



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 34 (2019)
ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)
doi:10.7161/omuanajas.556100

Dışsal sentetik inositol türevi (Allo-İnositol) uygulamasının *Capsicum chinense* bitkisinin tuz (NaCl) toleransı üzerine etkisi

Gizem Özkoku^a, Sertan Çevik^{b*}, Serpil Ünyayar^a

^aMersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Mersin

^bMersin Üniversitesi, Mut Meslek Yüksekokulu, Mersin

* Sorumlu yazar / Corresponding author: srtncvk@gmail.com,

Geliş/Received 19/04/2019 Kabul/Accepted 31/07/2019

ÖZET

Bu çalışmada tuz stresine maruz bırakılan *Capsicum chinense* (biber) bitkisinde, dışsal olarak yapraklardan uygulanan sentetik siklitol türevi allo-inositol'un tuz tolerans mekanizmasında oynadığı rollerin fizyolojik ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda tuz stresine maruz bırakılan bitkiler (150 µM NaCl) gerek kontrol bitkileri gerekse siklitol uygulanmış stres gruplarıyla kıyaslanarak; yaprak su potansiyelleri, antioksidan enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyonları (MDA), hidrojen peroksit (H₂O₂), prolin ve kalsiyum miktarları belirlenmiştir. Bulgularımıza göre stres gruplarında allo-inositol uygulaması yaprak su potansiyelini, prolin miktarını, kalsiyum içeriğini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırırken, MDA ve H₂O₂ içeriğini ise azaltmıştır. Bu sonuçlara göre; dışsal olarak uygulanan sentetik allo-inositol'un biber bitkisinde tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifletebildiği söylenebilir.

Anahtar Sözcükler:
Allo-inositol
Biber
Tuz stresi

The effect of exogenous application of Synthetic inositol derivative (Allo-Inositol) on salt tolerance of *Capsicum chinense*

ABSTRACT

In this study, it is aimed to investigate the role of synthetic cyclitol derivative allo-inositol on salt tolerance mechanism in the *Capsicum chinense* (pepper) which is exposed to salt stress by physiological and biochemical methods. Plants that exposed to salt stress (150 µM NaCl) compared to both control plants and cyclitol applied stress groups; leaf water potentials, antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂), proline and calcium levels were determined. According to our findings, application of allo-inositol in stressed groups increased leaf water potential, proline amount, calcium content, and antioxidant enzyme activities while decreasing MDA and H₂O₂ content. According to these results; it can be said that the synthetic allo-inositol which exogenously applied to pepper plant may alleviate the negative effects of salt stress.

Keywords:
Allo-inositol
Pepper
Salt stress

© OMU ANAJAS 2019

1. Giriş

Anavatanı Güney Amerika olan biber (*Capsicum spp.*) ekonomik değeri olan önemli bir bitkidir (Yemiş ve ark., 2004). Biber, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü verilerine göre; dünyada en çok yetiştirilen yedinci sebze türüdür (FAO, 2016) ve 4.3 milyar dolarlık ihracat payına sahiptir. Türkiye önemli biber üretici ülkelerden birisidir ve üretim oranlarına göre dünyada üçüncü sıradadır (Çizelge 1).

Bitkiler yaşamları boyunca çeşitli çevresel stres faktörlerine maruz kalmaktadırlar. Ciddi ürün kayıplarına neden olan bu çevresel stresler abiyotik ve biyotik stres etmenleri olarak iki büyük gruba ayrılırlar (Boyer, 1982). Etkilediği alanlar bakımından en önemli abiyotik stres etmenlerinden birisi tuz stresidir. Tuz stresi, kurak ve yarı kurak alanlarda bitki gelişimini ciddi derecede sınırlandırmaktadır (Lopez ve ark., 2011; Eisa ve ark., 2012). Toprak tuzluluğu; yetersiz yağışlar, yüksek oranda buharlaşma, doğal tuz kayaları, tuzlu

Bu çalışma, "Dışarıdan Uygulanan Sentetik İnositol Türevinin (Allo-İnositol) *Capsicum Chinense* (Acı Biber)'nin Tuz Toleransı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi" başlıklı yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir.

sulama suları ve yetersiz drenaj gibi sebeplerden kaynaklanabilmektedir (Solmaz ve ark., 2011). Bunun yanında aşırı gübreleme gibi etmenler detoprakta tuz birikimine neden olarak bitkileri olumsuz etkileyebilmektedir (Özkorkmaz ve Yılmaz, 2017).

Çizelge 1. Dünyada en çok biber üretimi yapan ilk 10 ülke

Sıra	Ülke	Üretim Miktarı (Ton/Yıl)
1	Çin	17.821.238
2	Meksika	3.296.875
3	Türkiye	2.608.172
4	Endonezya	2.359.441
5	İspanya	1.277.908
6	Amerika	962.679
7	Nijerya	748.559
8	Mısır	623.220
9	Cezayir	614.922
10	Tunus	429.000

Tuz stresine maruz kalan bitkilerde hücrelerinin ozmotik potansiyeli azalır (Penella ve ark., 2016), bu durum stomaların kapanmasına (Yu ve Assman, 2016) dolayısıyla hücre içi karbondioksit konsantrasyonunun azalmasına, radikal miktarının ise artmasına (Gonzalez ve ark., 2002) neden olarak fotosentez aktivitesi başta olmak üzere birçok mekanizmayı olumsuz yönde etkileyerek verimin düşmesine neden olur (Sreenivasulu, 2000). Bitkiler ise meydana gelebilecek bu olumsuz etkileri en aza indirebilmek adına çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir.

Tuz stresi altındaki bitkilerde radikal miktarlarında ciddi artışlar olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (ZhongQun ve ark., 2007; Jalali-Emam ve ark., 2011). Makro moleküllere ve hücre komponentlerine düzensiz bir şekilde bağlanarak hasarlara yol açan bu radikaller bitkilerde bulunan antioksidan savunma sistemi sayesinde zararsızlaştırılırlar (Çevik ve ark., 2019a).

Stres altında antioksidan savunma sisteminde yer alan unsurların miktarları ya da aktivitelerinde meydana gelen artışlar genellikle bitkilerin strese toleransı ile korelasyon içerisindedir (Çevik ve Ünyayar, 2015). Bu nedenle streslerle başa çıkabilmek adına gen mühendisliği çalışanları bu proteinlerin ekspresyonlarını arttırarak bitkileri daha toleranslı hale getirmeye çalışmaktadırlar (Parmar ve ark., 2017).

Tuz stresinin diğer bir önemli etkisi hücre içi su potansiyelini düşürmesidir. Bu durumda bitkiler hücre içinde ozmolit biriktirerek su potansiyelini korumaya çalışırlar (Çevik ve ark., 2014). Çalışmamıza konu olan siklitollerin ozmotik düzenlemenin yanında sinyal iletimi, hücre duvarı oluşumu ve antioksidan aktivitenin düzenlenmesi gibi birçok önemli mekanizmada rol oynadığı düşünülmektedir (Bielecki, 1994; Merchant ve ark., 2006).

Bu çalışmada sentetik olarak üretilen bir siklitol türevi olan *allo*-inositolün tuz stresi altındaki bitkilerin strese karşı geliştirdiği tolerans mekanizmasında

oynadığı rollerin fizyolojik ve biyokimyasal metotlar ile araştırılması hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki yetiştirme koşulları

Çalışmada bitki materyali olarak Mersin-Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'nden alınan *C. chinense* tohumları kullanılmıştır. Tohumlar ilk olarak % 1'lik HCl çözeltisinde birkaç dakika bekletilmiş ve bol su ile yıkanarak sterilize edilmiştir. Daha sonra sürekli olarak havalandırılan su içinde bir gün bekletilerek şişirilmiş ve 1.8 kg toprak (torf, gübre, kum 3:1:1) bulunan saksılara aktararak 26/22°C (gün/gece) sıcaklık, % 65 ± 5 oransal nem ve 480 µmol foton m² sn⁻¹ (gün/gece 14s/10s) koşullarında iklim odasında yetiştirilmiştir. Çalışmada 28 gün boyunca büyütülen bitkilerin yarısı 10 gün süreyle topraklar kurudukça 150 µM tuz solüsyonu ile sulanarak stres grubu, diğer yarısı ise şebeke suyu ile sulanarak kontrol grubu oluşturulmuştur. Tuz stresinin başladığı günden itibaren 3 gün boyunca kontrol ve stres gruplarının yarısının yapraklarına yapraklar tamamen ıslanana kadar 30 µM *allo*-inositol, diğer yarısına ise distile su püskürtülerek uygulanmıştır. Onuncu günün sonunda bitkiler hızlı bir şekilde analiz edilerek sıvı azotta dondurulmuş ve analiz gününe kadar -70°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

2.2. Yaprak su potansiyeli (YSP, Ψ_{Yaprak}) ölçümleri

Hasat edilen taze bitki örneklerinin yaprak su potansiyeli (YSP, Ψ_Y) Pressure Chamber (Model 1000, PMS) cihazı ile MPa cinsinden ölçülerek kaydedilmiştir (n=10).

2.3. Antioksidan enzim aktivitelerinin ölçümü

2.3.1. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD, EC.1.15.1.1.)

Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (KAT) ve Glutasyon redüktaz (GR) enzimleri aktivite ölçümleri için aynı ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Buna göre 1 gr yaprak dokusu 5 mL fosfat tamponu (pH:7, 0.1 mM EDTA ve 100 mg PVP içerir) ile homojenize edilerek santrifüj (16.000 g, 5 dk, +4 °C) işlemine tabii tutulmuş ve süpernatant enzim aktivite ölçümleri için kullanılmıştır.

SOD aktivitesi için cam bir tüp içerisine fosfat tamponu (2.4 mL), sodyum karbonat (1 mL), L-methionin 200 µL, nitro blue tetrazolium (NBT, 200 µL), enzim (150 µL) ve ribofilavin (150 µL) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Örnekler 25 °C de 10 dakika boyunca ışık altında tutularak renginin değişmesi beklenmiştir. Spesifik enzim aktivitesi U/mg protein olarak belirlenmiştir. Bir birim (U) SOD aktivitesi 560 nm'de spektrofotometrede ölçülen NBT'nin % 50

inhibisyonuna neden olan enzim miktarı olarak belirlenmiştir (Beyer ve Fridovich, 1987).

2.3.2. Katalaz (KAT, EC.1.11.1.6.) enzim aktivitesi

Katalaz aktivitesi için 2.8 mL potasyum fosfat tamponu (pH:7 EDTA içermez), 80 µL H₂O₂ (0.5 M) ve 120 µL enzim ekstraktı karıştırılarak reaksiyon başlatılmıştır. Katalaz aktivitesi 240 nm'de 30 saniye içindeki absorbansın düşmesi ile tayin edilmiş ve sonuçlar H₂O₂ dk⁻¹mg⁻¹ protein olarak hesaplanmıştır (Aebi, 1974).

2.3.3. Glutasyon redüktaz (GR, EC.1.6.4.2.) enzim aktivitesi

Glutasyon redüktaz aktivitesi için fosfat tamponu (1.5 mL), NADPH₂ (150 µM), okside glutasyon (GSSG) (150 µL), H₂O (1 mL) ve 200 µL ekstrakt karıştırılarak reaksiyon başlatılmıştır. 340 nm'de 1 dk boyunca absorbanstaki azalmalar ölçülerek kaydedilmiş ve sonuçlar 1 dakikada oksitlenen NADPH₂'nin µmol dk⁻¹mg⁻¹ protein değeri olarak hesaplanmıştır (Calberg ve Mannervik, 1985).

2.3.4. Askorbat peroksidaz (AP, EC.1.11.1.11) enzim aktivitesi

Askorbat peroksidaz analizi için, 150 mg yaprak dokusu alınarak, 200 mM (pH:7.8) HEPES, 2 mM EDTA, 5mM MgCl₂, ve 4 mM sodyum askorbat içeren 1.5mL ekstraksiyon ortamında homojenize edilmiştir. Saf ekstrakt 4°C'de, 5 dk, 16.000 g'de santrifüj edilerek süpernatant ölçümler için kullanılmıştır. Reaksiyon 50 mM NaH₂PO₄ (pH:7), askorbat (500 µM), H₂O₂ (1 mM) ve ekstrakt karıştırılarak başlatılmış ve 290 nm'de absorbansta meydana gelen azalma kaydedilmiştir. AP spesifik aktivitesinin (nmol dk⁻¹mg⁻¹ protein) hesaplanmasında askorbat için 2.8 µM⁻¹cm⁻¹ tükenme katsayısı kullanılmıştır (Bonnet ve ark., 2000).

2.4. Çözünür protein miktarının ölçülmesi

Çözünür protein miktarı Bradford metoduna göre çalışma solüsyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bovin serum albümin standart eğri oluşturmak için kullanılmış, örnekler 595 nm'de elisa cihazında okunarak kaydedilmiştir (Bradford, 1976).

2.5. Hidrojen peroksit (H₂O₂) seviyesinin belirlenmesi

Hidrojen peroksit seviyesi Velikova ve ark. (2000) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Buna göre 500 mg yaprak dokusu 5 mL, % 2 (v:v) TCA ile buz banyosunda homojenize edildikten sonra homojenat 12.000'de santrifüj edilmiş ve süpernatant ölçüm için kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler BioxytechH₂O₂-560test kiti (OXIS International, Inc. USA) protokolüne göre gerçekleştirilmiştir.

2.6. Lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu Ohkawa ve ark. (1979) göre, malondialdehit (MDA) içeriğinin ölçülmesiyle belirlenmiştir. Bunun için; 1 mL (% 5) trikloroasetik asit (TCA) solüsyonunda 0.2g yaprak dokusu homojenize edilmiştir. Homojenat 16.000 g'de 15 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Süpernatant, thiobarbiturik asit (TBA, % 0.5) ve TCA (% 20) solüsyonlarından eşit hacimlerde alınarak tüplere eklenmiştir. Tüpler 96°C'de 25 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra tüpler buz banyosuna konularak reaksiyon sonlandırılmış ve 12.000 g'de, 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanın absorbansı 532 nm'de ve 600 nm'de spektrofotometrede (Analıtyicjena - Specord 210 Plus) ölçüldü. TCA solüsyonu (% 20) içinde TBA (% 0.5) kör olarak kullanılmıştır. MDA içeriği, 155 mM⁻¹cm⁻¹ tükenme katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

2.7. Kalsiyum (Ca⁺²) içeriğinin belirlenmesi

Kalsiyum analizi için 1 g yaprak örneği fırınında 110 °C sıcaklıkta kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler 3:1 oranında nitrik asit/perklorik asit çözeltisinde 200°C sıcaklıkta ekstrakte edilerek 50 mL ultra saf su ile seyreltilmiştir. Elde edilen son solüsyon İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS, Agilent 7500) ile analiz edilmiştir. Cihazın analiz koşulları: RF gücü: 1500 W, örnek derinliği: 8.8 mm, plazma gaz akışı: 15 L dk⁻¹, taşıyıcı gaz akışı: 0.9 L dk⁻¹, aux gaz akışı: 1L dk⁻¹, sıcaklık 2°C olarak ayarlanmıştır. Analiz sırasında saflaştırma işlemleri için argon gazı (% 99.998) kullanılmıştır (Zarcinas ve ark., 1987).

2.8. Prolin içeriğinin belirlenmesi

Prolin içeriğinin belirlenebilmesi için, 0.5 g yaprak dokusu 10mL % 3'lük sülfosalisilik asitte homojenize edilmiştir. Ekstraktlar filtre kâğıdı ile filtre edildikten sonra 2mL filtrat, ninhidrin (2mL) ve glasiyal asetik asit (2mL) ile karıştırılarak 100°C'de 1saat bekletilmiştir. Reaksiyon buz içine konularak sonlandırılmıştır. Karışım 4 mL soğuk toluen ile ekstrakte edilmiştir. Toluene fazı 520 nm'de spektrofotometrede analiz edilmiş ve sonuçlar 1g yapraktaki µmol prolin cinsinden hesaplanmıştır (Bates ve ark., 1973).

2.9. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 11.5 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin normal dağılım gösterdikleri Shapiro-Wilk testi ile ortaya konulmuştur. Grupların karşılaştırılması amacıyla Student-T analiz testi kullanılmıştır.

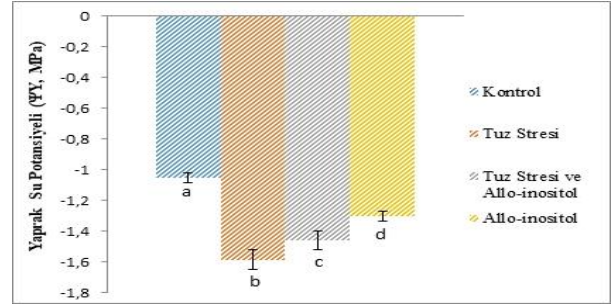
3. Bulgular ve Tartışma

Kontrol gruplarına kıyasla tuz stresi su potansiyelini belirgin ölçüde azaltmıştır (Şekil 1.) ($P<0.05$). Kontrol gruplarının su potansiyeli -1 MPa iken tuz stresi ile birlikte bu -1.6 MPa civarına düşmüştür. Benzer şekilde Penella ve ark. (2016) biberde, Çömlekçioğlu ve Arıkan (2017) *Isatis tinctoria* L. bitkisinde, Çulha (2011) ise Aspir bitkisinde tuz stresinin yaprak su potansiyelini azalttığını rapor etmişlerdir. Tuz stresine maruz kalan bitkilerin topraktan daha az su aldığı ve bu nedenle yaprak su potansiyellerinin azaldığı bir çok çalışma ile gösterilmiştir (Ashraf ve Iram, 2005; Kıran ve ark., 2014; Deveci ve Tuğrul, 2017). Çalışmada tuz stresi altındaki bitkilere allo-inositol uygulaması ise su potansiyelini arttırmıştır (Şekil 1.).

Allo-inositol uygulaması -1.6 MPa civarında olan su potansiyelini -1.4 MPa civarına yükseltmiştir. Avcı (2015) tuz stresi altındaki mısır bitkisiyle yaptığı çalışmada ozmotik düzenleyici olan mannitolü dışsal olarak uygulandığında yaprak su potansiyelinin arttığını belirlemişlerdir. Çalışmada allo-inositol uygulamasının stres koşullarında su potansiyelini yükseltmiş olması onun ozmotik düzenleyici olduğuna dair ipuçları vermektedir. Bu durum stres altındaki bitkilerin ozmotik potansiyellerinin korunması için önemli olabilir. Tuz stresi SOD, KAT, GR ve AP enzim aktivitelerinde kontrol gruplarına kıyasla artışlara neden olmuştur (Şekil 2).

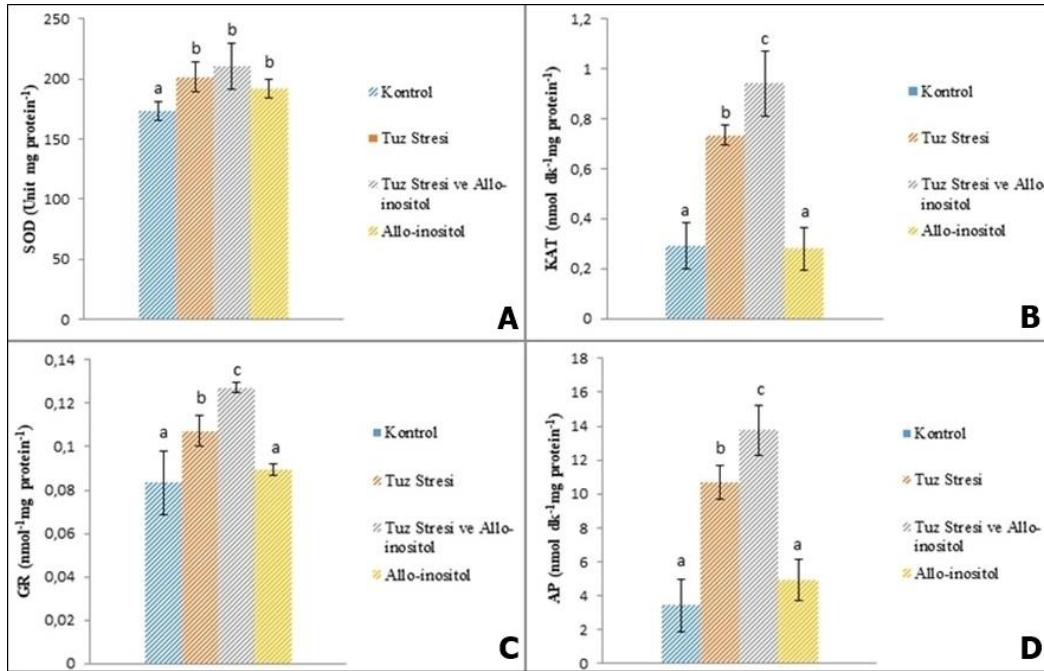
Farklı araştırmacılar tarafından çeşitli bitkilerde yapılan çalışmalarda tuz stresine maruz kalan bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerinde artışların meydana

geldiği ifade edilmiştir (Cicerali, 2004; Ahmad, 2010; Silva ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda tuz stresinin Reaktif oksijen türlerinin (ROT) miktarını arttırdığı buna bağlı olarak bitkilerde antioksidan savunma sisteminin uyarıldığını belirtmişlerdir.



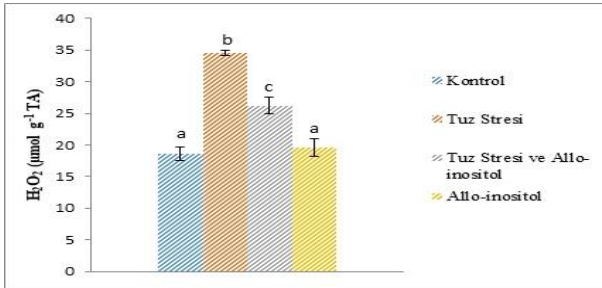
Şekil 1. Tuz stresine maruz bırakılan *C. chinense* 'nin yaprak su potansiyeli üzerine allo-inositol uygulamasının etkisi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$). Aynı harf ile gösterilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur).

Elde edilen sonuçlara göre hidrojen peroksit seviyesi tuz stresi ile birlikte istatistiksel olarak anlamlı oranda artmıştır (Şekil 3). Oksijen toksisitesi aerobik yaşamın doğasında olan bir özelliktir. Bitkiler tarafından üretilen oksijenin yaklaşık olarak % 1'i çeşitli hücre organellerinde ROT'a dönüştürülmektedir (Moran ve ark., 1994; Bartoli ve ark., 1999).

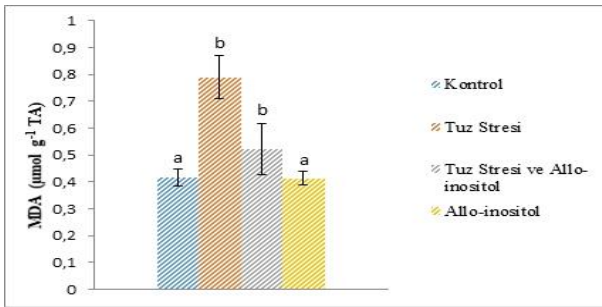


Şekil 2. Tuz stresine maruz bırakılan *C. chinense* yapraklarındaki antioksidan enzim aktiviteleri (A-SOD, B-KAT, C-GR, D-AP) üzerine allo-inositol uygulamasının etkisi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P<0.05$). Aynı harf ile gösterilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur).

Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar ROT'un tümüyle zararlı olmadığını ancak yüksek seviyelere ulaştığı durumlarda hücrel oksidatif hasarlara yol açtığını göstermektedir (Sies, 2017; Çevik ve ark., 2019b). Reaktif oksijen türlerinin detoksifiye edilerek ortadan kaldırılması biyomoleküllerin oksidatif hasardan korunması için gereklidir. Çünkü ROT lipid peroksidasyonuna, proteinlerin parçalanmasına ve nükleik asit hasarına neden olmaktadır (Ünyayar ve ark., 2005; Fazeli ve ark., 2007). ROT'un neden olduğu hasarı azaltmak yada önlemek için bitkiler; enzimatik ve enzimatik olmayan bileşiklerden oluşan bir antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir (Foyer ve ark., 1994). Bu çalışmada allo-inositol uygulamasıyla birlikte stres gruplarında enzim aktivitelerinde meydana gelen artışlar (Şekil 2) stresle başa çıkabilmek adına bitkiye büyük avantaj sağlayarak, oluşması muhtemel oksidatif hasarları en aza indirmiştir. Meydana gelen artışa paralel olarak hidrojen peroksit seviyesinde meydana gelen azalma bu duruma güzel bir kanıt olarak sunulabilir (Şekil 3). Tuz stresi *C. chinense* bitkisinde malondialdehit (MDA) miktarını artırırken (yaklaşık 2 kat), allo-inositol uygulaması MDA miktarında belirgin bir düşüşe (yaklaşık olarak % 30) neden olmuştur (Şekil 4).

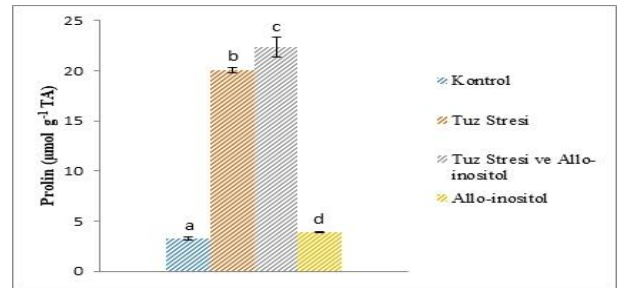


Şekil 3. Tuz stresine maruz bırakılan *C. chinense* yapraklarının H₂O₂ içeriği üzerine allo-inositol uygulamasının etkisi. (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05). Aynı harf ile gösterilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur).



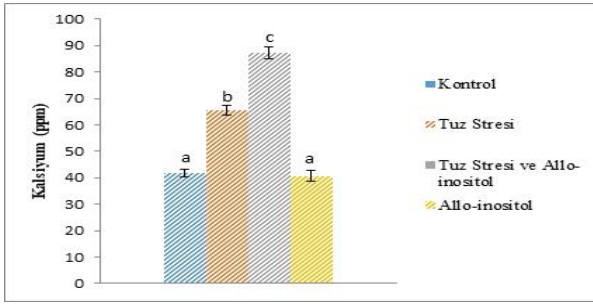
Şekil 4. Tuz stresine maruz bırakılan *C. chinense* yapraklarının MDA içeriği üzerine allo-inositol uygulamasının etkisi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05). Aynı harf ile gösterilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur).

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü ve iyi bir oksidatif hasar belirteçidir (Kaya ve İnan, 2017). Hücre içi radikal miktarının yükselmesi ile lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Yapılan birçok çalışmada tuz stresiyile birlikte MDA miktarının arttığı belirtilmiştir (Çelik ve Atak, 2012; Baran ve Doğan, 2014; Abdelgawad ve ark., 2016). Bu çalışmada allo-inositol uygulaması ile MDA miktarının azalması, uygulama ile birlikte antioksidan enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen artışlarla açıklanabilir. Bu durum özellikle hücre membranlarının oksidasyondan korunması için oldukça önemlidir. Tuz stresi prolin miktarında belirgin bir artışa (yaklaşık 5 kat) neden olmuştur. Tuz stresi uygulanan bitkilerin yapraklarına allo-inositol uygulaması prolin miktarını arttırmıştır (kontrol gruplarına kıyasla yaklaşık 6 kat) (Şekil 5).



Şekil 5. Tuz stresine maruz bırakılan *C. chinense* yapraklarının prolin içeriği üzerine allo-inositol uygulamasının etkisi (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05). Aynı harf ile gösterilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur).

Prolin miktarının birçok çevresel streste arttığı farklı çalışmalarda ortaya konulmuştur (Szabados ve Savoure., 2010; Çevik ve ark., 2019a). Literatürde prolinin en iyi bilinen özelliği iyi bir ozmotik koruyucu olduğudur. Özellikle tuz ve kuraklık stresi gibi koşullarda prolin miktarında dramatik artışların olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Ünyayar ve ark., 2004; Mafakheri ve ark., 2010). Ozmotik koruyucu olmasının yanısıra son yıllarda prolinin radikal oluşumunu azalttığı (Szabados ve Savoure., 2010) ve antioksidan özellik gösterdiği de bildirilmiştir (Lhout ve ark., 2001; Vendruscolo ve ark., 2007). Tüm bu özellikleri stres koşullarında prolinin artışının tuz toleransına maruz kalan bitkiler için çok önemli olduğunun göstergesidir. Allo-inositol uygulamasının prolin biyosentezini nasıl arttırdığı ile ilgili ise daha detaylı çalışmalar yapılması gerekmektedir. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde kalsiyum seviyelerinde de belirgin bir artış (yaklaşık olarak % 60) olmuştur. Tuz stresi sırasında allo-inositol uygulanan bitkilerdeki kalsiyum miktarı uygulama yapılmayanlara göre belirgin bir şekilde artış (yaklaşık olarak % 30) göstermiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Tuz stresine maruz bırakılan *C. chinense* yapraklarının kalsiyum içeriği üzerine allo-inositol uygulamasının etkisi. (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($P < 0.05$). Aynı harf ile gösterilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur).

Alpaslan ve ark. (1998) buğday ve çeltik bitkilerinde tuz stresi ile birlikte kalsiyum içeriklerinin de yükseldiğini belirlemiştir. Meydana gelen bu artış ise tuzlu koşullarda bitkilerin sodyum alımına paralel olarak kalsiyum alımıyla açıklanmıştır. Türkmen ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada tuz stresindeki bitkilerde kalsiyum miktarının yükselmesinin tuz toleransını arttırdığını vurgulamışlardır. Bu durum allo-inositol uygulamasıyla tuz toleransının artabileceği ile ilgili önemli bir ipucu vermektedir. Ancak, allo-inositolün hücre içi kalsiyum alımına yaptığı etkinin mekanizması önemli bir araştırma konusu olarak görülmektedir.

4. Sonuç ve Öneriler

Tuz stresi bitkilerde ciddi verim kayıplarına neden olan önemli bir abiyotik streştir. Tuz stresinin meydana getirdiği olumsuz etkilerin azaltılması çabaları içerisinde dışsal uygulanan bileşiklerin kullanılması stresle başa çıkabilmek adına önemli faydalar sağlamaktadır. Yapılan çalışmadan elde edilen bulgulara göre sentetik olarak elde edilen allo-inositolün iyi bir ozmotik düzenleyici olduğu, antioksidan savunma sistemini uyarak antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ve buna bağlı olarak radikal miktarını ve lipid peroksidasyonunu azaltarak oksidatif hasarı azalttığı söylenebilir. Ayrıca stres koşulları altında çoklu görevleri olan prolin miktarını ve yine stres toleransında önemli rolleri olduğu bilinen kalsiyum miktarını arttırması diğer önemli bulgular olarak görülmektedir. Tüm bu bulgulardan yola çıkarak allo-inositolün özellikle stres koşullarında bitkilerde meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin detaylı çalışmalar ile araştırılması literatüre önemli katkılar sağlayacaktır. Bununla birlikte elde edilen veriler siklitolün tarımsal amaçlı kullanım potansiyeline yönelik özgün ve önemli katkılar sağlamıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Mersin Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından BAP-FBE BB (GK) 2013-2

YL numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmada kullanılan allo-inositolü sentezleyen Prof. Dr. Mehmet Serdar GÜLTEKİN (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü)'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abdelgawad, H., Zinta, G., Hegab, M.M., Pandey, R., Asard, H., Abuelsoud, W., 2016. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science*, 7: 276.
- Aebi, H. 1974. Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Eds.) *Methods of enzymatic analysis*, Verlag Chemie/Academic Press Inc., New York, pp. 673-680.
- Ahmad, P., 2010. Growth and antioxidant responses in mustard (*Brassica napus* L.) plants subjected to combined effect of gibberellic acid and salinity. *Archives Agronomy and Soil Science*, 56: 575-588.
- Alpaslan, M., Gunes, A., Taban, S., Erda, I., Tarakcioglu, C., 1998. Variations in calcium, phosphorous, iron, copper, zinc, and manganese contents of wheat and rice varieties under salt stress, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22: 227-233.
- Ashraf, M., Iram, A., 2005. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 200 (6): 535-546.
- Avcı, M.A., 2015. Tuzlu koşullarda yetiştirilen mısır bitkisine diüre ve buğday bitkisine mannitol uygulamasının bitki fizyolojisine ve beslenmesine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Baran, A., Doğan, M., 2014. Tuz stresi uygulanan soyada (*Glycine max* L.) salisilik asidin fizyolojik etkisi. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Science*, 18(1): 78-84.
- Bartoli, C.G., Simontacchi, M., Tambussi, E., Beltrano, J., Montaldi, E., Puntarulo, S., 1999. Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. *Journal of Experimental Botany*, 50: 375-383.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39 (1): 205-207.
- Beyer, W.F., Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161: 559-566.
- Bielecki, R.L., 1994. Pinitol is a major carbohydrate in leaves of some coastal plants indigenous to New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 32 (1): 73-78.
- Bonnet, M., Camares, O., Veisserie, P., 2000. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and

- antioxidant enzyme activities of ryegrass. Journal Experimental Botany, 51: 945-953.
- Boyer, J.S., 1982. Plant productivity and environment. Science, 218: 443-8.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein, utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Calberg, I., Mannervik, B., 1985. Glutathione Reductase: In Methods in Enzymology. Academic Press, 113: 484-490.
- Cicerali, I.N., 2004. Effect of salt stress on antioxidant defense systems of sensitive and resistant cultivars of lentil (*Lens culinaris* M.). Doktora Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çelik, Ö., Atak, Ç., 2012. The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline. Turkish Journal of Biology, 36: 339-356.
- Çevik, S., Akpınar, G., Yıldızlı, A., Kasap, M., Karaosmanoğlu, K., Ünyayar, S., 2019a. Comparative physiological and leaf proteome analysis between drought-tolerant chickpea *Cicer reticulatum* and drought-sensitive chickpea *C. arietinum*. Journal of Bioscience, 44(20): 1-13.
- Çevik, S., Güzel Değer, A., Yıldızlı, A., Gök, A., Ünyayar, S., 2019b. Proteomic and physiological analyses of dl-cyclopentane-1,2,3-triol-treated barley under drought stress. Plant Molecular Biology Reporter, 37(3): 237-251.
- Çevik, S., Ünyayar, S., 2015. The effects of exogenous application of ascorbate and glutathione on antioxidant system in cultivated *Cicer arietinum* and wild type *C. reticulatum* under drought stress. SDU Journal of Natural and Applied Sciences, 19: 1-13.
- Çevik, S., Yıldızlı, A., Yandım, G., Göksu, H., Gultekin, M.S., Değer, A.G., Celik, A., Kuş, N.Ş., Ünyayar, S., 2014. Some synthetic cyclitol derivatives alleviate the effect of water deficit in cultivated and wild-type chickpea species. Journal of Plant Physiology, 171 (10): 807-816.
- Çömlekçioğlu, N., Arıkan, S., 2017. Fizyolojik stres ve eksojen poliaminlerin *Isatis tinctoria* L. yapraklarındaki indigo miktarı ve fide gelişimi üzerine etkisi. Mediterranean Agricultural Sciences, 30 (3): 261-267.
- Çulha, Ş., 2011. Tuz stresinin aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerindeki bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Deveci, M., Tuğrul, B., 2017. Ispanakta tuz stresinin yaprak fizyolojik özelliklerine etkisi. Akademik Ziraat Dergisi, 6: 89-98.
- Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N., Koyro H.W., 2012. Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) as a potential cash crop halophyte. Australian Journal of Crop Science, 6 (2): 357-368.
- Fazeli, F., Ghorbanlı, M., Niknam, V., 2007. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. Biologia Plantarum, 51: 98-103.
- FAO, 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim tarihi: 06.10.2016).
- Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J., 1994. Photooxidative stress in plants. Physiologia Plantarum, 92 (4): 696-717.
- Gonzalez, K., Erdei L., Lips, H., 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Science, 162 (6): 923-930.
- Jalali-Emam, S.M.S., Alizadeh, B., Zaefizadeh, M., Zakarya, R.A., Khayatnezhad, M., 2011. Superoxide dismutase (SOD) activity in NaCl stress in salt-sensitive and salt-tolerance genotypes of Colza (*Brassica napus* L.). Middle-East Journal of Scientific Research, 7 (1): 7-11.
- Kaya, A., İnan, M., 2017. Tuz (NaCl) stresine maruz kalan reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinde bazı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine salisilik asidin etkileri. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21 (3): 332-342.
- Kıran, S., Özkay, F., Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., 2014. Tuz stresine tolerans seviyesi farklı domates genotiplerinin kuraklık stresi koşullarında bazı özelliklerinde meydana gelen değişimler. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31(3): 41-48.
- Lhout, F.A., Zunzunegui, M., Barradas, M.C.D., Tirado, R., Clavijo, A., Novo, F.G., 2001. Comparison of proline accumulation in two mediterranean shrubs subjected to natural and experimental water deficit. Plant and Soil, 230: 175-183.
- Lopez, H., Marco, A., Ulery, A.P., Zohrab, S., Picchioni, G., Flynn, R.P., 2011. Response of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) to salt stress and organic and inorganic nitrogen sources: I Growth and yield. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 14 (1): 137-147.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C., Sohrabi, Y., 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. Australian Journal of Crop Science, 4 (8): 580-585.
- Merchant, A., Tausz, M., Arndt, S.K., Adams, M.A., 2006. Cyclitols and carbohydrates in leaves and roots of 13 Eucalyptus species suggest contrasting physiological responses to water deficit. Plant, Cell & Environment, 29 (11): 2017-2029.
- Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V., Aparicio-Tejo, P., 1994. Drought induces oxidative stress in pea plants. Planta, 194: 346-352.

- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95: 351- 358.
- Özkorkmaz, F., Yılmaz, N., 2017. Farklı tuz konsantrasyonlarının fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ve börülcede (*Vigna unguiculata* L.) çimlenme üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7 (2): 196-200.
- Parmar, N., Singh, K. H., Sharma, D., Singh, L., Kumar, P., Nanjundan, J., Khan, Y. J., Chauhan, D. K., Thakur, A.K., 2017. Genetic engineering strategies for biotic and abiotic stress tolerance and quality enhancement in horticultural crops: A comprehensive review. *3 Biotech*, 7 (4): 239-246.
- Penella, C., Landi, M., Guidi L., Nebauer, S.G., Pellegrini, E., San Bautista, A., Remorini, D., Nali, C., Lopez-Galarza S., Calatayud, A., 2016. Salt-tolerant rootstock increases yield of pepper under salinity through maintenance of photosynthetic performance and sinks strength. *Journal of Plant Physiology*, 193: 1-11.
- Sies, H., 2017. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. *Redox Biology*, 11: 613–619.
- Silva, J.R., Chaves, T.P., da Silva, A.R., Barbosa, L.D.F., Costa, J.F., Ramos-Sobrinho, R., Teixeira, R.R., Silva, S.J., Lima, G.S., Assunção, I.P., 2017. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum spp.* associated with anthracnose on *Capsicum spp.* in northeastern Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 42 (4): 315-319.
- Solmaz, I., Sarı, N., Dasgan Y., Aktaş, H., Yetişir, H., Ünlü, H., 2011. The effect of salinity on stomata and leaf characteristics of dihaploid melon lines and their hybrids. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9 (3-4): 172-176.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U., Weschke, W., 2000. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedling of fox-tail millet (*Setaria italica*). *Physiologia Plantarum*, 109 (4): 435-442.
- Szabados, L., Savoure, A., 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*. 15(2): 89-97.
- Türkmen, Ö., Şensoy, S., Erdal, İ., Kabay, T., (2002). Kalsiyum uygulamalarının tuzlu fide yetiştirme ortamlarında domateste çıkış ve fide gelişimi üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (2): 53-57.
- Ünyayar, S., Keleş, Y., Çekiç, F.Ö., 2005. The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations. *Plant Soil Environment*, 51: 57-64.
- Ünyayar, S., Keleş, Y., Ünal, E., 2004. Proline and ABA levels in two sunflower genotypes subjected to water stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30 (3-4): 34-47.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants, protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151: 59–66.
- Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marure, C.J., Vieira, L.G.E., 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology*, 164: 1367-1376.
- Yemiş O, Bakkalbaşı E, Artık, N., (2004). Kapsaisinolit kaynağı olarak kırmızıbiberler. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 18: 30-37.
- Yu, Y., Assmann, S.M., 2016. The effect of NaCl on stomatal opening in *Arabidopsis* wild type and agb1 heterotrimeric G-protein mutant plants. *Plant Signaling & Behavior*, 11: e1085275.
- Zarcinas, B.A., Cartwright, B., Spouncer, L.R., 1987. Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 18 (1): 131-146.
- ZhongQun, H., ChaoXin H., ZhiBin Z., ZhiRong Z., HuaiSong W., 2007. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59: 128–133.