılandığında fosfolipazları [Fosfolipaz C (PLC) gibi] aktive eder. Aktive olan PLC'ler fosfolipidlere bağlanıp stres toleransını düzenleyen ikinci habercilerin (DAG, IP₃ gibi) üretilmesini sağlarlar (Şekil 4). IP₃'ler içsel kaynaklardan Ca^{+2} 'un serbest bırakılmasını sağlarken (Sairam ve Tyagi, 2004), DAG'lar protein kinazları aktive eder (Zhu,

2002). Serbest Ca^{+2} miktarının artışı Ca^{+2} sensörü olarak ifade edilen Ca^{+2} bağlayıcı proteinler (SOS3) tarafından algılanır ve bu sensörler bazı protein kinazlarla etkileşime girerek onları aktive eder. Serbest sitozolik Ca^{+2} 'un varlığında sensör proteinler, stresten sorumlu genlerin ekspresyonunun düzenleyen regülatör proteinlerin fosforilasyon /defosforilasyonunu başlatır. Strese karşı verilecek cevap, bu sinyal iletiminin aktive veya inaktive ettiği genlere bağlı olarak hücre ölümleri, büyümenin inhibisyonu veya strese karşı toleranslılık şeklinde olabilir (Mahajan vd., 2008).

Sitozolik Ca^{+2} artışı, fazla Na^{+} 'un dışarı atılması için plazma zarındaki Na^{+}/H^{+} antiportunun (SOS1 proteini) aktivitesini artırır. Bu düzenleme esnasında Ca^{+2} 'un düzenlediği tuza aşırı duyarlı 3 gen (SOS1, SOS2, SOS3) Arabidopsis bitkisinde tanımlanmıştır (Qui vd., 2002). SOS3 geni (AtCBL4 olarak da bilinir), kalsinerium B-benzeri proteini (CBL4) denilen, SOS3 proteini kodlar. Tuz stresi altında Ca^{+2} sensörü olarak işlev gören SOS3, Ca^{+2} 'un bağlanabileceği 4 adet EF cebine sahiptir (Bertorello ve Zhu, 2009). SOS2 geni ise CBL-bağlı protein kinaz (CIPK) olarak bilinen serin/threonin tipi protein kinazı kodlar. Ca^{+2} bağlı SOS3, SOS2 proteinine fizyolojik olarak bağlanıp onu aktive eder (Shi vd., 2000) ve bu durum SOS2 aktivitesinin SOS3 ve Ca^{+2} 'a bağlı olduğunu gösterir (Bertorello ve Zhu, 2009). Oluşan SOS3-SOS2 kinaz kompleksi SOS1 genini aktive ederek Na^{+} 'un atılmasını sağlayan SOS1 proteininin sentezlenmesini ve fosforilasyonunu sağlar (Gong vd., 2004).



Şekil 4. Tuzluluk stresi toleransı ile ilişkili yollar ve SOS tarafından iyon (örn; Na^+ , K^+ ve Ca^{2+}) homeostasisinin düzenlenmesi (Tuteja, 2007'den modifiye edilerek alınmıştır).

Kısaltmalar: PIP2, fosfatidilinositol bifosfat; IP₃, inositol trifosfat, DAG, diasilgliserol; CaM, Kalmodulin.

SOS sinyal iletim yolu diğer regülatör proteinlerle de etkileşime girerek Na^+ 'un homeostazını düzenler (Şekil 4). Bu kompleks HKT1 aktivitesini inhibe ederken sitozole Na^+ girişini sınırlandırır. Ayrıca, SOS2, NHX ile ilişki kurar ve bu molekülün aktive ederek fazla Na^+ 'un vakuolde biriktirilmesini sağlar. Bununla birlikte, CAX1 aktivitesi de bu kompleks sayesinde artar ve tekrar sitozolik Ca^{2+} dengesi kurulur. Bunlara ek olarak, Ca^{2+} iyonlarının artışı SOS3 dışında diğer Ca^{2+} bağlı proteinler (kalneksin, kalmodulin (CaM)) tarafından da algılanır ve bu proteinlerde NHX ile ilişki kurarak NHX'in aktivasyonunu gerçekleştirirler (Tuteja, 2007).

6.2.2. Düzenleyici osmolitlerin biyosentezi

Tuz stresine maruz kalan bitkiler, birbiri yerine geçebilen (compatible) bileşenler olarak bilinen osmotik koruyucu bileşikler biriktirirler (Hussein vd., 2008). Osmolit olarak da adlandırılan bu bileşenlerin bir kısmını K^+ gibi temel iyonlar

oluştursa da büyük bölümünü organik maddeler oluşturur (Parvaiz ve Satyawati; 2008). Bitki hücrelerini dehidrasyona karşı koruyan osmolitler, düşük molekül ağırlığına sahip, toksik olmayan, hücre metabolizmasına zarar vermeyen ve molar konsantrasyonlarda biriken nötral maddelerdir (Djilianov vd., 2005). İnorganik iyonlar vakuolde, organik osmolitler de çoğu organelde olmak üzere sitoplazmada birikirler (Moghaieb vd., 2004). Osmotik koruyucuların birikim miktarı, türe/çeşide özgü sınırlar içinde suyun girişini artırmak amacıyla (veya çıkışını azaltıp) diş ortamda artan ozmotik basınçla orantılı olarak değişir (Parida ve Das, 2005). Ayrıca, osmotik stres koşulları altında düşük molekül ağırlıklı şaperonlar gibi davranma, PSII kompleksi ile enzimlerin ve proteinlerin yapılarının stabilizasyonunu sağlama, zar bütünlüğünü ve hücresel pH'yı koruma, N depolama ve AOT'ların detoksifikasyonu gibi çeşitli fonksiyonlar üstlenirler (Chen vd., 2007; Vijayan, 2009). Osmotik koruyucular, aminoasitler (Örn; prolin), kuarterner amonyum bileşikleri (Örn; glisin betain), polioller

(örn; mannitol) ve karbonhidratlar (örn; trehaloz, sukroz) olmak üzere birkaç gruba ayrılabilir (Djilianov vd., 2005).

Yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunan prolin, tuz stresi altında diğer aminoasitlere göre daha fazla birikir (Ábrahám vd., 2003). Prolin sentezi, düşük su potansiyeline sahip ortamlarda, spesifik olmayan bir cevaptır ve bu yüzden tuz stresi gibi su stresi altında da sentezlenmektedir (Ashraf ve Harris, 2004). Normal şartlarda sitozolde biriken prolin, sitoplazmanın osmotik ayarlamalarında görev alır (Parvaiz ve Satyawati; 2008). Stres sonrasında iyileşme ve büyüme için gerekli olan N ve C depolama işlevine sahip prolinin osmotik düzenleyici olmasının yanında (Jain vd., 2001) subelular yapıların (membranlar ve proteinler gibi) stabilizasyonu, serbest radikallerin yakalanması, hücrel redoks potansiyelinin korunması (Vijayan, 2009), sitoplazmik asidozun azaltılması, metabolizmadaki uygun NADP⁺/NADPH oranının korunması (Hare ve Cress, 1997) ve DNA hasarlarının engellenmesinde de görev aldığı düşünülmektedir (Lima-Costa vd., 2008). Prolin, sitoplazmada prolin-5-karboksilaz sentetaz (P5CS) ve prolin-5-karboksilaz redüktaz (P5CR) enzimlerinin katalizlediği tepkimeler ile glutamattan sentezlenir. Tuz stresinin neden olduğu osmotik stres prolin sentezini aktive ederken, degradasyonunu azaltır (Hare vd., 1999). Prolin degradasyonu, mitokondride prolin dehidrogenaz (PDH) ve prolin-5-karboksilat dehidrogenaz (P5CDH) tarafından gerçekleştirilir (Krell vd., 2007). Stres şartlarının ortadan kalkmasıyla, prolin oksitlenir ve oluşan ATP ile mitokondrial oksidatif fosforilasyonu destekleyen indirgenmiş ürünler stresin indüklediği hasarları azaltır (Hare ve Cress, 1997).

Betainler, N atomları tarafından metillenmiş kuarterner amonyum bileşikler olup en çok bilinen çeşitlerinden birisi glisin betaindir (GB). GB, geniş fizyolojik pH aralığında nötral olan amfoterik bir bileşiktir. Bu osmolit, stres koşullarında bitkilerin tolerans düzeyi ile orantılı olarak sentezlenir ve biriktirilir (Sakamoto ve Murata, 2002). Bu koşullarda GB, enzim ve protein komplekslerinin (PSII gibi) yapısal stabilizasyonu ile aktivasyonunu

ve membran bütünlüğünün korunmasını sağlar (Sakamoto ve Murata, 2002). Bitkilerde GB sentezi kloroplastta ve ışığa bağımlı olarak meydana gelir. GB sentezi, kolinin oksidasyonu ile kolin monooksijenaz ve betain aldehit dehidrogeaz enzimleri aracılığıyla gerçekleşir. GB; prolinden farklı olarak stres koşulları ortadan kalktığında hızlıca degradasyona uğramaz (Hare vd.,1998).

Tuz stres toleransı ile ilişkili olarak biriken polioller (polihidrik alkoller), bitki aleminde asiklik (lineer; örn., mannitol, gliserol, sorbitol) ve siklik (örn., ononitol ve pinitol) formları ile geniş yayılım gösterirler (Sun vd., 1999). Polioller de diğer osmolitler gibi osmotik ayarlamalarda ve osmotik basıncın korumasında görev alırlar. Osmotik ayarlamalarla, suyun sitoplazmada tutulmasını kolaylaştırırlar ve Na⁺un vakuole veya apoplasta gönderilmesine yardımcı olurlar (Bohnert vd., 1995). Osmotik korumada ise; zarlar, protein kompleksleri ve enzimlerle ilişki kurarak bu hücrel yapıları AOT'lara karşı korurlar (Djilianov vd., 2005).

Stres koşulları altında sentezlenen ve biriktirilen diğer osmolit grubunu karbohidratlar oluşturur. Karbonhidratlardan glukoz, fruktoz ve sukroz osmotik düzenlemelerde görev alırken; fruktoz osmotik korumada da görev alır (Parida ve Das, 2005). Bir disakarit şeker olan trihalozlar ise bitkilerde eser miktarda sentezlenip biriktirilmesine rağmen, abiyotik stres koşullarında osmotik koruyucu olarak biyolojik yapıların stabilizasyonunu sağlar (Djilianov vd., 2005).

7. Tuz Stresi Süresince İndüklenen sinyal İletim Yolları

Bitkilerde çevresel streslere verilen cevaplarda birden fazla sinyal iletim yolu işlev görür. Tuz stresinin çok sayıda bitki geninin ekspresyonunu düzenlediği bildirilmektedir (Zhu, 2002) ve bu genleri düzenleyen sinyal yollarının bir kısmının ABA tarafından kontrol edildiği diğer kısmının ise tuz stresi tarafından indüklendiği saptanmıştır. Bu sonuçlar; NaCl stresinin indüklediği gen ekspresyonlarının genel olarak ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız sinyal iletim yolu tarafından etkilendiğini

göstermektedir. (Cheong ve Yun, 2007).

Sinyal iletimi, stresin algılanması ile başlar ve bunu ikincil habercinin oluşumu (örn., inositol fosfat) takip eder. İkincil haberci hücre içi Ca^{+2} düzeyini ayarlar ve genellikle protein fosforilasyon aşamalarını başlatır. Bu fosforilasyon aşamalarında hedef proteinleri, hücrel korumayı içeren proteinler veya stres-düzenleyici genlerin kontrolünde yer alan transkripsiyon faktörleri oluşturur (Xiong vd., 2002). Sinyal iletimi ile stres koşullarına karşı oluşturulan cevaplarda yer alan genler; erken cevap genleri ve geç cevap genleri olmak üzere iki şekilde sınıflandırılır. Erken cevap genleri hızlı (dakikalar içinde) ve geçici olarak indüklenirken, strese karşı cevapta yer alan genlerin büyük kısmını oluşturan geç cevap genleri ise daha yavaş indüklenir ve genellikle ekspresyonları devamlıdır. Ortamda tüm sinyal bileşenleri önceden mevcut olduğu için, erken cevap genlerini indüklenmede yeni protein sentezine ihtiyaç duyulmaz ve bu erken cevap genleri, geç cevap genlerinin aktivasyonunda görev alan transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadırlar (Sairam ve Tyagi, 2004).

8. Tuz Stresi ile İndüklenen Genlerin Fonksiyonu

Tuz stresinin indüklediği genlerin ifadesi stres koşulları altında artar ve bu genlerin ürünleri olan moleküller görevlerine göre iki gruba ayrılır. Bunlar; çevresel streslere karşı koruyucu olarak (efektör) görev alan moleküller ile stres cevaplarında sinyal iletimini ve gen ifadelerini düzenleyici olarak görev alan (regülatör) moleküllerdir (Seki vd., 2003). İyon taşıyıcılar, düzenleyici osmolitlerin sentezinde yer alan enzimler, LEA (geç embriyogenez) proteinleri, su kanal proteinleri, şaperonlar, detoksifikasyon enzimleri ve çeşitli proteazlar efektör molekülleri; protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri ve fosfoinositol metabolizmasında yer alan enzimler (fosfolipazlar) ise regülatör molekülleri oluşturur (Wu vd., 2005).

8.1. Efektör Moleküller

Geç embriyogenez (LEA) proteinleri, normal

koşullarda birçok bitkinin tohumlarında, yüksek tuzluluk, kuraklık ve düşük sıcaklık gibi stres koşulları altında da vejetatif dokularda birikirler (Hundertmark ve Hinch, 2008). Aminoasit dizisindeki benzerliklere bağlı olarak farklı gruplara ayrılan LEA proteinlerinin (Sairam ve Tyagi, 2004) çoğu %6'dan fazla glisin aminoasiti içerir. Bu proteinler, hidrofilinler olarak adlandırılan hidrofilik protein grubunun üyesidir ve bunların çoğu sistein ve triptofan aminoasitleri bakımından fakirdir (Battaglia vd., 2008). LEA proteinleri dehidrasyona karşı hücrel toleransta suyun tutulmasında, sitozolik iyon konsantrasyonunun düzenlenmesinde, proteinler ile zar yapısının korunmasında ve yapısal olarak bozulan proteinlerin tekrar yapısal bütünlüklerini kazanmasında görev alırlar (Wise ve Tunnacliffe, 2004).

Su kanal proteinleri, yaşayan bütün organizmalarda bulunan ve akuaporin olarak da adlandırılan içsel zar proteinleridir. Akuaporinler, hücrel düzeyde suyun çift lipid tabakasından geçişini kolaylaştırırken, dokusal düzeyde apoplastik ve simplastik taşımada alternatif bir yol olarak, hücre içine suyun iletimini sağlarlar (Maurel ve Chrispeels, 2001). Hücre zarının iki yanındaki osmotik basınç farkına bağlı olarak, her iki yönde zardan su geçişini artıran akuaporinler (Bohnert vd., 1999), majör integral proteinler (MIP) süper ailesi içinde yer alır ve su ve/veya düşük molekül ağırlıklı yüksüz çözünenlerin (CO_2 , H_2O_2 gibi) hareketini kolaylaştıran kanallardır (Kirch vd., 2000). Dört alt familya ile kategorize edilen su kanal proteinlerinden plazma membranı integral proteinlerinin (PIP'ler) düzenlenmesi apoplastik su potansiyeline yanıt olarak gerçekleşen fosforilasyona ve sitoplazmik Ca^{+2} miktarına bağlıdır (Cramer, 2002). Stresin çeşidine bağlı olarak farklı akuaporinlerin verdikleri cevaplar farklı olsa da genel olarak akuaporinlerin bitkilerde hücrel homeostazi ve su dengesini korumada rol aldığı düşünülmektedir (Kaldenhoff vd., 2008).

Tuz stresi gibi çevresel streslere maruz kalma sonucu sentezinin arttığı diğer koruyucu protein grubunu ısı şok proteinleri (Hsp'ler) oluşturur (Gorovits ve Czosnek, 2008). Isı-şok proteinleri;

Hsp100, Hsp 90, Hsp 70, Hsp 60 ve sHsp (küçük ısı-şok proteinleri) olmak üzere 5 korunmuş familyaya sahiptir ve bitkilerde en yaygın olarak bulunan Hsp'leri sHsp familyasına aittir (Wang vd., 2003). Hsp'lerin bir grubu olan moleküler şaperonlar, normal hücrel işlevlerde protein katlanmasından, bağlanmasından, translokasyonundan ve degradasyonundan sorumludur (Wang vd., 2004). Ayrıca moleküler şaperonlar; sıcaklık, tuz ve su stresi altında hücredeki proteinleri korumasını ve oluşan hasarların düzeltilmesini de sağlarlar (Diamant vd., 2001). Bu sayede moleküllerin yanlış katlanmasını ve oluşabilecek agregasyonları da engellerler. Hsp'lerin oluşturduğu bir diğer koruyucu molekül grubu proteazlardır ve proteazların da tuz stresi altında ifadesi artmaktadır. Hsp'ler; şaperon olarak protein agregasyonlarını ve katlanmasını önleme fonksiyonlarına sahipken, proteaz olarak fonksiyonel olmayan proteinlerin yıkılmasını sağlarlar. Böylece Hsp'ler, bir yandan proteinleri korurken, diğer yandan oluşan katlanmaların, denatürasyonların ve agregasyonların artışıyla zararlı hale gelen polipeptidlerin ortadan kaldırılmasını sağlayarak, hücrel dengenin korunmasına yardımcı olurlar (Wang vd., 2004).

8.2. Regülatör Moleküller

Regülatör moleküllerin bir grubunu oluşturan protein kinazlar, sinyal iletim yolunda ATP'yi fosfat vericisi olarak kullanan ve böylece protein fosforilasyonunda görev alan bir enzim grubudur. Sinyal yollarında yer alan protein kinazlardan; MAP kinazlar (Mitojen aktive edilen protein kinazlar) ve Ca^{+2} bağlı protein kinazlar (CPDK'lar) aktif rol oynarlar. MAPK'lar kademeli aktivasyona sahiptir ve osmotik stresin başlattığı sinyallerde zar proteinlerinde yapısal değişimleri tetiklerler (Dajic, 2006). Ayrıca, tuz stresinin neden olduğu AOT'lar de MAPK'ların aktivasyonunu sağlarlar (Apel ve Hirt, 2004). MAP kinaz, MAPKK (MAP kinaz kinaz) ve MAPKKK (MAP kinaz kinaz kinaz)'ında içinde bulunduğu kademeli aktivasyonun terminal enzimidir (Cobb ve Schaefer, 1996). MAPKKK çift fonksiyonlu MAPKK'ı aktive eder, MAPKK'da

treonin ve tirozin sıralarının fosforilasyonu ile bir serin-treonin kinaz olan MAPK'yı aktive eder. Aktive MAP kinazın fosforilasyon formu nükleus'a geçerek transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu ile aktivasyonunu düzenler ve strese rol oynayacak belirli genlerin ifadelerini artırır (Stone ve Walker, 1995). CDPK ise, tuz stresinin neden olduğu Ca^{+2} artışı ile indüklenerek hücrelerde membran taşıyıcılar (SOS1 gibi), H^+ -ATPaz'lar ve akuaporinler gibi birçok taşıyıcı proteinlerin regülasyonunda görev alır (Dajic, 2006).

Transkripsiyon faktörleri (TF), önemli regülatör moleküllerden olup çeşitli genlerin promotor bölgesinde yer alan sis elementlerle (aynı etkili elementler) bağlantı kurarak bu genlerin ifadesini düzenlerler (Agarwal vd., 2007). Abiyotik ve biyotik stres koşulları altında, strese ilk cevap olarak ifade edilecek genlerin çoğunu TF'yi kodlayan genler oluşturur. Tuz stresi gibi stres koşullarında TF'leri kodlayan genlerin aktivitesi artar ve sentezlenen bu faktörler stresin indüklediği genlerin ifade olmasını sağlar (Hasegawa vd., 2000). Tuz ve kuraklık stresine bağlı olarak genlerin ifade olmasını sağlayan sinyal yolları ABA bağımlı ve ABA bağımsız olduğu için bu yollarda yer alan TF'lerde, ABA bağımlı ve ABA bağımsız transkripsiyon faktörleri olmak üzere ikiye ayrılırlar. ABA bağımlı yolda MYB/MYC ve bZIP (basic leucine zipper) transkripsiyon faktörleri bulunurken, ABA bağımsız yolda DREB2 transkripsiyon faktörleri bulunur (Mahajan ve Tuteja, 2005). Ayrıca, hem ABA bağımlı hem de ABA bağımsız yolda, NAC transkripsiyon faktörleri görev alır ve bu TF bitki gelişiminde, patojene karşı cevapta ve tuz toleransında rol oynayan çeşitli genlerin aktivasyonunda görev alırlar (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

Yapılan birçok çalışmada, bu proteinlerin de içinde yer aldığı çözünebilir protein miktarının tuz stresine maruz kalan bitkilerde protein çeşidine bağlı olarak arttığı (Thomas ve Bohnert, 1993; Yamada vd., 2002; Pi vd., 2009) azaldığı (Sousa vd. 2003; Yıldız ve Terzi, 2008) veya değişmediği (Ashraf, 1994; Ashraf ve Fatima, 1995) bildirilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları proteinlerin tuz tolerans indikatörleri olarak kullanılmasının bitkinin türüne

ve çeşidine bağlı olduğunu göstermektedir (Ashraf ve Harris, 2004).

10. Sonuç

Dünyada, özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde ana kayaların ayrışması, yanlış sulama, drenaj yetersizliği ve tarım arazisi açılması gibi faktörlerin etkisi altında, toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişmektedir. Bu faktörlerin neden olduğu etkilerden birisi de, toprakta Na^+ ve Cl^- gibi iyonların birikimiyle bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen tuz stresinin oluşumudur. Yeryüzünde 800 milyon hektardan fazla alan tuzdan etkilenmiştir ve tarım arazilerinin %20'si bu topraklara dahildir. Ayrıca tuzdan etkilenmiş tarım arazilerinin her yıl artması bir sene öncesine göre tarımsal üretimde büyük kayıplar yaşanmasına neden olmaktadır. 2010 yılında 7.2 milyar olan insan nüfusunun 2050 yılında 12 milyara ulaşacağı

düşünüldüğünde, toprakların tuzluluğa ve diğer streslere (biyotik ve abiyotik) maruz kalmaya devam etmesine bağlı olarak, tarım ürünlerinin verimlilikleri azalacak ve artan insan nüfusunun besin ihtiyaçlarının karşılanamaması sorunu ortaya çıkacaktır. Bu nedenle, bitkilerin diğer stres faktörleri ile birlikte tuzluluğa dayanıklılık düzeylerinin de belirlenmesi ve besin değerleri yüksek toleranslı bitkilerin geliştirilmesinin gerekliliği meydana gelmiştir.

Tuz stresini; osmotik etkisi ile kullanılabilir su içeriğini kısıtlayan, iyonik etkisi ile de iyon içeriğinin toksik düzeye ulaşmasına sebep olan kompleks bir abiyotik strestir. Bu yüzden tuz stresinin bitkiler üzerine etkisi ile bitkilerin tuza tolerans mekanizmalarının anlaşılması için hem osmotik hem de iyon stresinin tüm bitki, doku ve hücresel düzeydeki etkilerinin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar düzeyinde incelenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Ábrahám, E., Rigó, G., Székely, G., Nagy, R., Koncz, C. ve Szabados, L., 2003. Light-dependent Induction of Proline Biosynthesis by Abscissic Acid and Salt Stress is Inhibited by Brassinosteroid in Arabidopsis, *Plant Molecular Biology*, 51 (3), 363-372.
- Agarwal, P., Agarwal, P.K., Nair, S., Sopory, S.K. ve Reddy, M.K., 2007. Stress-inducible DREB2A Transcription Factor from Pennisetum glaucum is a Phosphoprotein and Its Phosphorylation Negatively Regulates Its DNA-binding Activity, *Molecular Genetics and Genomics*, 277, 189-198.
- Aharon, G.S., Apse, M.P., Duan, S., Hua, X. ve Blumwald, E., 2003. Characterization of a Family of Vacuolar Na^+/H^+ Antiporters in Arabidopsis thaliana, *Plant and Soil*, 253, 245-256.
- Ali, G., İbrahim, A.A., Srivastava, P.S. ve Iqbal, M., 1999. Structural Changes in Root and Shoot of Bacopa monniera in Response to Salt Stress, *Journal of Plant Biology*, 42(3), 222-225.
- Allakhverdiev, S.I., Nishiyama, Y., Miyairi, S., Yamamoto, H., Inagaki, N., Kanesaki, Y. ve Murata, N., 2002. Salt Stress Inhibits the Repair of Photodamaged Photosystem II by Suppressing the Transcription and Translation of psbA Genes in Synechocystis, *Plant Physiology*, 130, 1443-1453.
- Alscher, R.G., Ertürk, N. ve Heath, L.S., 2002. Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1331-1341.
- Apel, K. ve Hirt, H., 2004. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress and Signal Transduction, *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.
- Apse, M.P., Aharon, G.S., Snedden, W.A. ve Blumwald, E., 1999. Salt Tolerance Conferred by Overexpression of a Vacuolar Na^+/H^+ Antiporter in Arabidopsis, *Science*, 285, 1256-1258.
- Apse, M.P. ve Blumwald, E., 2007. Na^+ Transport in Plants, *FEBS Letters*, 581, 2247-2254.
- Aro, E.M., Virgin, I. ve Andersson, B., 1993. Photoinhibition of Photosystem II: Inactivation, Protein Damage and Turnover, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1143, 113-134.
- Asada, K., 1999. The Water-Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601-39.
- Ashraf, M., 1994. Organic Substances Responsible for Salt Tolerance in Eruca sativa, *Biologia Plantarum*, 36, 255-259.
- Ashraf, M. ve Fatima, H., 1995. Responses of Some Salt Tolerant and Salt Sensitive Lines of Safflower (Carthamus tinctorius L.), *Acta Physiologica Plantarum*, 17, 61-71.
- Ashraf, M., 2004. Some Important Physiological Selection Criteria for Salt Tolerance in Plants, *Flora*, 199, 361-376.

- Ashraf, M. ve Harris, P.J.C., 2004. Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants, *Plant Science*, 166, 3-16.
- Bartley, G.E. ve Scolnik, P.A., 1995. Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction and Human Health, *The Plant Cell*, 7, 1027-1038.
- Battaglia, M., Olvera-Carillo, Y., Garcarrubio, A., Campos, F. ve Covarrubias, A., 2008. The Enigmatic LEA Proteins and Other Hydrophilins, *Plant Physiology*, 148, 6-24.
- Berkowitz, G.A., 1998. *Water and Salt Stress, Photosynthesis: a Comprehensive Treatise*, Cambridge University Press, ISBN 0 521 57000, Cambridge, 376p.
- Berthomieu, P., Conéjéro, G., Nublat, A., Brackenbury, W.J., Lambert, C., Savio, C., Uozumi, N., Oiki, S., Yamada, K., Cellier, F., Gosti, F., Simonneau, T., Essah, P.A., Tester, M., Véry, A-A., Sentenac, H. ve Casse, F., 2003. Functional Analysis of AtHKT1 in Arabidopsis Shows that Na⁺ Recirculation by the Phloem is Crucial for Salt Tolerance, *The EMBO Journal*, 22(9), 2004-2014.
- Bertorello, A.M. ve Zhu, J-K., 2009. SIK1/SOS2 Networks: Decoding Sodium Signals Via Calcium-Responsive Protein Kinase Pathways, *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 458(3), 613-619.
- Blokhina, O. ve Fagerstedt, K.V., 2010. Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Plant Mitochondria: Origin and Redundant Regulatory Systems, *Physiologia Plantarum*, 138, 447-462.
- Blum, A., 1986. Breeding Crop Varieties for Stress Environments, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2, 199-237.
- Blumwald, E., 2000. Sodium Transport and Salt Tolerance in Plants, *Current Opinion in Cell Biology*, 12, 431-434.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. ve Jensen, R.G., 1995. Adaptations to Environmental Stresses, *The Plant Cell*, 7, 1099-1111.
- Bohnert, H.J., Su, H. ve Shen, B., 1999. Molecular Mechanisms of Salinity Tolerance, Molecular Responses to Cold, Drought, Heat and Salt Stress in Higher Plants, Published by R.G. Landes Co., ISBN 157-059-563-1, 170p.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. ve Hasegawa, P.M., 2005. Plant Adaptive Responses to Salinity Stress, *Plant Abiotic Stress*, Blackwell Publishing Ltd., 270p.
- Breckle, S-W., 2002. Salinity, Halophytes and Salt Affected Natural Ecosystems, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 552p.
- Breusegem, F.V., Vranová, E., Dat, J.F. ve Inz, D., 2001. The Role of Active Oxygen Species in Plant Signal Transduction, *Plant Science*, 161, 405-414.
- Burssens, S., Himanen, K., Cotte, B.V., Beeckman, T., Montagu, M.V., Inze, D. ve Verbruggen, N., 2000. Expression of Cell Cycle Regulatory Genes and Morphological Alterations in Response to Salt Stress in Arabidopsis thaliana, *Planta*, 211, 632-640.
- Chen, Z., Cuin, T.A., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B.P. ve Shabala, S., 2007. Compatible Solute Accumulation and Stress-mitigating Effects in Barley Genotypes Contrasting in Their Salt Tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58, 4245-4255.
- Cheong, M.S. ve Yun, D-J., 2007. Salt-stress Signaling, *Journal of Plant Biology*, 50(2), 148-155.
- Cobb, M.H. ve Schaefer, E.M., 1996. MAP Kinase Signaling Pathways, *Promega Notes Magazine*, 59, 37-41.
- Cram, W.J., Torr, P.T. ve Rose, D.A., 2002. Salt Allocation During Leaf Development and Leaf Fall in Mangroves, *Trees*, 16, 112-119.
- Cramer, G.R., 2002. Sodium-calcium Interactions Under Salinity Stress; Plants; Environment-Plants-Molecules, Published by Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 522p.
- Dajic, Z., 2006. Salt Stress, Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants, ISBN-13 978-1-4020-4224-9, Dordrecht, The Netherlands, 345p.
- Dankov, K., Busheva, M., Stefanov, D. ve Apostolova, E.L., 2009. Relationship Between the Degree of Carotenoid Depletion and Function of the Photosynthetic Apparatus, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 96, 49-56.
- Degl'Innocenti, E., Hafsi, C., Guidi, L. ve Navari-Izzo, F., 2009. The Effect of Salinity on Photosynthetic Activity in Potassium-deficient Barley Species, *Journal of Plant Physiology*, 166, 1968-1981.
- Desikan, R., Hancock, T.J. ve Neill, S.J., 2004. Oxidative Stress Signalling, *Plant Responses to Abiotic Stress*, Published by Springer, Germany, 300p.
- Desikan, R., Hancock, J. ve Neill, S., 2005. Reactive Oxygen Species as Signaling Molecules, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Publishing by Blackwell, ISBN 978-1-4051-2529-1, Oxford, 302p.
- Diamant, S., Eliyahu, N., Rosenthal, D. ve Goloubinoff, P., 2001. Chemical Chaperones Regulate Molecular Chaperones In Vitro and in Cells under Combined Salt and Heat Stress, *The Journal of Biological Chemistry*, 276(43), 39586-39591.
- Djilianov, D., Georgieva, T., Moyankova, D., Atanassov, A., Shinozaki, K., Smeeken, S.C.M., Verma, D.P.S. ve Murata, N., 2005. Improved Abiotic Stress Tolerance in Plants by Accumulation of Osmoprotectants-gene Transfer Approach, *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 19, 63-71.
- Fedina, I.S., Nedeva, D. ve Çiçek, N., 2009. Pre-treatment with H₂O₂ Induces Salt Tolerance in Barley Seedlings, *Biologia Plantarum*, 53(2), 321-324.
- Ferroni, L., Baldisserotto, C., Pantaleoni, I., Billi, P., Fasulo, M.P. ve Pancaldi, S., 2007. High Salinity Alters Chloroplast Morpho-physiology in a Fresh Water Kirchneriella species (Selenastraceae) from Ethiopian Lake Awasa, *American Journal of Botany*, 94(12), 1972-1983.
- Foyer, C.H., Gomez, L.D. ve Van Heerden, P.D.R., 2005.

- Glutathione, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, ISBN: 978-1-4051-2529-1, Oxford, Britain, 302p.
- Galvez-Valdivieso, G. ve Mullineaux, P.M., 2010. The Role of Reactive Oxygen Species in Signalling from Chloroplasts to the Nucleus, *Physiologia Plantarum*, 138, 430-439.
- Glenn, E.P., Brown, J.J. ve Blumwald, E., 1999. Salt Tolerance and Crop Potential of Halophytes, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(2), 227-255.
- Gong, D., Guo, Y., Schumaker, K.S. ve Zhu, J-K., 2004. The SOS3 Family of Calcium Sensors and SOS2 Family of Protein Kinases in Arabidopsis, *Plant Physiology*, 134, 919-926.
- Gorovits, R. ve Czosnek, H., 2008. Expression of Stress Gene Networks in Tomato Lines Susceptible and Resistant to Tomato Yellow Leaf Curl Virus in Response to Abiotic Stresses, *Plant Physiology and Biochemistry*, 46, 482-492.
- Gould, K.S., Mckelvie, J. ve Markham, K.R., 2002. Do Anthocyanins Functions as Antioxidants in Leaves? Imaging of H₂O₂ in Red and Green Leaves After Mechanical Injury, *Plant Cell and Enviroment*, 25, 1261-1269.
- Grace, S.C., 2005. Phenolic as Antioxidants, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, ISBN: 978-1-4051-2529-1, Oxford, Britain, 302p.
- Hare, P.D. ve Cress, W.A., 1997. Metabolic Implications of Stress-induced Proline Accumulation in Plants, *Plant Growth Regulation*, 21(2), 79-102.
- Hare, P.D., Cress, W.A. ve Staden, J.V., 1998. Dissecting the Roles of Osmolyte Accumulation During Stress, *Plant, Cell and Environment*, 21, 535-553.
- Hare, P.D., Cress, W.A. ve Staden, J.V., 1999. Proline Synthesis and Degradation: a Model System for Elucidating Stress-related Signal Transduction, *Journal of Experimental Botany*, 50(333), 413-434.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J-K. ve Bohnert, H.J., 2000. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 463-99.
- Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F. ve Del Rio, L.A., 1995. Salt-induced Oxidative Stress in Chloroplasts of Pea Plants, *Plant Science*, 105, 151-167.
- Hong, C-Y., Chao, Y-Y., Yang, M-Y., Cho, S-C. ve Kao, C.H., 2009. Na⁺ But Not Cl⁻ or Osmotic Stress is Involved in NaCl Induced Expression of Glutathione Reductase in Roots of Rice Seedlings, *Journal of Plant Physiology*, 166, 1598-1606.
- Hu, Y. ve Schmidhalter, U., 2005. Drought and Salinity: A Comparison of Their Effects on Mineral Nutrition of Plants, *Journal of Plant Nutrient and Soil Science*, 168, 541-549.
- Huang, B., 2006. Cellular Membranes in Stress Sensing and Regulation of Plant Adaptation to Abiotic Stresses, *Plant-Environment Interactions*, Published by CRC/Taylor and Francis, 416p.
- Hundertmark, M. ve Hinch, D.K., 2008. LEA (Late Embryogenesis Abundant) Proteins and Their Encoding Genes in Arabidopsis thaliana, *BMC Genomics*, 9(118), 1-22.
- Hussein, T.M., Chandrasekhar, T., Hazara, M., Sultan, Z., Saleh, B.K. ve Gopal, G.R., 2008. Recent Advances in Salt Stress Biology – a Review, *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 3(1), 8-13.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. ve Sarin, N., 2001. Ameliorative Effects of Proline on Salt Stress-induced Lipid Peroxidation in Cell Lines of Groundnut (Arachis hypogaea L.), *Plant Cell Reports*, 20(5), 463-468.
- Jamei, R., Heidari, R., Khara, J. ve Zare, S., 2009. Hypoxia Induced Changes in the Lipid Peroxidation, Membrane Permeability, Reactive Oxygen Species Generation, and Antioxidative Response Systems in Zea mays Leaves, *Turkish Journal of Biology*, 33, 45-52.
- Jaspers, P. ve Kangasjärvi, J., 2010. Reactive Oxygen Species in Abiotic Stress Signaling, *Physiologia Plantarum*, 138, 405-413.
- Kaldenhoff, R., Ribas-Carbo, M., Sans, J.F., Lovisolo, C., Heckwolf, M. ve Uehlein, N., 2008. Aquaporins and Plant Water Balance, *Plant Cell and Environment*, 31, 658-666.
- Kanwischer, M., Porfirova, S., Bergmüller, E. ve Dörmann, P., 2005. Alterations in Tocopherol Cyclase Activity in Transgenic and Mutant Plants of Arabidopsis Affect Tocopherol Content, Tocopherol Composition, and Oxidative Stress, *Plant Physiology*, 137, 713-723.
- Katsuhara, M. ve Kawasaki, T., 1996. Salt Stress Induced Nuclear and DNA Degradation in Meristematic Cells of Barley Roots, *Plant Cell Physiology*, 37(2), 169-173.
- Kendirli, B., Çakmak, B. ve Uçar, Y., 2005. Salinity in the Southeastern Anatolia Project (GAP), Turkey: Issues and Options, *İrrigation and Drainage*, 54, 115-122.
- Khatun, S. ve Flowers, T.J., 1995. Effects of Salinity on Seed Set in Rice, *Plant Cell and Environment*, 18, 61-67.
- Kirch, H-H., Vera-Estrella, R., Golldack, D., Quigley, F., Michalowski, C.B., Barkla, B.J. ve Bohnert, H.J., 2000. Expression of Water Channel Proteins in Mesembryanthemum crystallinum, *Plant Physiology*, 123, 111-124.
- Koyro, H-W., 2002. Ultrastructural Effects of Salinity in Higher Plants, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p.
- Krell, A., Funck, D., Plettner, I., John, U. ve Dieckmann, G., 2007. Regulation of Proline Metabolism Under Salt Stress in the Psychrophilic Diatom *Fragilariopsis*

- cylindrus (Bacillariophyceae), *Journal of Phycology*, 43, 753-762.
- Krieger-Liszkay, A. ve Trebst, A., 2006. Tocopherol is the Scavenger of Singlet Oxygen Produced by the Triplet States of Chlorophyll in the PSII Reaction Centre, *Journal of Experimental Botany*, 57(8), 1677-1684.
- Larcher, W., 1995. *Physiological Plant Ecology*, Published by Springer, ISBN 0-387-09795-3, New York, 506p.
- Lima-Costa, M.E., Ferreira, S., Duarte, A. ve Ferreira, A.L., 2008. Alleviation of Salt Stress Using Exogenous Proline on a Citrus Cell Line, VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops, ISHS Acta Horticulturae http://www.actahort.org/books/868/868_10.htm
- Logan, B.A., 2005. Reactive Oxygen Species and Photosynthesis, Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Publishing by Blackwell, ISBN 978-1-4051-2529-1, Oxford, 302p.
- Lu, C., Qiu, N., Lu, Q., Wang, B. ve Kuang, T., 2002. Does Salt Stress Lead to Increased Susceptibility of Photosystem II to Photoinhibition and Changes in Photosynthetic Pigment Composition in Halophyte *Suaeda salsa* Grown Outdoors?, *Plant Science*, 163, 1063-1068.
- Lüttge, U., 2002. *Mangroves, Salinity: Environment-Plants-Molecules*, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p.
- Mahajan, S. ve Tuteja, N., 2005. Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.
- Mahajan, S., Pandey, G.K. ve Tuteja, N., 2008. Calcium and Salt-stress Signaling in Plants, Shedding Light on SOS Pathway, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 471, 146-158.
- Makino, A., Miyake, C. ve Yokota, A., 2002. Physiological Functions of the Water-water Cycle (Mehler Reaction) and the Cyclic Electron Flow Around PS I in Rice Leaves, *Plant Cell Physiology*, 43(9), 1017-1026.
- Mansour, M.M.F., Salama, K.H.A. ve Al-Mutawa, M.M., 2003. Transport Proteins and Salt Tolerance in Plants, *Plant Science*, 164, 891-900.
- Mascio, P.D., Murphy, M.E. ve Sies, H., 1991. Antioxidant Defence Systems: the Role of Carotenoids, Tocopherols and Thiols, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53, 194-200.
- Maurel, C. ve Chrispeels, M.J., 2001. Aquaporins. A Molecular Entry into Plant Water Relations, *Plant Physiology*, 125, 135-138.
- Maxwell, D.P., Wang, Y. ve McIntosh, L., 1999. The Alternative Oxidase Lowers Mitochondrial Reactive Oxygen Production in Plant Cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 8271-8276.
- May, M.J., Vernoux, T., Leaver, C., Montagu, M.V. ve Inzé, D., 1998. Glutathione Homeostasis in Plants: Implications for Environmental Sensing and Plant Development, *Journal of Experimental Botany*, 49(321), 649-667.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A. ve Cambraia, J., 2003. Photosynthesis and Activity of Superoxide Dismutase, Peroxidase and Glutathione Reductase in Cotton Under Salt Stress, *Environmental and Experimental Botany*, 49, 69-76.
- Minkov, I.N., Jahoubjan, G.T., Denev, I.D. ve Toneva, V.T., 1999. Photooxidative Stress in Higher Plants, *Handbook of Plant Crop Stress*, ISBN 0-8247-1948-4, New York, 1198p.
- Mittler, R., 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance, *TRENDS in Plant Science*, 7, 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. ve Breusegem, F.V., 2004. Reactive Oxygen Gene Network of Plants, *Trends in Plant Science*, 9(10), 490-498.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. ve Volokita, M., 2004. Salinity Up-regulates the Antioxidative System in Root Mitochondria and Peroxisomes of the Wild Salt-tolerant Tomato Species *Lycopersicon pennellii*, *Journal of Experimental Botany*, 55(399), 1105-1113.
- Miyake, H., Mitsuya, S. ve Rahman, M.S., 2006a. Ultrastructural Effects of Salinity Stress in Higher Plants, *Abiotic Stress Tolerance in Plants: Toward the Improvement of Global Environment and Food*, Published by Springer, ISBN-10 1-4020-4388-0, Dordrecht, The Netherlands, 275p.
- Miyake, C., Shinzaki, Y., Nishioka, M., Horiguchi, S. ve Tomizawa, K-I., 2006b. Photoinactivation of Ascorbate Peroxidase in Isolated Tobacco Chloroplasts: Galdieria partita APX Maintains the Electron Flux Through the Water-water Cycle in Transplastomic Tobacco Plants, *Plant Cell Physiology*, 47(2), 200-210.
- Moghaieb, R.E.A., Saneoka, H. ve Fujita, K., 2004. Effect of Salinity on Osmotic Adjustment, Glycinebetaine Accumulation and the Betain Aldehyde Dehydrogenase Gene Expression in Two Halophytic Plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*, *Plant Science*, 166, 1345-1349.
- Mohammad, M., Shibli, R., Ajlouni, M. ve Nimri, L., 1998. Tomato Root and Shoot Responses to Salt Stress Under Different Levels of Phosphorus Nutrition, *Journal of Plant Nutrition*, 21(8), 1667-1680.
- Munns, R., 2002a. Salinity, Growth and Phytohormones, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p.
- Munns, R., 2002b. Comparative Physiology of Salt and Water Stress, *Plant Cell and Environment*, 25, 239-250.
- Munns, R. ve Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
- Niu, X., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M. ve Pardo, J.M., 1995. Ion Homeostasis in NaCl Stress Environments, *Plant Physiology*, 109, 735-742.
- Noctor, G. ve Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control,

- Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49, 249-279.
- Noctor, G., Gomez, L., Vanacker, H. ve Foyer, C.H., 2002. Interactions Between Biosynthesis, Compartmentation and Transport in the Control of Glutathione Homeostasis and Signalling, *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1283-1304.
- Pandey, D.M., Choi, I. ve Yeo, U-D., 2009. Photosystem II Activity and Thylakoid Membrane Polypeptides of in vitro Cultured Chrysanthemum as Affected by NaCl, *Biologia Plantarum*, 53(2), 329-333.
- Parida, A.K. ve Das, A.B., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- Parvaiz, A. ve Satyawati, S., 2008. Salt Stress and Phyto-biochemical Responses of Plant - a Review, *Plant Soil Environment*, 54(3), 89-99.
- Pessarakli, M. ve Szabolcs, I., 1999. Soil Salinity and Sodidity as Particular Plant/Crop Stress Factors, *Handbook of Plant Crop Stress*, ISBN 0-8247-1948-4, New York, 1198 p.
- Pi, Y., Jiang, K., Cao, Y., Wang, Q., Huang, Z., Li, L., Hu, L., Li, W., Sun, X. ve Tang, K., 2009. Allene Oxide Cyclase from *Camptotheca acuminata* Improves Tolerance Against Low Temperature and Salt Stress in Tobacco and Bacteria, *Molecular Biotechnology*, 41(2), 115-122.
- Pitman, M.G. ve Läuchli, A., 2002. Global Impact of Salinity and Agricultural Ecosystems, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p.
- Qui, Q.-S., Guo, Y., Dietrich, M.A., Schumaker, K.S. ve Zhu, J.-K., 2002. Regulation of SOS1, a Plasma Membrane Na⁺-H Exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3, *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(12), 8436-8441.
- Rahman, Md.S., Matsumuro, T., Miyake, H. ve Takeoka, Y., 2000. Salinity-induced Ultrastructural Alterations in Leaf Cells of Rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Production Science*, 3(4), 422-429.
- Reddy, M.P. ve Iyengar, E.R.R., 1999. Crop Responses to Salt Stress: Seawater Application and Prospects, *Handbook of Plant Crop Stress*, ISBN 0-8247-1948-4, New York, 1198p.
- Reinhold, L. ve Guy, M., 2002. Function of Membrane Transport System Under Salinity: Plasma Membrane, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*, Published by Kluwer Academic Publishers, ISBN 1-4020-0492-3, Dordrecht, The Netherlands, 522p.
- Rengel, Z., 1992. The Role Calcium in Salt Toxicity, *Plant Cell and Environment*, 15, 625-632.
- Rizhsky, L., Hallak-Herr, E., Breusegem, F.V., Rachmilevitch, S., Barr, J.E., Rodermel, S., Inzé, D. ve Mittler, R., 2002. Double Antisense Plants Lacking Ascorbate Peroxidase and Catalase are Less Sensitive to Oxidative Stress than Single Antisense Plants Lacking Ascorbate Peroxidase or Catalase, *The Plant Journal*, 32, 329-342.
- Rus, A., Yokoi, S., Sharkhuu, A., Reddy, M., Lee, B., Matsumoto, T.K., Koiwa, H., Zhu, J.-K., Bressan, R.A. ve Hasegawa, P.M., 2001. AtHKT1 is a Salt Tolerance Determinant that Controls Na⁺ Entry into Plant Roots, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 14150-14155.
- Sairam, R.K. ve Tyagi, A., 2004. Physiology and Molecular Biology of Salinity Stress Tolerance in Plants, *Current Science*, 86(3), 407-421.
- Sakamoto, A. ve Murata, N., 2002. The Role of Glycine Betaine in the Protection of Plants from Stress: Clues from Transgenic Plants, *Plant Cell and Environment*, 25, 163-171.
- Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C. ve Yamasaki, H., 2002. Plant Phenolic Antioxidant and Prooxidant Activities: Phenolics-induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants, *Toxicology*, 177, 67-80.
- Secenji, M., Bebes, A., Hideg, É. ve Györgyey, J., 2008. Transcriptional Changes in Ascorbate-Glutathione Cycle under Drought Conditions, *Acta Biologica Szegediensis*, 52(1), 93-94.
- Seki, M., Kamei, A., Yamaguchi-Shinozaki, K. ve Shinozaki, K., 2003. Molecular Responses to Drought, Salinity and Frost: Common and Different Paths for Plant Protection, *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 194-199.
- Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C.A. ve Zhao, C.-X., 2008. Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants, *Comptes Rendus Biologies*, 331(3), 215-225.
- Shi, H., Ishitani, M., Kim, C. ve Zhu, J.-K., 2000. The *Arabidopsis thaliana* Salt Tolerance Gene SOS1 Encodes a Putative Na⁺/H⁺ Antiporter, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12), 6896-6901.
- Shi, H. ve Zhu, J.-K., 2002. Regulation of Expression of the Vacuolar Na⁺/H⁺ Antiporter Gene AtNHX1 by Salt Stress and Abscissic Acid, *Plant Molecular Biology*, 50, 543-550.
- Shinozaki, K. ve Yamaguchi-Shinozaki, K., 2007. Gene Networks Involved in Drought Stress Response and Tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58(2), 221-227.
- Sivakumar, P., Sharmila, P. ve Saradhi, P.P., 2000. Proline Alleviates Salt-stress-induced Enhancement in Ribulose-1,5-bisphosphate Oxygenase Activity, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279, 512-515.
- Smirnoff, N., 2005. Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, Publishing by Blackwell, ISBN 978-1-4051-2529-1, Oxford, 302p.

- Sousa, M.F., Campos, F.A.P., Prisco, J.T., Enéas-Filho, J. ve Comes-Filho, E., 2003. Growth and Protein Pattern in Cowpea Seedlings Subjected to Salinity, *Biologia Plantarum*, 47(3), 341-346.
- Stone, J.M. ve Walker, J.C., 1995. Plant Protein Kinase Families and Signal Transduction, *Plant Physiology*, 108, 451-457.
- Sun, W.Q., Li, X-P. ve Ong, B-L., 1999. Preferential Accumulation of D-pinitol in *Acrostichum aureum* Gametophytes in Response to Salt Stress, *Physiologia Plantarum*, 105, 51-57.
- Sundby, C., McCaffery, S. ve Anderson, J.M., 1993. Turnover of the Photosystem II D1 Protein in Higher Plants Under Photoinhibitory and Nonphotoinhibitory Irradian, *The Journal of Biological Chemistry*, 268(34), 25476-25482.
- Swanson, S. ve Gilroy, S., 2010. ROS in Plant Development, *Physiologia Plantarum*, 138, 384-392.
- Tester, M. ve Davenport, R., 2003. Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants, *Annals of Botany*, 91, 503-527.
- Thomas, J.C. ve Bohnert, H.J., 1993. Salt Stress Perception and Plant Growth Regulators in the Halophyte *Mesembryanthemum crystallinum*, *Plant Physiology*, 103, 1299-1304.
- Tuteja, N., 2007. Mechanisms of High Salinity Tolerance in Plants, *Methods in Enzymology*, 428, 419-438.
- Umbach, A.L. ve Seidow, J.M., 1993. Covalent and Noncovalent Dimers of the Cyanide-Resistant Alternative Oxidase Protein in Higher Plant Mitochondria and Their Relationship to Enzyme Activity, *Plant Physiology*, 103, 845-854.
- Vanlerberghe, G.C. ve McIntosh, L., 1997. Alternative Oxidase: from Gene to Function, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48, 703-734.
- Vijayan, K., 2009. Approaches for Enhancing Salt Tolerance in Mulberry (*Morus L*) -A Review, *Plant Omics Journal*, 2(1), 41-59.
- Wang, W., Vinocur, B. ve Altman, A., 2003. Plant Responses to Drought, Salinity and Extreme Temperatures: towards Genetic Engineering for Stress Tolerance, *Planta*, 218, 1-14.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O. ve Altman, A., 2004. Role of Plant Heat-shock Proteins and Molecular Chaperones in the Abiotic Stress Response, *Trends in Plant Science*, 9(5), 244-252.
- Wang, Y., Li, K. ve Li, X., 2009. Auxin Redistribution Modulates Plastic Development of Root System Architecture Under Salt Stress in *Arabidopsis thaliana*, *Journal of Plant Physiology*, 166, 1637-1645.
- Wise, M.J. ve Tunnacliffe, A., 2004. POPP the Question: What Do LEA Proteins Do?, *Trends in Plant Science*, 9(1), 13-17.
- Wu, S-J., Ding, L. ve Zhu, J-K., 1996. SOS1, a Genetic Locus Essential for Salt Tolerance and Potassium Acquisition, *The Plant Cell*, 8, 617-627.
- Wu, J., Seliskar, D.M. ve Gallagher, J.L., 1998. Stress Tolerance in the Marsh Plant *Spartina patens*: Impact of NaCl on Growth and Plasma Membrane Lipid Composition, *Physiologia Plantarum*, 102, 307-317.
- Wu, Y., Wang, Q., Ma, Y. ve Chu, C., 2005. Isolation and Expression Analysis of Salt Up-regulated ESTs in Upland Rice Using PCR-based Subtractive Suppression Hybridization Method, *Plant Science*, 168, 847-853.
- Xiong, L., Schumaker, K.S. ve Zhu, J-K., 2002. Cell Signaling During Cold, Drought, and Salt Stress, *The Plant Cell*, 14, 165-183.
- Yamada, A., Saitoh, T., Mimura, T. ve Ozeki, Y., 2002. Expression of Mangrove Allene Oxide Cyclase Enhances Salt Tolerance in *Escherichia coli*, Yeast, and Tobacco Cells, *Plant Cell Physiology*, 43, 903-910.
- Yokoi, S., Bressan, R.A. ve Hasegawa, P.M., 2002. Salt Stress Tolerance of Plants, *JIRCAS Working Report*, 25-33.
- Yıldız, M. ve Terzi, H., 2008. Effects of NaCl on Protein Profiles of Tetraploid and Hexaploid Wheat Species and Their Diploid Wild Progenitors, *Plant Soil Environment*, 54, 227-233.
- Zhang, J., Jiab, W., Yang, J. ve Ismail, A.M., 2006. Role of ABA in Integrating Plant Responses to Drought and Salt Stresses, *Field Crops Research*, 97, 111-119.
- Zhu, J-K., 2002. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants, *Annual Review of Plant Biology*, 53, 247-73.