

INCÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HOAGLAND KÜLTÜR ÇÖZELTİSİNDE BÜYÜTÜLEN AYÇİÇEĞİ
(*Helianthus annuus* L. cv. Istria) BITKİSİNDE NaCl TİPİ
TUZ STRESİNİN VE ABSİSİK ASİT (ABA)'İN KONSANTRASYONA
VE ZAMANA BAĞLI OLARAK PROLIN BİRİKİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Füsun YÜREKLİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

"Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne"

İş bu çalışma, jürimiz tarafından BIYOLOJİ Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof.Dr. Aslan Aksoy



Üye Doç.Dr. Kayahan Fıskın




Üye Yrd.Doç.Dr. Fatih Topcuoğlu



Onay

Yukardaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../199


Prof.Dr. Bekir ÇETİNKAYA
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Oglum Atilla Mert'e

ÖZET

Bu çalışmada, tuz stresinin ve bir bitki büyüme regülatörü olan Absisik asit (ABA)'in ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Istria) bitkisi yaprak dokusunda prolin birikimine etkisi incelenmiştir. Ayçiçeği bitkisi bitki büyüme odasında ve kontrollü koşullarda, Hoagland kültür çözeltilisinde 25 gün süreyle büyütülmüş ve daha sonra değişik konsantrasyonlarda NaCl tipi tuz stresi ve ABA uygulaması yapılmıştır. Tuz stresi ve ABA uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerde yaprak dokusunda prolin analizi yapılmıştır. Prolin tayininde spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır.

Çalışmamızın sonucunda, değişik konsantrasyonlarda NaCl tipi tuz stresi ve ABA uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerinde artan konsantrasyona ve zamana bağlı olarak prolin miktarının arttığı bulunmuştur.

ABSTRACT

In this study, the effects of salinity stress and Absisic acid (ABA), as a plant growth regulator, on proline accumulation in the leaves of sunflower plant (*Helianthus annuus* L. cv. Istria) were investigated. Sunflower plants were growth under controlled conditions in Hoagland culture solutions which is placed in the plant growth chamber for 25 days then the plants were exposed to the different concentrations of NaCl stress and ABA. After salinity stress and ABA treatment, the analysis of proline were made at 24 th, 48 th and 72 nd h in the leave tissues. Spectrophotometer technique was used in the analysis of proline.

In the result, the level of proline were found to be increased both following the increased concentrations of NaCl stress and ABA at the 24 th, 48 th and 72 h and the time.

TESEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bana yön veren saygıdeğer hocam, sayın Prof.Dr. Suna BOZCUK'a (Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi); bu çalışma süresince her çeşit yardım, uyarı ve yapıcı eleştirileri ile araştırmaların yürütülmesinde emeği geçen değerli tez hocam sayın Yrd. Doç.Dr. S. Fatih TOPCUOĞLU'na teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Deney sonuçlarının istatistik değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof.Dr. F.Zehra MULLUK'a teşekkür ederim.

Bu çalışmada, bilgisayar yazılım işleminde yardımlarını gördüğüm Arş.Grv. Muhittin YÜREKLİ'ye, Arş.Grv. Ahmet İSKENDER'e, Arş.Grv. Özfer YEŞİLADA'ya ve Arş.Grv. Ekrem AKTOKLU'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, bu çalışmayı bir proje halinde destekleyen İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığı'na da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TESEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOD	9
2.1. Çalışmada Kullanılan Deney Materyali	9
2.2. Kültür Çözeltileri	9
2.2.1. Esas kültür çözeltileri	9
2.2.2. Tuzlu kültür çözeltileri	10
2.2.3. ABA'lı kültür çözeltileri	10
2.3. Deneysel Koşullar	11
2.4. Tohum Cimplendirme Yöntemi	11
2.5. Bitki Büyütme Yöntemi	12
2.6. Numune Alma İşlemleri	15
2.7. Prolin Analiz İşlemleri	15
2.8. İstatistik Yöntemler	16
3. BULGULAR	17
3.1. Kontrol ve Değişik Konsantrasyonlarda Tuz Stresi Uygulanmış Ayciçeği Bitkisi Yaprak Dokusunda Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Prolin Miktarının Değişimi	17
3.2. Kontrol ve Değişik Konsantrasyonlarda ABA Uygulanmış Ayciçeği Bitkisi Yaprak Dokusunda Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Prolin Miktarının Değişimi	20
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	24
5. KAYNAKLAR	35

SEKİLLER DİZİNİ

	<u>sayfa</u>
Sekil 1.1. Prolin amino asitinin yapısı	4
Sekil 1.2. (S)-absisik asitin yapısı	7
Sekil 2.1. Havalandırma sisteminin şematik görü- nüşi	12
Sekil 2.2. Bitki büyütme kabı ve üzerine yerleş- tirilen delikli tabla	13
Sekil 2.3. Bitki büyütme odasında Hoagland kültür çözeltisinde büyütülen ayçiçeği bit- kisinin değişik zamanlardaki genel görünüşü	14
Sekil 3.1. Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulamasının 24., 48. ve 72. saatinde ayçiçeği bitkisinin yaprak do- kusunda konsantrasyona bağlı olarak pro- lin miktarının değişimi	18
Sekil 3.2. Kontrol ve 50, 100 ve 150 mM tuz stresi uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak doku- sunda zamana bağlı olarak prolin mikta- rının değişimi.....	19
Sekil 3.3. Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ABA uygulamasının 24., 48. ve 72. sa- atinde ayçiçeği bitkisi yaprak doku- sunda konsantrasyona bağlı olarak pro- lin miktarının değişimi	21
Sekil 3.4. Kontrol 13, 26 ve 52 ppm ABA uygulan- mış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda zamana bağlı olarak prolin miktarının değişimi	22
Sekil 4.1.a Hoagland kültür çözeltisinde büyütü- len ayçiçeği bitkisine 50 mM NaCl	

	<u>sayfa</u>
tuz stresi uygulaması anında görünüş	32
Sekil 4.1.b 50 mM NaCl tuz stresi uygulamasını ta- kiben 24. saatteki görünüş	32
Sekil 4.2.a Hoagland kültür çözeltilisinde büyütü- len ayçiçeği bitkisine 100 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında görünüş	33
Sekil 4.2.b 100 mM NaCl tuz stresi uygulamasını ta- kiben 24. saatteki görünüş	33
Sekil 4.3.a Hoagland kültür çözeltilisinde büyütü- len ayçiçeği bitkisine 150 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında görünüş	34
Sekil 4.3.b 150 mM NaCl tuz stresi uygulamasını ta- kiben 24. saatteki görünüş	34

TABLOLAR DİZİNİ

	sayfa
Tablo 2.1. Normal Hoagland kültür çözeltisi bileşimi	10
Tablo 3.1. Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusundaki prolin miktarları	17
Tablo 3.2. Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ABA uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusundaki prolin miktarları	21

1.GIRIS

Dünyada ondört milyar hektar kullanılabilir alanın 1/4'i potansiyel olarak işlenebilir durumdadır. Bu alanın da yaklaşık %25'i tuzlu alandır. Tuzdan etkilenmiş alanlar yanında, aynı zamanda doğada büyük çöller ve toplam sulak toprakların yaklaşık 1/3'i de tuzludur (1). Tuzluluk tarımsal verimliliği sınırlayan en önemli etkenlerden biridir. Yeryüzünde ekim yapılabilen sulanabilir alanların yaklaşık 1/3'ünün tuzluluktan etkilenmiş olması yanında tuzluluktan etkilenmeyen alanlarda çeşitli sebeplerle tarımsal gelişmenin kısıtlı olması da verimlilikte azalmaya neden olmaktadır (2). Yapılan istatistiklere göre, ülkemizde halen kullanılmayan 2 milyon hektardan fazla çorak (tuzlu) toprak bulunduğu saptanmıştır (3). Ayrıca ülkemizde 17.7 milyon hektar tarıma elverişsiz alanın bulunduğu ve 4.9 milyon hektardan fazla toprağın da kullanılmadığı bildirilmiştir (4). Bilindiği gibi kuraklık topraklarda çoraklaşmaya (tuzlanmaya) neden olur. Çoraklaşma ise toprağın fazla miktarda tuz taşınması ya da tuzluluğun çeşitli nedenlerle artması ve dolayısıyla toprağın tarıma elverişsiz duruma gelmesi demektir. Bu nedenle kurak ve yarı kurak bölgelerde çoraklık önemli bir sorun olarak karşımıza çıkar. Halen üzerinde tarım yapılabilen ve verim potansiyelleri yüksek olan topraklarımız için de gün geçtikçe çoraklaşma tehlikesi arttığından problem daha da ciddi bir durum göstermektedir. Dünya nüfusunun, tüm uyarı ve denetleme çalışmalarına rağmen, karşı konmaz ve korkutucu bir hızla artması sorunun önemini giderek arttırmaktadır. Ülkemiz de nüfusu hızla artan ve beslenmenin temelini tarımsal ürünlerin oluşturduğu bir ülkedir.

Tuzluluk, ülkemiz tarımı için önemli bir konudur. Çünkü bitkiler için tuzluluk sınırlayıcı bir faktör olup, büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bitkilerin olumsuz çevre koşullarına karşı gösterdikleri tepkiler değişik olup, canlı organizmalar için uygun olmayan her bir çevre faktörü stres olarak bilinmektedir. Genel anlamda stres, olumsuz çevre koşulları nedeniyle canlı organizmaların bazı fonksiyon ve sistemlerinde bir denge ve düzen bozukluğu sonucunda ortaya çıkan biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal bir tepkidir. Stresin şiddeti, süresi, etkinliği organizmadan organizmaya değişir (5).

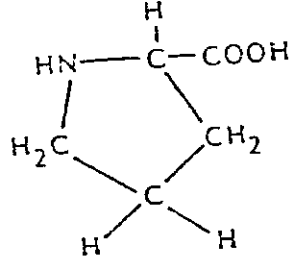
Tuzluluk bir çevresel stres olup, tuz stresi terimi tuzun fazlalığını, aşırılığını ifade etmek için kullanılır. Eğer tuz konsantrasyonu bitki bünyesindeki su potansiyelini 0.5-1 Bar'a düşürecek değerde ise tuz stresinden bahsedilir. Pratikte tuz stresleri belli bir limitin üzerindeki yüksek konsantrasyonlarda meydana gelir. Doğada tuz streslerinin bir çoğu Na (sodyum) tuzlarına ve özellikle NaCl (sodyum klorür)'ye bağlıdır. Tuz stresi denilince öncelikle tuzlu ortamlarda bitkinin maruz kaldığı osmotik stres anlaşılmaktadır. Dış ortamın yüksek osmotik basıncı nedeniyle bitki bünyesine su alınımını engelleyen faktör osmotik stres olarak tanımlanır. Aynı zamanda fizyolojik kuraklık olarak da bilinmektedir. Bu strese osmotik dehidrasyon gerilimi neden olduğu için kuraklık stresinden farklıdır.

Bilindiği gibi, yaygın bir olay olan tuzluluk çorak ve yarı çorak bölgelerin ana özelliklerinden biridir. Tuzlu koşullar halofitler hariç genellikle bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Yani, tuzlu koşullarda tuz çeşidi ne olursa olsun genellikle çimlenme

inhibe edilir, büyüme yavaşlar, verim azalır ve bazı hallerde bitki hayat devresini bile tamamlayamadan ölür. Büyümedeki yavaşlamanın, kök ortamındaki osmotik basıncın artmasına takiben olduğu gösterilmiştir (3,6).

Her bitki kültür ortamında arttırılan osmotik basınca karşı yapabildiği uyum ölçüsünde tuz toleransına ve dolayısıyla yaşama şansına sahiptir. Bitkilerin tuz toleransı gelişme evrelerine bağlı olarak değişim göstermektedir(6). Bitkilerin tuza en duyarlı oldukları devre çimlenme devresi olup büyüme ve gelişme ilerledikçe tuz toleransı da artmaktadır (3,6). Tuzluluğun zararlı etkileri, iyonların bitkinin su durumunu etkileyen dış ortamdaki çözeltinin su aktivitesi üzerindeki etkisine ve hücrenin fizyolojik ve biyokimyasal işlevler üzerindeki direkt etkisine bağlıdır (7,8). Bu etkiler ise bitkide turgorlukta azalma, fotosentezin engellenmesi (9,10), membran işlevlerinin ve enzim aktivitelerinin inhibisyonu (7,8), taşıyıcı mekanizmaların yetersizliğine bağlı iyon eksikliğinin artması (2) gibi olumsuz sonuçların ortaya çıkmasına yol açar. Ayrıca, toleransın sağlanmasıyla ilgili büyüme dışı olaylar için gerekli metabolik enerji kullanımının artmasına da neden olur (11). Kültür bitkilerinin tümü tuza az yada çok duyarlıdır. Tuza karşı gösterdikleri tolerans ise aynı cinsin türleri arasında farklı olabileceği gibi, aynı türün varyeteleri arasında bile değişiklik gösterebilir (12). Yetiştirildikleri ortamda tuzun doğal olarak bulunması yada sulama ve fazla gübreleme sonucunda miktarının artması bitki büyümesini kısıtlar. Bu kısıtlama ise kök ortamında bulunan suyun osmotik basıncının artmasına yada özgün iyon etkisine bağlı olabilir (12). Bitkiler köklerinin bulunduğu ortamda (toprak suyu, su kültürü gibi) meydana gelen osmotik

basınç değişikliklerine hücrelerinde osmotik uyum yoluyla karşılık verirler (8, 13-15). Bitkilerde osmotik uyum terimi tuzluluk yada su eksikliğine karşı iyonların, serbest amino asitlerin ve çözünebilir şekerlerin aktif birikimi ile osmotik potansiyelin düşürülmesini ifade eder (16, 17). Bu amaçla da bitkiler Na^+ , K gibi inorganik iyonları ve gliserol, sükröz, mannitol, sorbitol, pinitol, betain ve bir imino asit olan prolin (Sekil 1.1) gibi organik bileşikleri kullanırlar (13,18).



Sekil 1.1 Prolin amino asitinin yapısı

Su ve kuraklık stresi gibi değişik stres koşullarında bitkilerde prolin birikiminin olduğu (19-23) ve bu birikimin nedenleri, mekanizmaları ayrıntılı olarak tartışılmış ve rapor edilmiştir (15,24). Yapılan bir çalışmada, prolin birikiminin su ve tuz stresine uğramış bitkilerde stresin derecesine bağlı olarak değiştirdiği gösterilmiştir (25). Strese uğramış bitkilerde prolin birikim yerinin esas olarak hücrelerin sitoplazmasında olduğu da bildirilmiştir (26-28).

Prolin'in hem glikofitlerde (25, 29-34) hem de halo fitlerde (34-38) tuz stresi koşullarında da biriktiği rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, NaCl uygulamasının glutamattan prolin sentezini arttırdığı bildirilmiştir (39).

Yapılan çalışmalar, değişik stres koşullarında prolin birikiminin türe özgü bir karakter taşıdığını (23, 40) hatta aynı türe ait varyeteler arasında bile farklılıklar olduğunu (19) ve stres koşullarına bağlı olarak bitkilerde değişik miktarlarda biriktiğini göstermiştir (22,23, 41-43). Bu özellikten yararlanarak kültür bitkilerinin tuzluluğa dayanıklı varyetelerinin saptanması mümkün görülmektedir (15). Literatür bilgilerimize göre, yüksek prolin düzeyinin bitkilerdeki bazı rollerini şöyle sıralayabiliriz; a) osmoregülatif fonksiyonu (44), b) proteinlerin stabilizasyonu (45), c) yüksek sıcaklıkta enzim denatürasyonunun önlenmesi (46), d) stres sonrası periyotta azot ve enerji kaynağı olarak saklanması (47), e) hidroksil radikallerin uzaklaştırılması (18).

Su, kuraklık ve tuzluluk gibi streslere karşı bitkilerin toleransını belirlemede prolin birikiminin kriter olarak kullanılıp kullanılamayacağını ortaya çıkarmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (23,41,44-50). Prolin'in bu rollerine dayanarak stres koşullarında bitkilerin toleransını belirlemede prolin birikiminin bir kriter olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (23, 44-47).

Bir grup araştırmacı ise, prolin birikiminin stresin yarattığı metabolik düzensizliklerin rastlantısal bir sonucu olduğunu ve hiçbir adaptif değere sahip olmadığını ileri sürmüşlerdir (41, 48-50).

Stres koşullarında yüksek organizasyonlu bitkilerden başka bakterilerde ve alglerde de prolin biriktiği saptanmıştır (15). Farklı organizmalarda amino asitlerin daha az yada daha çok derecede biriktiği fakat en fazla gözlenenin prolin konsantrasyonundaki artış olduğu da rapor edilmiştir (15). Kinetik çalışmalardan elde edilen

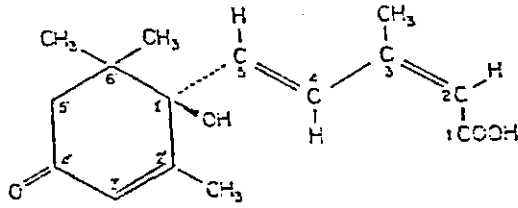
sonuçlara göre, prolin birikimine 4 temel metabolik olayın sebep olabileceği düşünülmektedir (39, 51-54);

1) Glutamattan prolin sentezinin stimüle edilmesi, 2) Ornitin'in deaminasyonu, 3) Prolin oksidasyon hızının düşmesi, 4) Protein sentezinin inhibisyonu ve buna bağlı olarak prolin'in proteinlere katılımlarının azalması. Prolin biyosentezinde yer alan enzimler glutamat kinaz ve glutamik semialdehit dehidrogenazdır (53). Ayrıca, glutamik asitten prolin biyosentezinin prolin tarafından geri bildirim mekanizmasıyla inhibe edildiği de rapor edilmiştir (53).

Yapılan bir çalışmaya göre, tuz stresine maruz kalan bitkilerde prolin artışının genellikle tuza özgü bir tepki olabileceği düşünülmektedir (55). Nitekim, içsel iyon konsantrasyonlarındaki değişmelerin prolin sentezi ve oksidasyonunda rol oynayan bazı özel enzimlerin aktivitesini arttırdığı yada inhibe ettiği rapor edilmiş ve prolin birikiminin bazı inorganik iyonlarla arttırılmış olabileceği ileri sürülmüştür (56-59). Bundan başka, sitoplazmada biriktirilen prolin'in vakuolar katyonları (Na^+ , K^+) osmotik olarak dengeleyebileceğine (60) ve ayrıca amfifilik yapısı nedeniyle proteinlere katılarak kullanılabilir su azaldığı zaman koruyucu ajan olarak görev yapabileceğine inanılmaktadır (45). Ayrıca, hücrel inorganik iyon miktarı ve hücrel bileşim ile prolin birikimi arasında özel ilişkiler olduğu değişik araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Bununla ilgili olarak Na^+ yada K^+ miktarı bir eşik konsantrasyona ulaşuncaya kadar yapraklarda prolin birikiminin başlamadığı ve prolin birikimini başlatacak eşik değerin türden türe farklılık gösterdiği bildirilmiştir (39,40,60).

Absisik asit (ABA) (Şekil 1.2), bitki büyüme regülatörlerinden olup doğal bir bitki büyüme inhibitörüdür.

Genelde ABA, bitki büyüme ve gelişmesini durduran ve gerileten bir etkiye sahiptir. ABA, 3-metil-5-(1'-hidroksi-4'-okso-2',-6'6'-trimetil-2'-siklohekzen-1'-il)-cis, trans-2,4-pentadienik asit'tir (61). ABA'nın kapalı formülü $C_{15}H_{20}O_4$ olup organik çözücülerde ve suda çözünmektedir (61).



Sekil 1.2 (S)-absisik asit'in yapısı

ABA, bitkilerin büyümesi ve gelişmesi üzerinde çok çeşitli fizyolojik etkilere sahiptir, bu yüzden tarımsal çalışmalar için büyük bir ekonomik öneme de sahiptir.

ABA'nın başlıca fizyolojik etkilerini şöyle sıralayabiliriz (62);

- a) Senesens (Yaşlanma) üzerine etkisi.
- b) Absisyon (Kopma) üzerine etkisi.
- c) Dormansi (Dinlenme) üzerine etkisi.
- d) Büyüme üzerine etkisi.
- e) Embriyo gelişimi ve tohum çimlenmesi üzerine etkisi.
- f) Meyve oluşumu ve gelişimi üzerine etkisi.
- g) Apikal dominans (Tepe hakimiyeti yada Tomurcukların korelatif inhibisyonu) üzerine etkisi.
- h) Çiçeklenme üzerine etkisi.
- ı) Kökte ve diğer dokularda su ve iyon alınması ve taşınması üzerine etkisi.
- i) Kök geotropizması üzerine etkisi.

- j) Nükleik asit, protein sentezi ve enzimler üzerine etkisi.
- k) Strese adaptasyon mekanizması üzerine etkisi.
- l) Böceklerde gelişme, fekondite ve yumurta açılımı üzerine etkisi.
- m) Osmoregülasyonda rolü.

ABA, bazı bitkilerde strese karşı adaptasyonda, osmoregülasyonda ve enzimlerin korunmasında rolü olan prolin birikimine ve artışına sebep olmaktadır (63-68). Bununla beraber ABA, ayçiçeği (69) tütün ve ıspanak (67) bitkilerinin turgorlu yapraklarında prolin birikimine sebep olmamaktadır. Oysa, ayçiçeği ve tütün bitkilerinin kuraklık ve tuz stresi esnasında prolin biriktirdiği (34,63) rapor edilmiştir.

ABA'nın sebep olduğu prolin birikiminin metabolik esası kuraklığın sebep olduğu prolin birikimine benzerdir, esas etkisi prolin sentezinin stimülasyonudur. ABA'nın prolin metabolizmasındaki asıl etkisi glutamat'tan prolin sentezini stimüle etmektir (63). Öte yandan, ABA prolin'in proteine katılımını inhibe etmektedir (63). Bununla beraber, ABA uygulamasının arpa yapraklarında prolin oksidasyonunu ve proteine katılımını etkilemediği de bildirilmiştir (63). Ayrıca, içsel ABA düzeylerinin prolin birikiminden önce arttığı da rapor edilmiştir (51). ABA'nın diğer amino asitlerin birikimine sebep olup olmadığı rapor edilmiştir (63).

Bu çalışmadaki amacımız, kontrollü koşullarda Hoagland kültür çözeltisinde yetiştirilen ayçiçeği bitkilerine uygulanan değişik konsantrasyonlarda NaCl tipi tuz stresinin ve ABA'nın prolin birikimi üzerine etkisini incelemek ve buna bağlı olarak prolin birikiminin strese adaptasyonda bir kriter olarak kullanılıp kullanılmayacağına katkı getirmektir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Çalışmada Kullanılan Deney Materyali

Çalışmamızda deney materyali olarak bir kültür bitkisi olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Istria) kullanılmıştır. Tohumlar Ankara Tohum Tescil ve Sertifikasyon Merkezi'nden temin edilmiştir. Mart 1991 yılında temin edilen bu tohumlar tescilli olup 1990 yılı hasadına aittir.

Bu bitkinin seçilmesindeki amaç, tuza orta derecede toleranslı olmasıdır (62).

2.2. Kültür Çözeltileri

Çalışmamızda kullanılan kültür çözeltilerini üç ana grupta toplayabiliriz.

2.2.1. Esas kültür çözeltisi

Bu çalışmada esas kültür çözeltisi olarak, Hoagland kültür çözeltisi kullanılmıştır. Hoagland kültür çözeltisinin bileşimi, Hoagland ve Arnon (70) tarafından hazırlanmış olup Tablo 2.1 'de verilmiştir.

Yapılan bir ön çalışmada, Hoagland ve Arnon (70)'un verdiği bileşime göre hazırlanan normal konsantrasyondaki Hoagland kültür çözeltisinde 4 hafta yetiştirilen bitkilerle, 1/2 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisinde aynı süre yetiştirilen bitkiler arasında görünüş bakımından önemli bir fark tesbit edilemediği bildirilmiştir (6). Bu nedenle daha ekonomik olduğu için bütün deneylerimizde 1/2 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisi esas kültür çözeltisi olarak kullanılmıştır.

Tablo 2.1. Normal Hoagland kültür çözeltilisinin bileşimi

Makro elementler	g/l	Firma adı
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.821	Merck
KNO_3	0.506	Merck
KH_2PO_4	0.136	Merck
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.120	Merck
Mikro elementler	mg/l	
$\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Ferrik sitrat)	50.00	Merck
$\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.47	Merck
H_3BO_3	2.90	Merck
ZnCl_2	0.12	Merck
CuCl	0.03	Merck

Not: 1/2 oranında sulandırılmış kültür çözeltilisi hazırlamak için Tablo 2.1'de verilen miktarlardaki makro ve mikro elementler önce 1 litrede hazırlanarak daha sonra 2 litreye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'sı 0.05 M KOH kullanılarak 5.7-5.8'e ayarlanmıştır.

2.2.2. Tuzlu kültür çözeltileri

Deney bitkisinin yapraklarında konsantrasyona ve zamana bağlı olarak içsel prolin birikimi üzerinde tuz stresinin etkisini görebilmek amacıyla NaCl tipi tuzlu kültür çözeltileri hazırlanmıştır. Esas kültür çözeltilisi (kontrol) olarak kullandığımız 1/2 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltilisine 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl (Merck) tuzu ilave ederek değişik konsantrasyonlarda tuzlu kültür çözeltileri hazırlanmıştır.

2.2.3. ABA'lı kültür çözeltileri

Deney bitkisinin yapraklarında konsantrasyona ve

zamana bağlı olarak içsel prolin birikimi üzerinde ABA'nın etkisini görebilmek amacıyla ABA'lı kültür çözeltileri hazırlanmıştır. Esas kültür çözeltisi olarak kullandığımız 1/2 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltilisine 13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA (Sigma) ilave ederek değişik konsantrasyonlarda ABA'lı kültür çözeltileri hazırlanmıştır.

2.3. Deneysel Koşullar

Çimlenme ve büyütme devresini kapsayan tüm çalışmalar bitki büyütme odasında, kontrollü koşullarda yapılmıştır. Her iki devrede de bitki büyütme odasındaki sıcaklık gece ve gündüz 24 ± 1 °C ve bağlıl nem $\%65\pm 5$ 'e ayarlanmış olup deney süresince koşullar sabit kalmıştır.

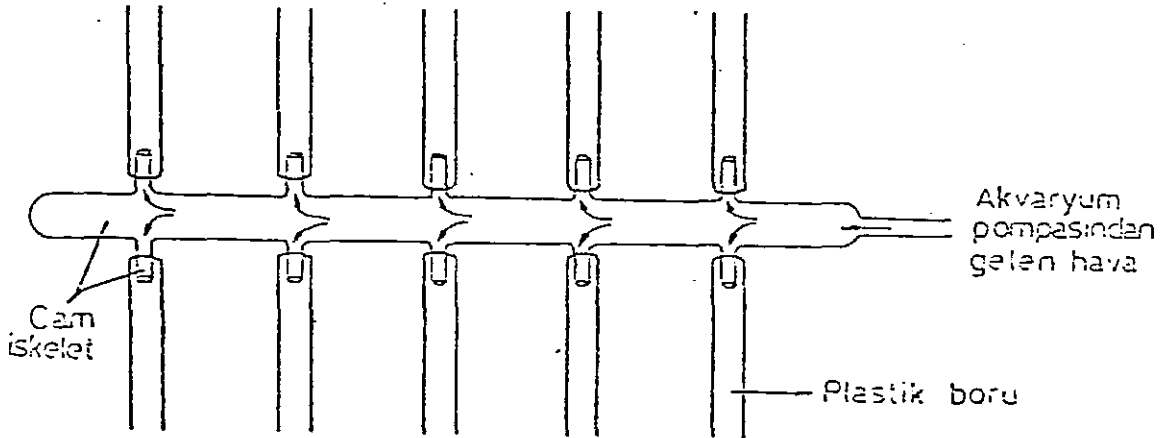
Çimlenme devresinde kültür kapları karanlıkta bırakılmıştır. Büyütme devresinde bitkiler 15 saat (07.00-22.00 arası) ışık, 9 saat (22.00-07.00 arası) karanlık periyodunda bırakılmıştır.

Bitki büyütme odasındaki aydınlatma tavandan olup, aydınlatma şiddeti bitki yaprak yüzeyinde 12.000 lüks'tür. Aydınlatma şiddetinin $\%90$ 'ı floresans lamba, $\%10$ 'u incandescent lamba ile sağlanmıştır.

2.4. Tohum Çimlendirme Yöntemi

Çimlendirme işlemine başlamadan önce tohumların dolgun görünüşlü, sağlam ve benzer büyüklükte olanlar seçilmiştir. Daha sonra tohumlar Hoagland kültür çözeltisiyle ıslatılarak 24 saat süreyle şişmeye bırakılmıştır. Şişme esnasında tohumları ıslatan Hoagland kültür çözeltisi güç-

l bir akvaryum pompasına bağlanan havalandırma sistemiyle havalandırılmıştır (Şekil 2.1). 24 saat sonra Hoagland kültür zltisi szlmş ve şişmiş tohumlar çimlendirme kaplarına alınmıştır. imlendirme kabı olarak 20x14x6 cm boyutlarında kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. imlendirme kaplarının ilerine çok ince bir tabaka pamuk konulduktan sonra bunun üzerine iki tabaka süzgeç kağı yerleştirilmiştir. Kaplardaki pamuk ve süzgeç kağıtları 20 ml Hoagland kültür zltisi ile nemlendirildikten sonra, tohumlar iki kağıt tabakası arasına dikkatlice yayılmıştır. imlendirme kapları kapakları kapatılıp bitki büyütme odasına yerleştirilmiş ve tohumların çimlenmesi için kaplar  gün karanlıkta bırakılmıştır. Çimlenme için radikulanın belirgin derecede testadan çıkmış olması esas kabul edilmiştir.

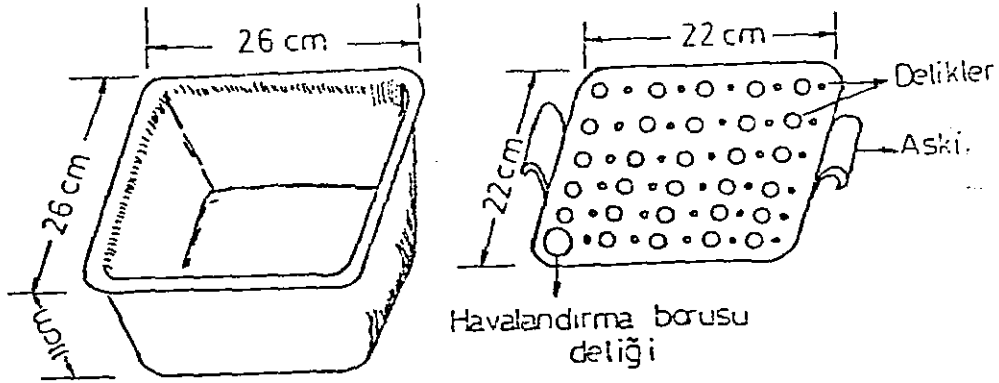


Şekil 2.1 Havalandırma sisteminin şematik görünüşü

2.5. Bitki Büyütme Yöntemi

Bitkilerin büyütülmesinde özel bitki büyütme kapları kullanılmıştır. Bu kaplar plastik olup 26x26x11 cm boyutlarında ve yaklaşık 4 lt kültür zltisi alabilmektedir. Ayrıca her kap için bitkileri üzerinde taşıyabilecek 22x22

cm boyutlarında fiberglastan yapılmış, iki yanında askısı olan delikli kapak şeklinde bir tabla kullanılmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Bitki büyütme kabı ve üzerine yerleştirilen delikli tabla.

Her tablanın üzerinde 30 adet 0.6 cm çapında (ayçiçeği ve buğday gibi tohumlar için), 30 adet 0.4 cm çapında (domates gibi küçük tohumlar için) delik bulunmaktadır. Ayrıca, tablanın bir köşesinde havalandırma borusu için büyükçe bir delik vardır. Plastik kaplar, üzerlerine yerleştirilen tabla seviyesine kadar Hoagland kültür çözeltisiyle doldurulmuştur. Sonra, çimlenmiş ve kökleri yeterince uzamış üç günlük fideler pens yardımıyla tabladaki deliklere yerleştirilmiştir. Fidelerin dik durabilmelerini sağlamak için pamuk tamponlardan yararlanılmıştır. Her kültür kabı, havalandırma sisteminden (Şekil 2.1) gelen borular aracılığıyla havalandırılmış ve sistemdeki musluklar yardımıyla her kaba eşit miktarda hava kabarcığı gitmesi sağlanmıştır. Kaplardaki Hoagland kültür çözeltisi haftada iki kez olmak üzere değiştirilmiştir. Ayrıca, kaplardaki Hoagland kültür çözeltisinin azalan miktarı hafta içinde tamamlanmıştır. Bu yöntem kullanılarak Hoagland kültür çözeltisinde bitkiler çimlendirmeden iti-

baren 25 gün büyütülmüştür (Sekil 2.3 a-c).



Sekil 2.3. Bitki büyütme odasında Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen ayçiçeği bitkisinin değişik zamanlardaki genel görünüşü.
a. 7 günlük b. 18 günlük c. 25 günlük

Hoagland kültür çözeltilisinde 25 gün büyütülen ayçiçeği bitkilerinin bir grubu hazırlanan 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl kültür çözeltililerine ve diğer grubuda 13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA'lı kültür çözeltililerine alınarak tuz stresi ve ABA uygulaması yapılmıştır. Tuz stresi ve ABA uygulamasını takiben bitkiler aynı koşullarda 72 saat daha büyütülmüştür. Prolin analizi için, bütün deneyler her bir büyütme kabında 30 bitki olmak üzere 4 tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.6. Numune Alma İşlemleri

Prolin analizi için Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen kontrol ayçiçeği bitkisi yapraklarından 25 günlük iken 0. saat ve takiben 24., 48. ve 72. saatlerde, değişik konsantrasyonlarda tuz stresi ve ABA uygulaması yapılmış ayçiçeği bitkisi yapraklarından ise tuz stresi ve ABA uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerde yeterli miktarda numuneler alınmıştır. Yaprak numuneleri, ayçiçeği bitkisinin 2. ve 3. yapraklarından bazis (yaprak tabanı)'den koparılarak alınmıştır.

2.7. Prolin Analiz İşlemleri

Ayçiçeği bitkisi yapraklarındaki serbest prolin miktarı asit-ninhidrin yöntemine göre spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir (71). Analiz işlemleri aşağıda olduğu gibidir;

- 1) 0.5 g bitki yaprak numunesi 10 ml %3 sulfosalisilik asit içinde homojenize edildi ve homojenat Whatman No 2 filtre kağıdından süzüldü.
- 2) Süzüntünün 2 ml'si 2 ml ninhidrin ve 2 ml glacial

asetik asit ile beraber bir test tüpü içinde 100 °C'de 1 saat reaksiyona sokuldu ve reaksiyon buz banyosunda tamamlandı.

- 3) Reaksiyon karışımına 4 ml toluen ilave edildi ve tüp karıştırıcı kullanılarak 15-20 saniye karıştırıldı.
- 4) Kromofor içeren toluen fazı aspire edilerek spektrofotometre tüplerine alındı, oda sıcaklığına gelmesi beklendi ve toluen'e karşı 520 nm'de absorbanans okundu.
- 5) Prolin konsantrasyonu standart eğriden yararlanılarak aşağıdaki gibi bulundu.

$$\frac{\begin{array}{l} \mu\text{g prolin/ml} \times \text{ml toluen} \\ 115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mol} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{g numune} \\ 5 \end{array}} = \mu\text{mol prolin/g taze ağırlık}$$

2.8. İstatistik Analizler

Verilerimize ait ortalamalar ve standart hatalar hesaplanmıştır (72). Gerekli karşılaştırmalar için varyans analizi yapılması uygun bulunmuştur (73). Varyans analizinde hazır paket program kullanılmıştır. Kültür çözeltileri, zaman etkenlerinde ve kültür çözeltileri-zaman, kültür çözeltileri-kültür çözeltileri etkileşimlerinde önemliliğin hangi gruplardan geldiğini araştırmak için ortalamaların karşılaştırılmasında Newman-Keuls yöntemi kullanılmıştır (74).

3. BULGULAR

Ayçiçeği bitkisine uygulanan değişik konsantrasyonlardaki tuz stresi ve ABA'nın yaprak dokusunda prolin birikimine etkisiyle ilgili bu çalışmanın bulguları iki başlık altında değerlendirilmiştir.

3.1. Kontrol ve Değişik Konsantrasyonlarda Tuz Stresi Uygulanmış Ayçiçeği Bitkisi Yaprak Dokusunda Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Prolin Miktarının Değişimi

Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda konsantrasyona ve zamana bağlı olarak prolin miktarları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre (Tablo 3.1 ve 3.2), kontrol bitki yaprak dokusunda prolin miktarı 0. saatte 5.030 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlıktır, 24. saatte 5.060 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 48. saatte 5.055 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 72. saatte 5.055 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlıktır. Bu da bize kontrol

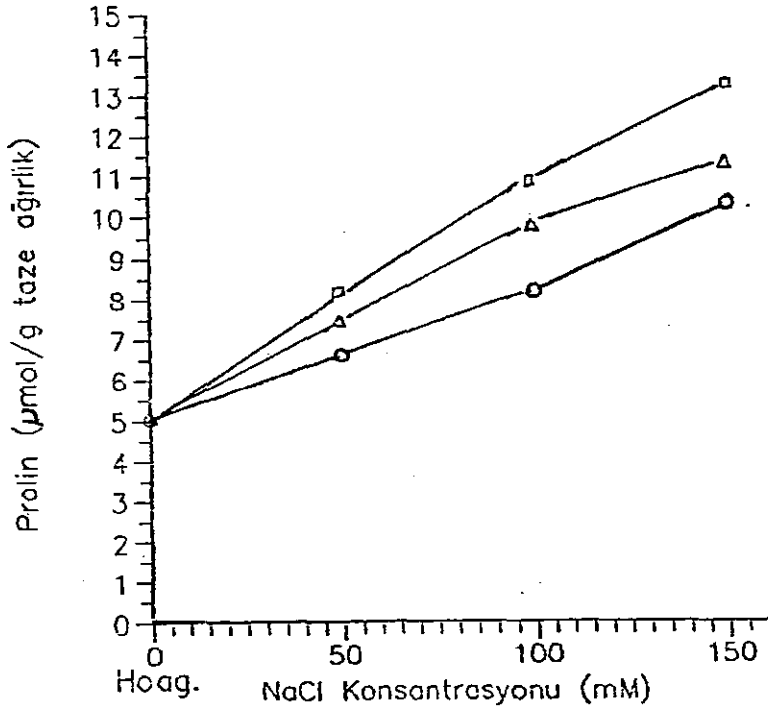
Tablo 3.1 Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusundaki prolin miktarları (ortalama \pm standart hata). Prolin miktarı ile ilgili veriler 4 tekrarın ortalamasıdır.

Kültür Çözeltisi	Prolin miktarı ($\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık)			
	Stres süresi (saat)			
	0	24	48	72
Hoagland (Kontrol)	5.030 \pm 0.150	5.060 \pm 0.120	5.055 \pm 0.103	5.055 \pm 0.103
50 mM NaCl		6.620 \pm 0.298	7.468 \pm 0.168	8.140 \pm 0.159
100 mM NaCl		8.225 \pm 0.315	9.898 \pm 0.173	11.028 \pm 0.168
150 mM NaCl		10.330 \pm 0.150	11.398 \pm 0.107	13.303 \pm 0.268

bitki yaprak dokusunda prolin miktarının zamana bağılı olarak hemen hemen sabit kaldığı fikrini vermektedir. Tablo 3.1'de görüldüğü gibi, değişik konsantrasyonlarda tuz (50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl) stresi uygulanmış bitki yaprak dokusundaki prolin miktarları her üç zamanda da kontrol bitki yaprak dokusundaki prolin miktarından daha yüksek bulunmuştur.

Her üç zamanda da kontrol bitki yaprak dokusundaki prolin miktarı ile değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanmış bitki yaprak dokusundaki prolin miktarları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Değişik zamanlarda tuz konsantrasyonuna bağılı olarak prolin miktarı incelendiğinde (Tablo 3.1, Şekil 3.1),

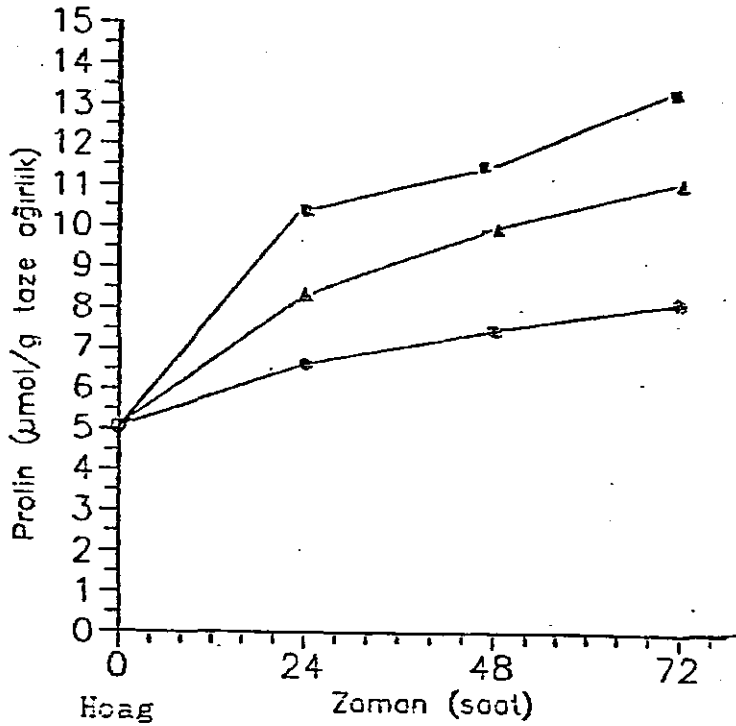


Şekil 3.1 Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulamasının 24., (○) 48. (△) ve 72. (□) saatinde ayçiçeği bitkisinin yaprak dokusunda konsantrasyona bağılı olarak prolin miktarının değişimi.

prolin miktarı 24., 48. ve 72. saatlerde artan tuz konsantrasyonuna (50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl) bağılı olarak artmaktadır.

Tüm konsantrasyonlar arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Yine Tablo 3.1 incelendiğinde, en yüksek prolin miktarının her üç zamanda da (24., 48. ve 72. saat) 150 mM NaCl tuz stresi uygulanmış bitkilerin yaprak dokusunda olduğu görülmektedir. Prolin miktarları en yüksek tuz stresinde zamana bağılı olarak sırasıyla 10.330 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 11.393 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 13.303 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak bulunmuştur.

Yine, 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresi uygulanmış bitkilerin yaprak dokusundaki prolin miktarının zamana bağılı olarak da arttığı saptanmıştır (Tablo 3.1, Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Kontrol ve 50 (●), 100 (▲) ve 150 (■) mM tuz stresi uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda zamana bağılı olarak prolin miktarının değişimi.

50 mM NaCl tuz stresi uygulanmış bitkilerde 24. saat ile 48. saat ve 24. saat ile 72. saatteki prolin miktarları arasındaki farklar önemli bulunurken ($P < 0.05$), 48. saat ile 72. saatteki prolin miktarları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresi uygulanmış bitkilerde ise tüm saatler arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Her üç konsantrasyonda tuz (50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl) stresi uygulanmış bitkilerin yaprak dokusunda zamana bağlı olarak en yüksek prolin miktarı 72. saatte bulunmuştur (Tablo 3.1). Tablo 3.1'den de görüldüğü gibi, prolin miktarları sırasıyla 8.140 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 11.028 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 13.303 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık'tır.

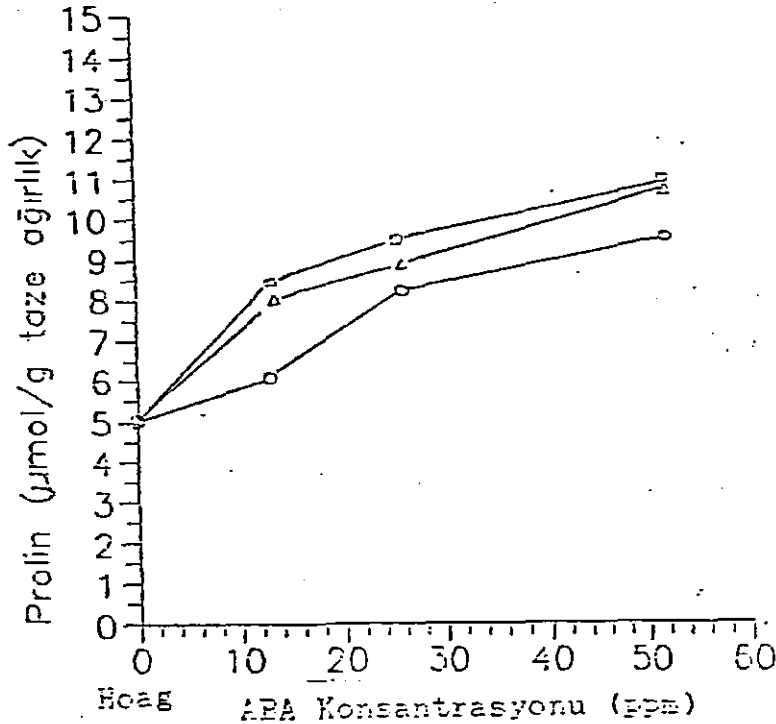
3.2. Kontrol ve Değişik Konsantrasyonlarda ABA Uygulanmış Ayçiçeği Bitkisi Yaprak Dokusunda Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Prolin Miktarının Değişimi

Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ABA uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda konsantrasyona ve zamana bağlı olarak prolin miktarları Tablo 3.2'de verilmiştir. Tablo 3.2 incelendiğinde, değişik konsantrasyonlarda ABA (13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA) uygulanmış bitki yapraklarındaki prolin miktarlarının her üç zamanda da kontrol bitki yaprak dokusundaki prolin miktarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Her üç zamanda da kontrol bitki yaprak dokusundaki prolin miktarı ile değişik konsantrasyonlarda ABA uygulanmış bitki yapraklarındaki prolin miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tablo 3.2 Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ABA uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusundaki prolin miktarları (ortalama \pm standart hata).

Kültür Çözeltisi	Prolin miktarı ($\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık)			
	Stres süresi (saat)			
	0	24	48	72
Hoşlandı (Kontrol)	5.030 \pm 0.150	5.060 \pm 0.120	5.055 \pm 0.103	5.055 \pm 0.103
13 ppm ABA		6.078 \pm 0.178	7.945 \pm 0.153	8.423 \pm 0.067
26 ppm ABA		8.228 \pm 0.082	8.765 \pm 0.085	9.505 \pm 0.260
52 ppm ABA		9.505 \pm 0.260	10.700 \pm 0.255	10.895 \pm 0.145

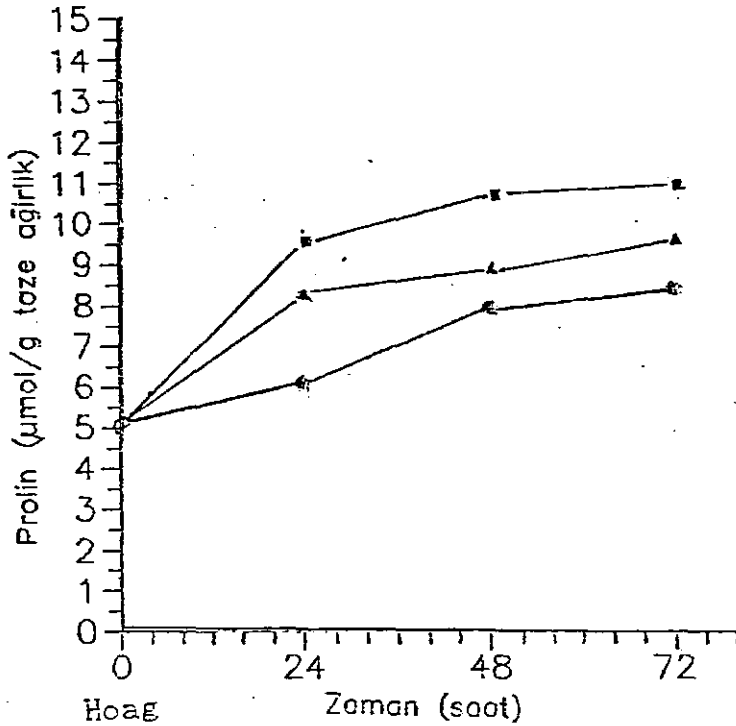
Değişik zamanlarda ABA konsantrasyonuna bağlı olarak prolin miktarı incelendiğinde (Tablo 3.2), prolin miktarı 24., 48. ve 72. saatlerde artan ABA konsantrasyonuna (13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA) bağlı olarak artmaktadır (Sekil 3.3) ve prolin miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).



Sekil 3.3 Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ABA uygulamasının 24. (o), 48. (Δ) ve 72. (◻) saatinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda konsantrasyona bağlı olarak prolin miktarının değişimini.

Değişik konsantrasyonlarda ABA uygulanmış bitkilerdeki prolin miktarı incelendiğinde (Tablo 3.2), her üç zamanda da (24., 48. ve 72. saat) en yüksek prolin miktarının 52 ppm ABA uygulanmış bitkilerin yaprak dokusunda olduğu görülmektedir. Prolin miktarları sırasıyla 9.505 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 10.700 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 10.895 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık'tır.

Yine Tablo 3.2, Şekil 3.4 incelendiğinde, 13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA uygulanmış bitkilerin yaprak dokusunda prolin miktarının zamana bağlı olarak da arttığı görülmektedir.



Şekil 3.4 Kontrol ve 13, (●) 26 (▲) ve 52 (■) ppm ABA uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda zamana bağlı olarak prolin miktarının değişimi.

13 ppm ve 52 ppm ABA uygulanmış bitkilerde 24. saat ile 48. saat ve 24. saat ile 72. saatteki prolin miktarları arasındaki farklar önemli ($P < 0.05$), 48. saat ile 72. saatteki prolin miktarları arasındaki fark önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur. 26 ppm ABA uygulanmış bitkilerde ise 24. saat ile 48. saat ve 48. saat ile 72. saatteki prolin miktarları arasındaki farkların önemsiz ($P > 0.05$), 24. saat ile 72. saatteki prolin miktarları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Her üç konsantrasyonda ABA (13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA) uygulanmış bitkilerin yaprak dokusunda zamana bağlı olarak en yüksek prolin miktarı 72. saatte bulunmuştur (Tablo 3.2). Tablo 3.2'den görüldüğü gibi prolin miktarları sırasıyla 8.423 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 9.505 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 10.895 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık'tır.

4.SONUC ve TARTISMA

Stres koşullarının bitkilerde prolin birikimini etkilediği bilinmektedir. Nitekim, değişik bitki türleri ile tuz stresi koşulunda yapılan çalışmaların sonuçları (25,29-38,75) önemli miktarda prolin birikimi olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada da, değişik konsantrasyonlarda tuz (50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl) stresi uygulanmış ayçiçeği bitkilerinin yaprak dokusunda prolin miktarının stres uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı saptanmıştır (Tablo 3.1, Sekil 3.1). Tablo 3.1'den görüldüğü gibi, örneğin stres uygulamasını takiben 72. saatte artan tuz konsantrasyonuna (50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl) bağlı olarak ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarları sırasıyla 8.140 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 11.028 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 13.303 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu bulgu, bu konuda yapılan bazı çalışmalarla benzerlik taşımaktadır. Yapılan bir çalışmada, 205 mM NaCl ve 410 mM NaCl tuz stresi şoku uygulanmış arpa yapraklarında prolin miktarının artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı gösterilmiştir (76). Yine yapılan başka bir çalışmada da, 10 mM, 20 mM, 40 mM ve 60 mM NaCl tuz stresi uygulanmış soya fasulyesi (*Glycine max* [L.] Merr)'nin Bragg ve Ransom varyetelerinin yapraklarında da prolin miktarının artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı rapor edilmiştir (50). Bu çalışmada, 60 mM NaCl stres koşulunda prolin miktarı Bragg varyetesi için yaklaşık 2 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, Ransom varyetesi için ise 0.5 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak bulunmuştur (50).

Bulgularımız, yapılan başka bir çalışma ile de (75) desteklenmektedir. Bu çalışmada da (75), 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresi uygulaması yapılmış Gerek 79 ve Bezostaya 1 buğday çeşitlerinin yaprak dokusunda stres uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerinde prolin miktarının artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı bildirilmiştir.

Aynı zamanda, NaCl tuz stresine adapte olmuş bitkilerde de prolin miktarının artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresine adapte olmuş 34 günlük ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarının artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı rapor edilmiştir (34). Bu araştırmacılar (34), 150 mM NaCl tuz stresine adapte olmuş ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarını 2.56 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak saptamışlardır. Yine NaCl tuz stresine adapte olmuş pirinç callus kültürü ile yapılan bir çalışmada da (1), prolin miktarının artan tuz konsantrasyonuna (100 mM ve 200 mM NaCl) bağlı olarak arttığı ve sırasıyla 7.6 mg/g kuru ağırlık ve 16.9 mg/g kuru ağırlık olduğu rapor edilmiştir.

Çalışmamızın bulguları incelendiğinde (Tablo 3.1), 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresi uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarlarının zamana bağlı olarak da arttığı görülmektedir (Şekil 3.2). Örneğin, en yüksek konsantrasyonda tuz stresi uygulaması olan 150 mM NaCl' de stres uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarları sırasıyla 10.330 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 11.398 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 13.303 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak saptanmıştır (Tablo 3.1). Elde ettiğimiz bu bulgu,

Torello ve Rice (77) tarafından yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar da, çalışmamıza benzer olarak, besin çözeltisine 170 mM NaCl ilavesiyle yaptıkları tuz stresi uygulamasını takiben 1., 3., 5., 7., 9. ve 11. günlerde alkaligrass (*Puccinella distans* L. Parl) sürgünlerinde prolin analizi yapmışlar ve prolin miktarının zamana bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar, prolin miktarını stres uygulamasının 1. gününde yaklaşık 8 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 3. gününde yaklaşık 12 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 11. günde yaklaşık 33 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak bulmuşlardır. Bulgularımız Tıyırdamaz (75)'ın Bezostoya 1 buğday çeşidi ile yapmış olduğu çalışma ile de uygunluk göstermektedir. Bu çalışmada, 50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresi uygulanmış Bezostoya 1 eşidinin yaprak dokusunda stres uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerinde prolin miktarının zamana bağlı olarak arttığı gösterilmiştir. Ancak, zamana bağlı olarak bulgularımız araştırıcının aynı koşullarda Gerek 79 buğday çeşidi ile yapmış olduğu prolin analiz sonuçları ile uygunluk göstermemektedir. Araştırıcının prolin analizi sonuçlarına göre, 50 mM NaCl'de stres uygulamasının 24. ve 48. saatlerinde prolin miktarı aynı bulunurken, 72. saatte artmıştır. 100 mM ve 150 mM NaCl'de stres uygulamasının 48. saatinde 24. saate göre prolin miktarı artarken, her iki tuz konsantrasyonunda 72. saatteki prolin miktarı 48. saatteki prolin miktarına göre bir azalma göstermiştir.

ABA'nın strese karşı adaptasyonda, osmoregölasyonda ve enzimlerin korunmasında rolü olan prolin'in bazı bitkilerde birikimine ve artışına sebep olduğu (63-68) bildirilirken bazı bitkilerde de prolin birikimine ve artışına sebep olmadığı (69) rapor edilmiştir.

Bu konudaki çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular incelendiğinde (Tablo 3.2), değişik konsantrasyonlarda ABA (13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA) uygulanmış ayçiçeği bitkilerinin yaprak dokusunda prolin miktarının ABA uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde artan ABA konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı görülmektedir (Sekil 3.3). Tablo 3.2 incelendiğinde, örneğin ABA uygulamasını takiben 72. saatte artan ABA konsantrasyonuna (13 ppm, 26 ppm ve 52 ppm ABA) bağlı olarak ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarlarının sırasıyla 8.423 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 9.505 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 10.895 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olduğu görülmektedir.

Elde ettiğimiz bu bulgu, bu konuda yapılan bazı çalışmalarla benzerlik taşımaktadır. Yapılan bir çalışmada, değişik konsantrasyonlarda (10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M ve 10^{-4} M) ABA uygulanmış arpa yapraklarında prolin miktarının konsantrasyona bağlı olarak arttığı rapor edilmiştir (66). Bu çalışmanın sonuçlarına göre, kontrol bitki yaprağında prolin miktarı yaklaşık 0.400 mg/g kuru ağırlık bulunurken 10^{-7} M ABA'da yaklaşık 0.600 mg/g kuru ağırlık, 10^{-6} M ABA'da yaklaşık 0.950 mg/g kuru ağırlık, 10^{-5} M ABA'da yaklaşık 1250 mg/g kuru ağırlık ve 10^{-4} M ABA'da yaklaşık 1550 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Yine bu konuda mısır kallus kültürleri ile yapılan bir çalışmada da, prolin miktarının artan ABA konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı rapor edilmiştir (65).

Değişik konsantrasyonlarda ABA uygulanmış ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda ABA uygulamasını takiben 24., 48. ve 72. saatlerde prolin miktarlarının zamana bağlı olarak da arttığı görülmektedir (Tablo 3.2, Sekil 3.4). Tablo 3.2'den görüldüğü gibi, en yüksek konsantrasyonda ABA uygulaması olan 52 ppm ABA'da, ABA uygulamasını

takiben 24., 48. ve 72. saatlerde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarları sırasıyla 9.505 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 10.700 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 10.895 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlıktır.

Bu konudaki bulgularımız bazı çalışmalarla uygunluk göstermektedir. Örneğin, arpa yaprakları ile yapılan bir çalışmada, ABA uygulamasının zamana bağlı olarak prolin miktarını arttırdığı rapor edilmiştir (66). Bu çalışmada, kontrol bitki yapraklarında (0. saat) prolin miktarı yaklaşık 0.600 mg/g kuru ağırlık olarak saptanırken, 10^{-4} M ABA uygulamasını takiben 1. saatte yaklaşık 0.780 mg/g kuru ağırlık, 2. saatte yaklaşık 0.850 mg/g kuru ağırlık, 3. saatte yaklaşık 1050 mg/g kuru ağırlık ve 6. saatte ise yaklaşık 1300 mg/g kuru ağırlık bulunmuştur. Diğer taraftan bu araştırmacı grubu (66), Alaska bezelye çeşidinde ABA uygulamasının zamana bağlı olarak prolin miktarında artma ve azalmalara neden olduğunu da belirtmişlerdir.

ABA uygulanmış bitkilerde zamana bağlı olarak prolin miktarının arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (67,69,78).

Değişik konsantrasyonlarda NaCl tipi tuz stresi ve ABA uygulamasının ayçiçeği bitkisi yaprak dokusundaki prolin birikimi üzerine yapılan bu çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile, bu konuda çalışanların elde ettiği bulgular arasındaki farklılığın konsantrasyon değişikliğine, bitki türüne ve yaşına, materyal ve metod ile laboratuvar çalışma yöntemlerine bağlı olabileceğini söyleyebiliriz.

Bu çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar göstermektedir ki, değişik konsantrasyonlarda NaCl tipi tuz stresi ve ABA uygulamasını takiben değişik zamanlarda ayçiçeği

bitkisi yaprak dokusunda hem artan konsantrasyona hem de zamana bağılı olarak prolin birikimi olmaktadır. Bu durum, değişik konsantrasyonlarda NaCl tipi tuz stresi ve ABA uygulamasını takiben değişik zamanlarda bitki dokularında hem artan konsantrasyona hem de zamana bağılı olarak prolin birikimi olduğu görüşleriyle (50,66,67,75-78) uygunluk göstermektedir. Ayrıca, tuz stresine maruz kalan bitkilerde prolin artışının genellikle tuza özgü bir tepki olabileceği düşüncesiyle de (55) uyusmaktadır.

Bitkiler köklerinin bulunduğu ortamda (toprak suyu, su kültürü gibi) meydana gelen osmotik basınç değişikliklerine hücrelerinde osmotik uyum yoluyla karşılık verirler (8,13-15). Her bitki kültür ortamında arttırılan osmotik basınca karşı yapabildiği uyum ölçüsünde tuz toleransına ve dolayısıyla yaşama şansına sahiptir. Literatür bilgilerimize göre, yüksek prolin düzeyinin bitkilerde osmoregülatif bir rolünün olduğu rapor edilmiştir (44).

Su, kuraklık ve tuzluluk gibi streslere karşı bitkilerin toleransını belirlemede prolin birikiminin kriter olarak kullanılıp kullanılamayacağını ortaya çıkarmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (23,41, 44-50). Bir grup araştırmacı (23,44-47), prolin'in osmoregülatif rolüne dayanarak stres koşullarında bitkilerin toleransını belirlemede prolin birikiminin bir kriter olarak kullanılabilceğini ileri sürerken, bir grup araştırmacı (41, 48-50) ise prolin birikimini stresin yarattığı metabolik düzensizliklerin rastlantısal bir sonucu olduğunu ve hiçbir adaptif değere sahip olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamızda, Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen 25 günlük ayçiçeği bitkilerine değişik konsantrasyonlarda tuz (50 mM, 100 mM ve 150 mM NaCl) stresi uygu-

laması anında gövdelerinin dikliğini ve yapraklarının ise turgor halini kaybettiği gözlenmiştir. 50 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında bu durum çok daha az belirgin iken (Şekil 4.1 a,b), 100 mM ve 150 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında konsantrasyona bağlı olarak çok daha belirgin bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 4.2 a,b ve 4.3 a,b). Değişik konsantrasyonlarda NaCl tuz stresi uygulamasını takiben 24. saatte uygulama anına göre ayçiçeği bitkisinde nispeten bir iyileşme başka bir deyişle gövdelerin dikleştiği ve yaprakların turgorlu hale geldiği gözlenmiştir (Şekil 4.1 a,b, 4.2 a,b ve 4.3.a,b).

Çalışmamızın, kontrol ve değişik konsantrasyonlarda tuz stresi uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarı incelendiğinde (Tablo 3.1); her üç konsantrasyonda da prolin miktarının 24. saatte kontrole göre arttığı görülmektedir. Örneğin, 0. saatte prolin miktarı 5.030 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık iken, 24. saatte 50 mM NaCl'de 6.620 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık, 100 mM NaCl'de 8.225 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık ve 150 mM NaCl'de ise 10.330 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık'tır. Dikkat edildiğinde, her üç konsantrasyonda tuz stresi uygulamasını takiben, 24. saatteki prolin miktarındaki artış (Tablo 3.1) ile ayçiçeği bitkisinde morfolojik olarak gözlenen iyileşme (Şekil 4.1 a,b, 4.2 a,b ve 4.3.a,b) arasında bir paralellik vardır. Ayçiçeği bitkisinde morfolojik olarak gözlenen bu iyileşmenin prolin'in osmoregülatif bir rolünün sonucu olduğunu düşünmekteyiz.

Tüm bunlar da bize ayçiçeği bitkisi yapraklarında gözlenen prolin birikiminin strese adaptasyonda bir kriter olarak kullanılabileceği fikrini vermektedir. Bu fikrimizde, prolin'in osmoregülatif rolüne dayanarak stres koşullarında bitkilerin toleransını belirlemede prolin

birikiminin bir kriter olarak kullanılabileceğini ileri sürenler (23, 44-47) ile uygunluk göstermektedir.

Kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ABA uygulamasının 24., 48. ve 72. saatlerinde ayçiçeği bitkisi yaprak dokusunda prolin miktarları incelendiğinde (Tablo 3.2); değişik konsantrasyonlarda ABA uygulamasını takiben zamana bağlı olarak prolin miktarının arttığı görülmektedir.

Çalışmamızda elde edilen bu bulgu ve prolin'in strese adaptasyonda bir kriter olarak kullanılabileceği fikri, aynı zamanda bize stres koşullarındaki bitkilere dışsal ABA uygulamasının bitkilerin strese adaptasyonunu arttıracığı ve kolaylaştıracağı fikrini de vermektedir.



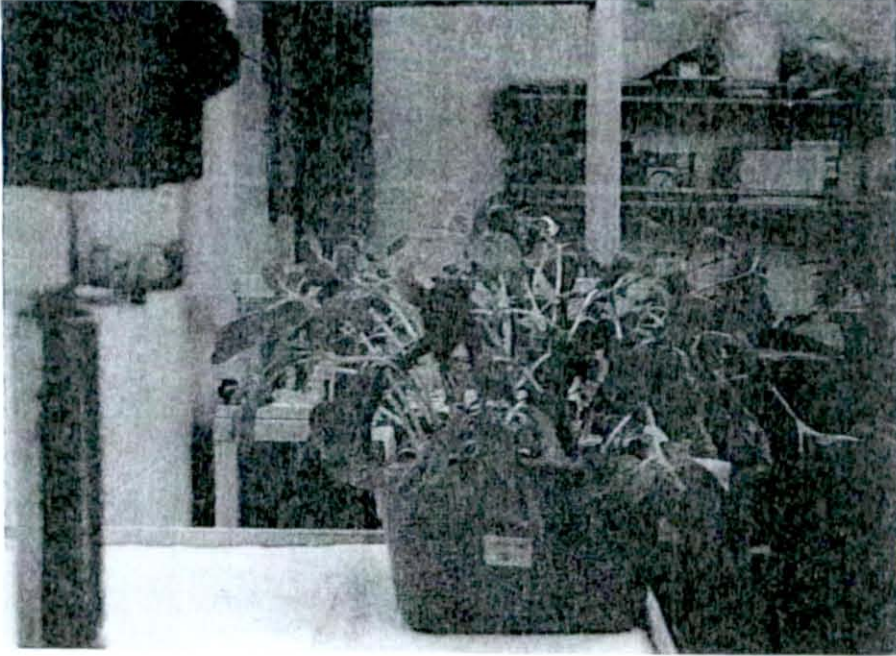
Sekil 4.1 a Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen ayçiçeği bitkisine 50 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında görünüş.



Sekil 4.1 b 50 mM NaCl tuz stresi uygulamasını takiben 24.saatteki görünüş.



Sekil 4.2 a Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen ayçiçeği bitkisine 100 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında görünüş.



Sekil 4.2 b 100 mM NaCl tuz stresi uygulamasını takiben 24. saatteki görünüş



Sekil 4.3. a Hoagland kültür çözeltilisinde büyütülen ayçiçeği bitkisine 150 mM NaCl tuz stresi uygulaması anında görünüş.



Sekil 4.3. b 150 mM tuz stresi uygulamasını takiben 24. saatteki görünüş.

5. KAYNAKLAR

1. Kishor, P.B.K., "Salt Stress in Cultured Rice Cells: Effects of Proline and Abscisic Acid", *Plant, Cell and Environment*, 12, 629-633, (1989).
2. Hasegawa, P.M., Bressan, R.A. and Handa, A.K., "Cellular Mechanism of Salinity Tolerance", *Hort. Science*, 21, 1317-1324 (1986).
3. Cakırlar, H., "Klorür ve Sülfat Tipi Tuzluluğun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Mısır (*Zea mays* L.) ve Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkilerinde Meydana Getirdiği Morfolojik, Anatomik ve Fizyolojik Değişmeler", Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Beytepe, Ankara (1979).
4. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, "1980 Genel Tarım Sayımı Muhtarlık Anketi Sonuçları: Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası Ankara, Yayın No:1000 Haziran (1982).
5. Cakırlar, H. ve Topçuoğlu, S.F., "Stres Terminolojisi: Çöleşen Dünya ve Türkiye örneği", Simpozyum-7 (13-17 Mayıs), Atatürk Üniv. Çevre Sorunları Araştırma Merkezi, Erzurum, 108-129 (1985).
6. Bozcuk, S., "Domates (*Lycopersicum esculentum* Mill), Arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmesinde Tuz-Kinetin Etkileşimleri Üzerinde Araştırmalar", Doçentlik tezi, H.Ü. Fen Fak., Ankara (1978).
7. Flowers, T.J., Troke, P.F. and Yeo, A.R., "The Mechanism of Salt Tolerance in Halophytes", *Ann.Rev.Plant.Physiol.*, 28, 89-121 (1977).
8. Greenway, H. and Munns, R., "Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes", *Ann.Rev.Plant. Physiol.*, 31, 149-190 (1980).
9. Schwarz, M. and Gale, J., "Maintenance Respiration and Carbon Balance of Plants at Low levels of Sodium

- Chloride Salinity", *J.Exp.Bot.*, 32, 933-941 (1981).
10. Walker, R.P., Trokfalvy, E., Scott, N.S. and Kriedeman, E.P., "An Analysis of Photosynthetic Response to Salt Treatment in *Vitis vinifera*", *Aust.J.Plant Physiol.*, 8, 359-374 (1981).
 11. Yeo, A.R., "Salinity Resistance. Physiologies and Prices", *Physiol. Plant.*, 58, 214-222 (1983).
 12. Joshi, S.s., "Effect of Salinity on Organic and Mineral Constituents in the Leaves of *Pigeonpea*", *Plant and Soil*, 82, 69-76 (1984).
 13. Hellebust, J.A., "Osmoregulation", *Ann.Rev.Plant Physiol.*, 27, 485-505 (1976).
 14. Maas, E.V., Nieman, R.H., "Physiology of Plant Tolerance to Salinity. In Crop Tolerance to Suboptimal Land Conditions, (G.A. Jung, Ed.)", ASA Spec. Publ. No. 32, Madison, 13, 277-299 (1978).
 15. Paleg, L.G., Aspinall, D., "The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants", Academic press, 205-209 (1981).
 16. Gabor, G., Simon-sarkadi, L., Bekes, F. and Erdei, L., "Genotype Specific Changes in Amino Acid and Polyamine of Wheat Tissue Culture Induced by Osmotic Stress", *Advances in Agricultural Biotechnology*, 170-176 (1986).
 17. Weimberg, R., "Growth and Solute Accumulation in 3-week-Old Seedlings of *Agropyron elongatum* Stressed with Sodium and Potassium Salts", *Physiol. Plant*, 67, 129-135 (1986).
 18. Smirnoff, N. and Cumbes, Q.J., "Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes", *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060 (1989).
 19. Singh, T.N., Aspinall, D., Paleg, L.G., "Proline Accumulation and Varietal Adaptability to Drought in Barley : A Potential Metabolic Measure of Drought

- Resistance", *Nature (London)* 236, 188-190 (1972).
20. Singh, T.N., Aspinall, D., "Stress Metabolism. I. Nitrogen Metabolism and Growth in the Barley Plant During Water Stress", *Plant physiol.*, 41, 1222-1230 (1973a).
 21. Plum, A., Ebercon, A., "Genotypic Responses in Sorghum to Drought Stress. III. Free Proline Accumulation and Drought Resistance", *Crop Sci.* 16, 428-431 (1976).
 22. Singh, G., Rai, V.K., "Free Proline Accumulation and Drought Resistance in *Cicer arietinum* L.", *Biologia Plantarum (Praha)*, 23(2), 86-90 (1981).
 23. Çakırlar, H., Tıpırdamaz, R., Topçuoğlu, S.F., "Su Stresi Koşulunda Bazı Arpa Varyetelerinde Prolin ve Betain Değişimi", VIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Cilt I, E.Ü. Fen Fakültesi Baskı İşleri Bornova-İzmir (1987).
 24. Dashek, W.V., Erickson, S.S., "Isolation, Assay, Biosynthesis, Metabolism, Uptake and Translocations and Function of Proline in Plant Cell and Tissues", *Bot.Rev.*, 47, 349-385 (1981).
 25. Chu, T.M., Aspinall, D., Paleg, L.G., "Stress Metabolism. VIII. Specific Ion Effects on Proline Accumulation in Barley", *Aust.J.PlantPhysiol.*, 3, 503-511 (1976).
 26. Göring, V.H., Dreier, W., Heinke, F., "Cytoplasmic Osmoregulation by Proline in Corn Roots", *Biol. Rundsch*, 15, 377-380 (1977).
 27. Leigh, R.A., Ahmad, N., Wyn Jones, R.G., "Assesment of Glycinebetaine and Proline Compartmentation by Analysis of Isolated Beet Vacuoles", *Planta* 153, 34-42 (1981).
 28. Pahlich, E., Kerres, R., Jager, H.J., "Influence of Water Stress on the Vacuole/extravacuole Distribution of Proline in Protoplast of *Nicotina rustica*", *Plant*

- Physiol., 72, 590-591 (1983).
29. Chu, T.M., Aspinall, D., Paleg, L.G., "Stress Metabolism. VII. Salinity and Proline Accumulation in Barley", Aust.J.Plant Physiol., 3, 219-228 (1976a).
 30. Bar-Nun, N., Poljakoff-Mayber, A., "Salinity Stress and the Content of Proline in Roots of *Pisum sativum* and *Tamarix tetragyna*", Ann.Bot., 41, 173-179 (1977).
 31. Goring, H., Thien, B.H., "Die Abhängigkeit der Prolin Akkumulation vom grad des Wasserstresses by Wurzeln und Sprossens von Maiskeimplanzen", Biochem.Physiol. Pflanzen, 172, 311-314 (1978).
 32. Huber, W., Schmidt, F., "Zur Wirkung Verschiedener Salze und von Polyathylenglycol auf den Prolin und Aminosäurestoffwechsel von *Pennisetum typhoides*", Z.Pflanzenphysiol, 89, 251-258 (1978).
 33. Mukherjee, I., "The Effect of Potassium on Proline Accumulation in Maize During Wilting", Physiol.Plant, 31, 288-291 (1974).
 34. Cakırlar, H., Topcuoğlu, S.F., Bazı Tuz Gölü Halofitlerinde Prolin İçeriği ve Tuz Stresinde Büyütülen Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Peredovik) Etkisinde Prolin Birikimi", Doğa TU Botanik D. 11(1), 32-37 (1987).
 35. Stewart, G.R., Lee, J.A., "The Role of Proline Accumulation in Halophytes", Planta, 120, 279-289 (1974).
 36. Storey, R., Wyn Jones, R.G., "Salt Stress and Comparative Physiology in the Gramineae. III. The Effect of Salinity Upon the Ion Relations and Glycinebetaine and Proline Levels in *Spartina townsendii*", Aust.J.Plant Physiol., 5, 831-838 (1978).
 37. Tal, M.L., Rosental, L., Abramowitz, R., Forti, M., "Salt Tolerance in *Simmondsia chinensis*. Water Balance and Accumulation of Chloride, Sodium and Proline Under Low and High Salinity", Ann.Bot., 43,

- 701-708 (1979).
38. Treichel, S., "Der Einfluss von NaCl auf den Prolin Stoffwechsel bei Halophyten", Ber.Dtsch. Bot. Ges., 92, 73-85 (1979).
 39. Buhl, M.B. and Stewart, C.R., "Effects of NaCl on Proline Synthesis and Utilization in Excised Barley Leaves", Plant Physiol., 72, 664-667 (1983).
 40. Cavaliari, A.J. and Huang, A.H.C., "Evaluation of Proline Accumulation in the Adaptation of Diverse Species of Marsh Halophytes to the Saline Environment", Amer.J.Bot., 66(3), 307-312 (1979).
 41. Hanson, A.D., Nelsen, C.E. and Everson, E.H., "Evaluation of Free Proline Accumulation as an Index of Drought Resistance Using Two Contrasting Barley Cultivars", Crop Sci., 17, 720-726 (1977).
 42. Aloni, B. and Rosenshtein, G., "Proline Accumulation: A Parameter for Evaluation of Sensitivity of Tomato Varieties to Drought Stress", Physiol. Plant., 61, 231-235 (1984).
 43. Bal, A.R., Qadar, A., Joshi, Y.C. and Rana, R.S., "Free Proline Accumulation Under Salt Stress in Wheat and Barley", Curr. Agric., 8, 91-95 (1984).
 44. Wyn Jones, R.G., Storey, R., "Salt Stress and Comparative Physiology in the Gramineae. IV. Comparison of Salt Stress in *Spartina townsendii* and Three Barley Cultivars", Aust.J.Plant Physiol., 5, 831-838 (1978).
 45. Schobert, B. and Tschesche, H., "Unusual Solution Properties of Proline and its Interaction with Proteins. Biochem. Biophys. Acta, 541,270-277 (1978).
 46. Paleg, L.G., Douglas, T.J., van Daal, A., et al. "Proline and Betaine Protect Enzymes Against Heat Inactivation", Aust.J.Plant Physiol., 8, 107-114 (1981).

47. Barnett, N.M., Naylor, A.W., "Amino Acid and Protein Metabolism in Bermuda Grass During Water Stress", *Plant Physiol.*, 41, 1222-1230 (1966).
48. Hanson, A.D., Nelsen, C.E., Pedersen, A.R., et al., "Capacity for Proline Accumulation During Water Stress in Barley and its Implications for Drought resistance", *Crop Sci.*, 19, 489-493 (1979).
49. Fukutoku, Y. and Yamada, Y., "Source of Proline-nitrogen in Water Stressed Soybean (*Glycine max*) II. Fate of ^{15}N -Labelled Protein", *Physiol. Plant*, 61, 622-628 (1984).
50. Moftah, A.E. and Michel, B.E., "The Effect of Sodium Chloride on Solute Potential and Proline Accumulation in Soybean Leaves", *Plant Physiol.*, 83, 238-240 (1987).
51. Hanson, A.D. and Hitz, W.D., "Metabolic Responses of Mesophytes to Plant Water Deficits", *Ann.Rev. Plant Physiol.*, 66, 342-348 (1982).
52. Treichel, S., "The Influence of NaCl on γ -proline-5-Carboxylate Reductase in Proline-accumulating Cell Suspension Cultures of *Mesembryanthemum nodiflorum* and Other Halophytes", *Physiol. Plant*, 67, 173-181 (1986).
53. Kueh, J.S.H., Hill, J.M., Smith, S.J. and Bright, S.W., "Proline Biosynthesis in a Proline-accumulating Barley Mutant", *Phytochemistry*, 23 (10), 2207-2210 (1984).
54. Heyser, J.W., Chacon, M.J. and Warren, R.S., "Characterization of L-[5- ^{13}C]-Proline Biosynthesis in Halophytic and Nonhalophytic Suspension Cultures by ^{13}C NMR", *J.Plant Physiol.* 135, 459-466 (1989).
55. Chaucan, R.P.S., Chaucan, C.P.S. and Lal, M., "Effect of Kind and Concentration of Salts on the Accumulation of Free Proline in Wheat", *Indian J. Agric. Sci.*, 53 (7), 608-611 (1983).

56. Mukherjee, I., "Effect of Potassium on Proline Accumulation in Maize During Wilting", *Physiol. Plant*, 31, 288-291 (1974).
57. Udayakumar, M., Rama Rao, S., Prasod, T.G. and Krishna Sastry, K.S., "Effect of Potassium on Proline Accumulation in Cucumber Cotyledons", *New Phytol.*, 77, 593-598 (1976).
58. Palfi, G., Nehez, R. and Kdrev, R., "The Effect of Some Growth Substances and KCl on Proline and Free Amino Acid Content During Water Stress", *Fiziol. Rast.*, 2, 10-18 (1976).
59. Weimberg, R., Lerner, H.R. and Poljakoff-Mayber, A., "Relationship Between Potassium and Proline Accumulation in Salt-stressed *Sorghum bicolor*", *Physiol., Plant*, 55, 5-10 (1982).
60. Couhlan, S.J. and Wyn Jones, R.G., "Some responses of *Spinaceae oleraceae* to Salt Stress", *J.Exp.Bot.*, 31, 883-893 (1980).
61. Addicott, F.T. and Lyon, J.L., "Physiology of Absisic Acid and Related Substances", *Ann.Rev. Plant Physiol.*, 20, 139-164 (1969).
62. Topçuoğlu, S.F., "Tuz Stresi Koşulunda Büyütülen Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkisinde Yaşa Bağlı Olarak Absisik Asit (ABA) Seviyelerinin Değişimi", Doktora tezi, H.Ü. Fen Fak., Ankara (1987).
63. Stewart, C.R., "The Mechanism of Absisic Acid Induced Proline Accumulation in Barley", *Plant Physiol.*, 66, 230-233 (1980).
64. Hasson, E. and Poljakoff-Mayber, A., "Changes in Osmolarity and Solute content of Pea Plants Exposed to Salinity and Absisic Acid", *Aust.J.Plant Physiol.*, 10, 573-583 (1983).
65. Duncan, D.R. and Widholm, J.M., "Proline Accumulation and its Implication in Cold Tolerance of Regenareble Maize Callus", *Plant Physiol.*, 83, 703-708 (1987).

66. Rajagopal, V. and Andersen, A.S., "Does Absisic Acid Influence Proline Accumulation in Stressed Leaves ?", *Planta*, 143, 85-88 (1978).
67. Stewart, C.R. and Voetberg, G., "Relationship Between Stress Induced ABA and Proline Accumulations and ABA-induced Proline Accumulation in Excised Barley Leaves", *Plant Physiol.*, 79, 24-27 (1985).
68. Aspinall, D., Paleg, L.G., "Proline Accumulation: Physiological Aspects. In LG Paleg, D Aspinall eds. *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*", Academic Press. Sydney, p 205, (1981).
69. Wample, R.L. and Bewley, J.D., "Proline Accumulation in Flooded and Wilted Sunflower and the Effects of Benzyl-adenin and Absisic Acid", *Can.J.Bot.*, 53, 2893-2896 (1975).
70. Hoagland, D.R., Arnon, D.I., "The Water Culture Method for Growing Plants Without soil", *Circ. Calif. Agr. Exp. Sta.*, 347, 461, (1938).
71. Bates, L.S., "Rapid determination of Free Proline for Water-stress Studies", *Plant and Soil* 39, 205-207 (1973).
72. Kutsal, A., Muluk, Z.F., "Uygulamalı Temel İstatistik", H.Ü. Yayınları, Ankara (1978).
73. Winer, B.J., "Statistical Principles in Experimental Design", Second edition, McGraw-Hill, Inc. U.S.A (1971).
74. Hicks, C.R., "Deney Düzenlemede İstatistiksel Yöntemler", (Çev; F.Ş. Muluk, O. Toktamış., S, Kurt., E. Karaağaoğlu), Akademi Matbaası, Ankara (1973).
75. Tıpırdamaz, R., "Tuz ve Su Stresinin Buğday (*Triticum aestivum* L.) Bitkisinin Türkiye'de Yetiştirilen İki Çeşidinde Oransal Su Kapsamı İle Organik (prolin betain) ve İnorganik Madde (Na^+ , K^+ , Cl^-) Değişimine Etkisi", Doktora tezi, H.Ü. Fen Fak., Ankara (1989).

76. Voetberg, G., Stewart, C.R., "Steady State Proline Levels in Salt-Shoceked Barley Leaves", *Plant Physiol.*, 76, 567-570 (1984).
77. Torello, W.A., Rice, L.A., "Effects of NaCl stress on Proline and Cation Accumulation in Salt Sensitive and Tolerant Turfgrasses", *Plant and Soil*, 93, 241-247 (1986).
78. Stewart, C.R., Voetberg, G. and Rayapati, P.J., "The Effecets of Benzyladenine, Cycloheximide and Cordycepin on Wilting-Induced Absisic Acid and Proline Accumulations and Absisic Acid and Salt-Induced Proline Accumulation in Barley Leaves", *Plant Physiol.*, 82, 703-707 (1986).

ÖZGEÇMİŞ

09.02.1966 tarihinde Malatya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Malatya'da tamamladı. 1984 yılında İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girmeye hak kazandı. 1988 yılında Biyoloji lisansı ile Biyolog olarak mezun oldu. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Biyoloji Anabilim Dalında 1990 yılında yüksek lisansa başladı. Subat 1991'de İnönü Üniversitesi'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Evli, bir çocuk annesi.