

## Azot Uygulamasının Tuz Stresi ve Antioksidan Enzim Aktivitesine Etkisi

Mahmut DOĞAN\*

Harran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Osmanbey Kampüsü / ŞANLIURFA  
Alınış Tarihi: 19.07.2012, Kabul Tarihi: 10.11.2012

**Özet:** Bu çalışmada iki hassas (TR-47882, TR-47815), iki toleranslı (TR-68516, TR-55711) ve bir yabani (PI-899-01) olmak üzere toplam 5 domates genotipine 150 mM NaCl tuz stresi uygulanmıştır. Daha sonra zamana bağlı olarak farklı konsantrasyonda yapraktan azot (%0.5 ve %1) uygulanmıştır. Uygulama sonucunda hassas ve toleranslı genotiplerin tuz stresinden farklı oranlarda etkilendiği tespit edilmiştir. Antioksidan enzim aktivitelerinden süperoksit dismutaz (SOD: EC 1.15.1.1), glutatyon redüktaz (GR: EC 1.6.4.2), askorbat peroksidaz (APX: EC 1.11.1.11), katalaz (CAT: EC 1.11.1.6), MDA ve klorofil miktarları ölçülmüştür. Enzim aktiviteleri toleranslı genotiplerde artmış, hassas genotiplerde azalmıştır. MDA ve klorofil sonuçları da enzim aktivitelerini pozitif yönde desteklemiştir. Analiz sonuçlarına göre azot uygulamasına bağlı olarak toleranslı genotipler tuz stresinden etkilenmediği halde, hassas genotipler tuz stresinden yüksek oranda etkilenmiştir. Bu sonuçlara göre azot uygulaması yaparken, %1.0'lik dozun tuz stresinden korunmada kritik bir rol oynadığı ve toleransı artırıcı bir etki yaptığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** azot, tuz stresi, domates, antioksidan enzimler

## The Affect of Nitrogen Application on Salt Stress and Antioxidant Enzyme Activities

**Abstract:** In this study, 150 mM NaCl salt stress was applied to five tomato genotypes that are two sensitive (TR-47882, TR-47815), two tolerant (TR-68-516, TR-55711) and one wild (PI-899-01) one. Then, depending on time, different concentrations of nitrogen (0.5% and 1%) were applied to leaves. According to the results of the application, it was determined that the sensitive and tolerant genotypes were affected by the salt stress on different levels. Of the antioxidant enzyme activities, superoxide dismutase (SOD: EC 1.15.1.1), glutathione reductase (GR: EC 1.6.4.2), ascorbate peroxidase (APX: EC 1.11.1.11) and catalase (CAT: EC 1.11.1.6) and the amount of MDA and chlorophyll were measured. enzyme activities in the tolerant genotypes increased while they decreased in the sensitive ones. The MDA and chlorophyll values also supported the enzyme activities positively. As a result of the nitrogen application, according to the results of analyses, tolerant genotypes were not affected by the salt stress while sensitive ones were affected to a great extent. Based on these results, it was concluded that dose of 1.0% nitrogen application plays a critical role in protection against salt stress and has the effect of increasing tolerance.

**Key words:** nitrogen, salt stress, tomato, antioxidant enzymes

### Giriş

Bitki büyümesini engelleyen her faktör stres olarak tanımlanmaktadır (Shannon, 1999). Dünyanın birçok yerinde kuraklık, tuzluluk, aşırı sulama, yüksek ve düşük sıcaklık, pH ve ağır metallerin neden olduğu stresler yaygın olarak görülmektedir (Levitt, 1980; Ashraf 1994). Bu stresler özellikle gelişmekte olan ülkeler için sosyal ve ekonomik problemlere neden olmaktadır (Levitt, 1980, Gorham vd., 1985a). Dünya üzerinde tarım alanlarının % 26'lık kısmı kuraklık stresi, % 20'lik kısmı tuz stresi etkisi altında olduğu halde, sadece % 10'luk kısım herhangi bir çevresel stres etkisi altında değildir (Blum, 1985; Ashraf ve Haris, 2004). Sosyal ve ekonomik yapısı ne olursa olsun beslenme açısından tarımın her ülke için önemli bir yeri vardır (Noble ve Rogers, 1992). Çoğunlukla hücresel düzeyde oksidatif bir hasar olarak ortaya çıkan tuz stresi, kurak ve yarı kurak bölgelerde verimi etkileyen önemli bir faktördür (Gorham vd., 1985b; Mittova vd., 2002).

Tuza karşı gösterilen tepki bakımından bitki türleri ve çeşitleri, hatta organları arasında fizyolojik ve metabolik değişimler açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır (Belkhdja vd., 1994; Ashraf, 2002; Parida ve Das, 2005). Genotipe bağlı olarak farklı şiddetlerde ortaya çıkan tuzdan etkilenme derecesi o genotipin tuz stresi altında geliştirdiği metabolik değişimlere, yani; fizyolojik ve biyokimyasal tepkilere bağlıdır (Shannon ve Grieve, 1999; Ashraf, 2002). Bitkiler stresle karşı karşıya gelince, serbest amino asitleri, iyonları ve çözünebilir maddeleri biriktirerek osmotik potansiyellerini düşürürler (Weimberg, 1986; Ashraf, 1994; Shannon, 1987). Tuz stresi ile karşılaştıklarında ise toprak çözeltisinden çeşitli iyonları alarak ya da bazı organik bileşikleri sentezleyerek osmotik uyum sağlamaktadırlar (Salama vd., 1994). Birçok araştırıcı osmotik uyum ile tuz toleransı arasında bir ilişkinin olduğunu ileri sürmektedir (Greenway ve Munns, 1980; Yeo, 1983, Weimberg, 1987). Ashraf (2004)'ın yaptığı çalışmada tuzlu çevrelerde yetişen tuza dayanıklı çeşitlerin gövdelerinde hassas çeşitlere göre daha az iyon biriktirdiği bildirilmektedir. Bitkilerin yaprak dokusunun oransal su kapsamı ölçülerek de strese karşı toleransları belirlenebilmektedir (Greenway ve Munns, 1980; Shalaby vd., 1993; Ashraf, 2002).

\* doğan@harran.edu.tr

Ghoulam vd. (2002)' na göre, azot içerikli bir bileşik olan prolin, stres koşullarında artış göstermekte ve toksik (serbest) O<sub>2</sub> radikallerinin detoksifikasyonuna katılmaktadır. Benzer şekilde, poliaminler de azot uygulamasına bağlı olarak bitki dokularında artmakta (Mittova, ve Guy, 2002) ve stres koşullarında oluşan toksik O<sub>2</sub> radikallerinin detoksifikasyonunda rol aldığı bildirilmektedir (Munne-Bosch ve Penuelas, 2003; Demiral vd., 2009). Toksik O<sub>2</sub> radikalleri bitkilerde fotosentez sırasında yoğun olarak kloroplastlarda sentezlenmektedir (Chattopadhyay vd., 2002). Fotosentez sürecinde absorbe edilen ışık enerjisi ve açığa çıkan elektronlar herhangi bir stres sonucu (örneğin tuz stresi) CO<sub>2</sub> indirgenmesinde kullanılmayınca, kloroplastlarda birikmekte ve O<sub>2</sub>' nin aktivasyonuna neden olmaktadır (Chen, 1989). Moleküler O<sub>2</sub>'in aktivasyonu toksik etkinlikleri çok yüksek olan O<sub>2</sub> radikal ve türevleri oluşmaktadır (Asada, 1992; Çakmak, 1994; Abebe, vd., 2003). Toksik O<sub>2</sub> türevleri proteinlere, membran lipitlerine, DNA'ya ve diğer hücrel komponentlere zarar vermektedir (Du vd., 2001). Söz konusu toksik O<sub>2</sub> radikallerinin stres koşullarında sentezlenmesi, özellikle ortamdaki ışık intensitesinin fazla olmasıyla daha da artmakta ve bitkilerde klorofil ve membran tahribatı şeklinde görülen fotooksidatif (ışığa bağlı) hasar olarak ortaya çıkmaktadır (Hernandez ve Almansa, 2002).

Bu amaçla bitkilere azot uygulanarak tuz stresine karşı tolerans artırıcı pek çok araştırma yapılmıştır (Esendal vd., 2000; Mert vd., 2003; Coşkun ve Öktem, 2003; Kaçar vd., 2004; Sezal vd., 2007). Azotlu gübre kullanılan biber meyve örneklerinde iyon miktarlarının etkilendiği, özellikle magnezyum ve fosfor oranlarının önemli oranda arttığı rapor edilmiştir (Çimrin vd., 2000). Farklı oranlarda arıtma çamuru uygulanmış topraklarda organik azotun 16g/kg oranının en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir (Kocaer vd., 2003). Sezal vd., (2007), buğdayda uygulanan N miktarının düşük olması halinde metrekaredeki kardeş sayısının azaldığını, bunun sonucunda sapa kalkma döneminde uygulanan azottan yeterince sonuç alınmadığını belirlemişlerdir. Uygulanan azot miktarının artması genellikle tahıllarda tane sayısını artırırken, tane ağırlığını azaltmaktadır (Rasmussen ve Douglas, 1992). Scabba vd., (1998), değişik dozlarda azot uygulamasının 3 patates çeşidinde en yüksek yumru verimi, kuru madde, nişasta, protein oranı ve beslenme değerinin 18 kg N/da'lık azot uygulamasından elde edildiğini açıklamıştır. Bitki sıklığı ve azot dozlarının merit şeker mısırsı çeşidinde koçan boyu, koçan çapı, tane sayısı, tane ağırlık verimine etkileri önemli bulunmuştur (Turgut, 2000). Başka bir çalışmada farklı azot dozu ve sıra mesafesi üzerine artan azot doz uygulaması sonucunda toplam yumru veriminde önemli artışlar elde edilmiştir (Tunçtürk vd., 2004).

Bazı nohut çeşitlerinde değişik azot dozlarının tane sayısını artırırken, tane veriminde azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Kaçar vd., 2004). Değişik azot dozlarının

doğal *Datura (Datura stramonium L.)* bitkisinde azotlu gübre artışıyla orantılı olarak tohum verimini artırdığı tespit edilmiştir (Esendal vd., 2000). Bazı ekmeclik buğday çeşitlerinde farklı azot dozlarının bitki boyu, başak uzunluğu, başakçık sayısı, başakta tane sayısı ve başakta tane ağırlığı yönünden istatistik olarak önemli farklar elde edildiği rapor edilmiştir (Mert vd., 2003). Yine başka bir çalışmada azot dozunun artışı ile incelenen tüm özelliklerin önemli etkide bulunduğu, uygulama zamanının verim ve kalitede etkin rol oynadığı rapor edilmiştir (Wong, 1985; Coşkun ve Öktem, 2003). Çilek çeşitleri üzerinde yapılan bir çalışmada selva çeşidi için en uygun azot dozunun 20 kg/da, chveler çeşidi için ise 30 kg/da olduğu belirlenmiştir (Yılmaz vd., 1999). Stres şartlarında beklenmedik şekilde değişiklik üreticiye ve ülke ekonomisine büyük kayıplar vermektedir (Nizam, 2009). Bu tür bir zararın tamamen önüne geçmek pratikte zor görünen bir durumdur. Ancak, bu kayıpların minimum seviyeye indirilmesinde kontrollü bir azot uygulamasının kritik bir değere sahip olduğu, ağaçlar (Ribas-Carbo vd., 2005) üzerinde yapılan çalışmayla ortaya konmuştur. Ayrıca yapraktan yapılan azot uygulamasının çiçeklenmeyi teşvik ederek verimi artırdığı bildirilmiştir (Edwards, 1986; Lowatt vd., 1988; Öncel ve Keleş, 2002; Bybordı ve Ebrahimian, 2011; Simaei vd., 2011).

Yukarıda detaylarıyla vermeye çalıştığımız azotla ilgili çalışmalar sonucunda, ekonomik değeri olan domates çeşitleri üzerinde yapılacak çalışmanın ilginç sonuçlar elde edileceği fikrini vermiştir. Bu amaçla tuz stresi ile azot dozları arasındaki ilişki planlanıp araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

Denemede iki hassas (TR-47882, TR-47815), iki toleranslı (TR-68516, TR-55711) ve bir yabani (PI-899-01) olmak üzere toplam 5 domates genotipine ait tohumlar kullanılmıştır. Denemeler su kültüründe kontrollü iklim odasında yürütülmüştür (Çizelge 1). Dayanıklı ve hassas genotipler daha önce yaptığımız çalışmada (Doğan, 2010a) 29 farklı genotip arasından seçilmiştir. Bitkiler, kontrollü şartlarda gündüz (16 saat, 13500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddeti, sıcaklık  $25 \pm 2$  °C, nem  $65 \pm 5$  ) gece (8 saat,  $16 \pm 2$  °C, nem  $65 \pm 5$ ) düzeyine ayarlanmış bitki yetiştirme odasında Hoagland (Hoagland ve Arnon, 1950) besin çözeltisi kullanılarak yetiştirilmiştir. Su kültüründe yetişen 14 günlük fidelere 150 mM NaCl tuz stresi (Bozcuk, 1991) a göre, azot % 0.5 ve % 1.0 (ağırlık/hacim) oranlarında 5'er gün arayla 4 kez yapraktan uygulanmıştır. Yapraktan üre uygulamaları (düşük biüretli üre: HAILEAE 46-0-0, Sheffer transtürk Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.) Embleton ve Jones 1974' in bildirdiği dozlar referans alınmıştır. Çalışmalarda uygulama sayısı, uygulama dönemi, stres süresi ve stres şiddeti De Hayes vd., (1989)'un yaptıkları çalışmalar baz alınmıştır. Böylece (kontrol, % 0.5 azot, % 1.0 azot, stres+% 0.5 azot, stres+% 1.0 azot) 6 farklı gruptan oluşan bir deneme planlanmıştır. Çimlenme aşaması, fide ve su kültürü aşaması olmak üzere toplam 34 günlük fideler hasat edilerek aşağıdaki analizler yapılmıştır.

**Çizelge 1. Denemede kullanılan domates genotipleri**

Genotip adı	Tür adı	Kökene
TR-68516	<i>L. Esculentum</i>	Türkiye (Toleranslı)
TR-55711	<i>L. Esculentum</i>	Türkiye (Toleranslı)
PI-899-01	<i>L. Peruvianum</i>	Yabancı (Yabancı Toleranslı)
TR-47882	<i>L. Esculentum</i>	Türkiye (Hassas)
TR-47815	<i>L. Esculentum</i>	Türkiye (Hassas)

**Enzim aktivitelerinin belirlenmesi ve ekstraktların hazırlanması:**

Kontrol ve tuz stresi ile tuz stresi artı azot uygulanmış bitkilerin ilk üç yapraklarından ekstraktlar hazırlanmıştır. Buna göre yaklaşık, 0,5 gram taze yaprak örneği sıvı azotta ezilmiş ve içinde 0,1 mM Na-EDTA bulunan 50 mM'lık (pH 7,6) fosfat (P) tampon çözeltisi ile (10 ml) homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler 15 dk süre ile 15000 g ve +4 °C de santrifüj edildikten sonra, elde edilen süpernatantta enzim aktiviteleri yine Çakmak (1994)'ın yöntemlerine göre belirlenmiştir.

**Katalaz (CAT) aktivitesi:** Spektrofotometrede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin 240 nm'de (E=39,4 mM cm<sup>-1</sup>) parçalanma oranı esas alınarak ölçülmüştür. Buna göre, son hacim 1 ml olan reaksiyon ortamını 0,1 mM EDTA içeren 25 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,6), 0,1 ml 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstraktı oluşturmaktadır. Yukarıda hazırlanışı açıklanan ekstrakta 10'ar saniye ara ile 1 dakika süredeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dekompozisyonu spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunmuş ve CAT enzim aktivitesi µmol/min/g T.A. olarak hesaplanmıştır.

**Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi:** 290 nm'de (E=2,8 mM cm<sup>-1</sup>) askorbatın oksidasyon hızı ölçülerek saptanmıştır. Buna göre, son hacmi 1 ml olan reaksiyon ortamına 0,1 mM EDTA içeren 50 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,6), 0,1 ml 10 mM EDTA içeren 12 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0,1 ml 0,25 mM L(+) askorbik asit ve enzim ekstraktı ilave edilerek askorbat oksidasyonu 20 saniye ara ile 1 dakika süredeki askorbat oksidasyonu spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunmuş ve AP aktivitesi µmol/min/g T.A. olarak hesaplanmıştır.

**Glutatyon redüktaz (GR) enzim Aktivitesi:** 340 nm'de (E=6,2 mM cm<sup>-1</sup>) NADPH' nin oksidasyonu esas alınarak ölçülmüştür. Buna göre, son hacim 1 ml olan reaksiyon ortamına 0,1 mM EDTA içeren 50 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,6), 0,1 ml 0,5 mM okside glutatyon, 0,1 ml 0,12 mM NADPH ve enzim ekstraktı ilave edilerek NADPH oksidasyonu 340 nm'de 20 saniye ara ile 1 dakika süredeki askorbat oksidasyonu spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunmuş ve GR aktivitesi µmol/min/g T.A. olarak hesaplanmıştır.

**Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi:** Nitro blue tetrazolium kloridin (NBT) ışık altında O<sub>2</sub><sup>-</sup> tarafından indirgenmesi yöntemine göre ölçülmüştür. Bu yöntemle göre son hacim 5 ml olacak şekilde cam şişeler içinde oluşturulan reaksiyon ortamına önce 0,1 mM Na-EDTA

içeren 50 mM'lık (pH 7,6) fosfat tamponundan konulduktan sonra üzerine sırasıyla enzim ekstraktı (25-100 µl), 0,5 ml 50 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (pH 10,2), 0,5 ml 12 mM L-methionine, 0,5 ml 75 µM p-NBT ve 0,5 ml 10 µM riboflavin eklenmiştir. NBT'in O<sub>2</sub><sup>-</sup> tarafından indirgenmesi ise örneklerin 24 °C ve 400 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık intensitesi altında 10-15 dk tutulması ile sağlanmıştır. 1 dakika süredeki askorbat oksidasyonu spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunmuş ve SOD aktivitesi µmol/min/g T.A. olarak hesaplanmıştır. SOD aktivitesi U/g T.A. olarak hesaplanmıştır. Bir SOD aktivite ünitesi, (U) 560 nm'de ölçülen NBT'un indirgenme oranının %50'sinin engellenmesi için gereken enzim miktarı olarak ifade edilmiştir.

**Klorofillerin belirlenmesi:** Bitki yaprak örneklerinde klorofil belirlenmesi Luna vd., (2000) göre; bitki yapraklarından bilinen miktarda alınan taze örnekler % 80'lik 10 ml etanol içine konmuş ve su banyosunda 80 °C'de 20 dakika bekletildikten sonra 654 nm'de absorbans (A) değerleri spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunarak µg/mg T.A. olarak hesaplanmıştır.

**Malondialdehid (MDA) İçeriğinin Belirlenmesi:** MDA miktarı Lutts vd. (2004)'nın yöntemi esas alınarak belirlenmiştir. Bu yöntemle göre -80 °C de donmuş olan örneklerden 200 mg yaş yaprak örneği alınmış, bunun üzerine 5 ml % 0,1 'lik Trichloro Aceticacid (TCA) ilave edilmiş ve bu karışım 12500 rpm devir hızında 20 dakika süreyle santrifüj edilecektir. 5 ml'lik ekstraktan 3 ml süpernatant alınarak, üzerine % 20 Thiobarbituric Acid (TBA) bulunan % 0,1'lik 3 ml TCA ilave edilmiştir. 95 °C' deki sıcak su banyosunda 30 dakika bekletilen karışımın, 532 ve 600 nm'de absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunmuştur. Kör olarak, içinde % 20 TBA bulunan % 0,1'lik TCA kullanılmıştır. Yaprak dokularındaki MDA miktarı, µmol/g T.A. olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen ortalama değerler varyans analizine tabi tutulmuştur. Uygulamalar arası farklılıkların ve interaksiyonların önemliliğinin belirlenmesinde 0,05 ve 0,01 olasılık düzeyinde F testinden faydalanılmıştır. Gruplandırılarda Asgari Önemli Farklılık (A.Ö.F.- 0,05) testi kullanılmıştır. En uygun zaman ve azot dozu regresyon analizine göre belirlenmiştir. Hesaplamalar Turan (1986)'ın belirttiği yöntemlere göre yapılmıştır.

## Bulgular

Bu çalışmada iki hassas (TR-47882, TR-47815), iki toleranslı (TR-68516, TR-55711) ve bir yabancı (PI-899-01) olmak üzere 5 domates genotipine tuz stresi uygulanmıştır. Tuz stresinden sonra azot uygulamasına bağlı olarak enzim aktivitesi ile MDA ve klorofil analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi toleranslı olarak bilinen genotiplerin (TR-68516, TR-55711) kontrolünde (1124±8, 1156±5 ve 1345±4 Ünite/g T.A.) bulunurken, %1,0 azot uygulandığında (1304±3, 1221±3 ve 1436±5 Ünite/g T.A.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (1621±3, 1672±3 ve 1733±5 Ünite/g T.A.) bulunmuş olup, stres+%1,0

uygulandığında (1456±3, 1879±3 ve 1689±4 Ünite/g T.A.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2). Hassas olarak bilinen genotiplerin (TR-47882, TR-47815) kontrolünde (1158±2 ve 1144±2 Ünite/g T.A.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (1397±3 ve 1246±2 Ünite/g T.A.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (1384±5 ve 1291±3 Ünite/g T.A.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (1386±2 ve 1245±4 Ünite/g T.A.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2).

Glutatiyon redüktaz (GR) aktivitesi toleranslı olarak bilinen (TR-68516, TR-55711) genotiplerin kontrolünde (48.5±9, 51.8±8 ve 45.7±6 µmol/g T.A.dak.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (53.9±2, 56.9±7 ve 54.8±5 µmol/g T.A.dak.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (66.3±7, 73.7±8 ve 78.3±6 µmol/g T.A.dak.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (81.5±8, 88.9±7 ve 81.8±4 µmol/g T.A.dak.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2). Hassas olarak bilinen genotiplerin (TR-47882, TR-47815) kontrolünde (49.7±8 ve 50.4±5 µmol/g T.A.dak.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (45.8±4 ve 57.8±5 µmol/g T.A.dak.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (47.8±5 ve 63.4±5 µmol/g T.A.dak.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (49.2±8 ve 59.8±6 µmol/g T.A.dak.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2).

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi toleranslı olarak

bilinen genotiplerin (TR-68516, TR-55711) kontrolünde (6.8±2, 4.6±1 ve 4.4±1 µmol/g T.A.dak.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (6.8±3, 6.8±1 ve 6.7±2 µmol/g T.A.dak.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (6.1±2, 6.6±2 ve 6.7±3 µmol/g T.A.dak.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (6.9±2, 6.5±3 ve 6.5±1 µmol/g T.A.dak.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2). Hassas olarak bilinen genotiplerin (TR-47882, TR-47815) kontrolünde (4.5±2 ve 4.5±2 µmol/g T.A.dak.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (3.4±2 ve 3.6±2 µmol/g T.A.dak.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (3.2±1 ve 3.6±3 µmol/g T.A.dak.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (3.4±2 ve 2.8±3 µmol/g T.A.dak.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2).

Katalaz (CAT) aktivitesi toleranslı olarak bilinen genotiplerin (TR-68516, TR-55711) kontrolünde (6.2±3, 6.1±1 ve 6.7±2 µmol/g T.A.dak.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (6.4±5, 6.1±2 ve 6.8±5 µmol/g T.A.dak.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (6.8±6, 6.2±3 ve 6.9±4 µmol/g T.A.dak.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (5.4±4, 6.7±1 ve 6.1±3 µmol/g T.A.dak.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2). Hassas olarak bilinen genotiplerin (TR-47882, TR-47815) kontrolünde (6.2±3 ve 6.6±3 µmol/g T.A.dak.) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (6.1±1 ve 6.9±1 µmol/g T.A.dak.) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (3.2±3 ve 3.4±3 µmol/g T.A.dak.) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (2.8±2 ve 2.8±4 µmol/g T.A.dak.) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 2).

**Çizelge 2.** Farklı azot uygulaması (%0.5 ve %1.0) ve tuz stresi (150 mM NaCl) altında yetiştirilen domates genotiplerinde Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatiyon redüktaz (GR), Askorbat peroksidaz (APX) ve Katalaz (CAT) aktivitesi (Değerler üç tekrarın ortalaması ± standart hata olarak verilmiştir).

Genotip	SOD (Ünite/g T.A)					
Uygulama	kontrol	%0.5 azot	%1.0 azot	stres	stres+%0.5	stres+%1.0
TR-68516	1124±8	1213±8	1304±3	1621±3	1478±2	1456±3
TR-47815	1158±2	1408±4	1397±3	1384±5	1387±2	1386±2
TR-55711	1156±5	1288±9	1221±3	1672±3	1657±4	1879±3
PI-899-01	1345±4	1422±6	1436±5	1733±5	1765±3	1689±5
TR-47882	1144±2	1214±4	1246±2	1291±3	1345±3	1245±4
GR (µmol/g T.A Dak.)						
Uygulama	kontrol	%0.5 azot	%1.0 azot	stres	stres+%0.5	stres+%1.0
TR-68516	48.5±9	51.1±3	53.9±2	66.3±7	52.7±3	81.5±8
TR-47815	49.7±8	43.2±5	45.8±4	47.8±5	44.8±8	49.2±8
TR-55711	51.8±8	55.5±6	56.9±7	73.7±8	85.7±4	88.9±7
PI-899-01	48.7±6	51.7±5	54.8±5	78.3±6	78.7±8	81.8±4
TR-47882	50.4±5	56.4±6	57.8±5	63.4±5	49.4±8	59.8±6
APX(µmol/g T.A Dak.)						
Uygulama	kontrol	%0.5 azot	%1.0 azot	stres	stres+%0.5	stres+%1.0
TR-68516	6.8±2	5.8±2	6.8±3	6.1±2	6.2±3	6.9±2
TR-47815	4.5±2	3.9±2	3.4±2	3.2±1	3.8±1	3.4±2
TR-55711	4.6±1	5.7±3	6.8±1	6.6±2	6.6±2	6.5±3
PI-899-01	4.4±1	5.8±1	6.7±2	6.7±3	6.7±1	6.5±1
TR-47882	4.5±2	4.2±1	3.6±2	3.6±3	3.5±2	2.8±3

CAT ( $\mu\text{mol/g T.A Dak.}$ )						
Uygulama	kontrol	%0.5 azot	% 1.0 azot	stres	stres+%0.5	stres+% 1.0
TR-68516	6.2 $\pm$ 3	6.4 $\pm$ 8	6.4 $\pm$ 5	6.8 $\pm$ 6	5.8 $\pm$ 6	5.4 $\pm$ 4
TR-47815	6.7 $\pm$ 2	6.3 $\pm$ 3	6.1 $\pm$ 1	3.2 $\pm$ 3	2.9 $\pm$ 4	2.8 $\pm$ 2
TR-55711	6.1 $\pm$ 1	6.8 $\pm$ 1	6.1 $\pm$ 2	6.2 $\pm$ 3	6.9 $\pm$ 2	6.7 $\pm$ 1
PI-899-01	6.7 $\pm$ 2	6.4 $\pm$ 4	6.8 $\pm$ 5	6.9 $\pm$ 4	6.1 $\pm$ 2	6.1 $\pm$ 3
TR-47882	6.6 $\pm$ 3	6.3 $\pm$ 2	6.9 $\pm$ 1	3.4 $\pm$ 3	3.2 $\pm$ 1	2.8 $\pm$ 4

SOD (genotip P= 0.024, stres P= 0.034), GR (genotip P=0.022, stres P= 0.044), APX (genotip P= 0.014, stres P= 0.014), CAT (genotip P=0.024, stres P= 0.014)

**Klorofil miktarı:** toleranslı olarak bilinen genotiplerin (TR-68516, TR-55711) kontrolünde (4.8 $\pm$ 2, 4.8 $\pm$ 8 ve 4.7 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (7.5 $\pm$ 3, 7.5 $\pm$ 5 ve 7.8 $\pm$ 3  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (4.6 $\pm$ 4, 4.3 $\pm$ 3 ve 4.7 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (6.9 $\pm$ 5, 7.4 $\pm$ 3 ve 7.2 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ )

oranlarında bulunmuştur (Çizelge 3). Hassas olarak bilinen (TR-47882, TR-47815), genotiplerin kontrolünde (4.6 $\pm$ 4 ve 4.9 $\pm$ 6  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (6.8 $\pm$ 4 ve 6.2 $\pm$ 6  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (3.7 $\pm$ 3 ve 3.3 $\pm$ 3  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (4.4 $\pm$ 4 ve 4.1 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 3).

**Çizelge 3.** Farklı azot uygulaması (%0.5 ve %1.0) ve tuz stresi (150 mM NaCl) altında yetiştirilen domates genotiplerinde toplam klorofil miktarı. (Değerler üç tekrarın ortalaması  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir)

Genotip		Toplam Klorofil $\mu\text{g/g T.A}$				
Uygulama	kontrol	%0.5 azot	% 1.0 azot	stres	stres+0.5	stres +1.0
TR-68516	32.2 $\pm$ 2	44.2 $\pm$ 6	58.2 $\pm$ 3	27.5 $\pm$ 2	36.5 $\pm$ 3	35.2 $\pm$ 8
TR-47815	44.3 $\pm$ 5	47.2 $\pm$ 6	51.1 $\pm$ 8	24.4 $\pm$ 2	24.0 $\pm$ 5	21.8 $\pm$ 4
TR-55711	33.5 $\pm$ 8	38.4 $\pm$ 6	54.2 $\pm$ 5	20.8 $\pm$ 8	24.5 $\pm$ 2	24.5 $\pm$ 5
PI-899-01	56.4 $\pm$ 5	65.2 $\pm$ 3	69.4 $\pm$ 4	28.1 $\pm$ 5	29.4 $\pm$ 3	28.5 $\pm$ 2
TR-47882	38.5 $\pm$ 3	41.6 $\pm$ 5	44.5 $\pm$ 2	20.9 $\pm$ 6	21.1 $\pm$ 2	20.2 $\pm$ 4

Protein (genotip P= 0.033, tuz P= 0.021), Klorofil (genotip P= 0.034, tuz P= 0.022)

**MDA miktarı:** Toleranslı olarak bilinen genotiplerin (TR-68516, TR-55711) kontrolünde (35.2 $\pm$ 3, 38.4 $\pm$ 5 ve 44.4 $\pm$ 7  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (43.5 $\pm$ 4, 52.4 $\pm$ 5 ve 48.2 $\pm$ 6  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (37.5 $\pm$ 11, 4.3 $\pm$ 3 ve 4.7 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (6.9 $\pm$ 5, 7.4 $\pm$ 3 ve 7.2 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ )

oranlarında bulunmuştur (Çizelge 4). : Hassas olarak bilinen genotiplerin (TR-47882, TR-47815) kontrolünde (4.6 $\pm$ 4 ve 4.9 $\pm$ 6  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunurken, %1.0 azot uygulandığında (6.8 $\pm$ 4 ve 6.2 $\pm$ 6  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) oranlarına yükselmiştir. Stres uygulandığında (3.7 $\pm$ 3 ve 3.3 $\pm$ 3  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) bulunmuş olup stres+%1.0 uygulandığında (4.4 $\pm$ 4 ve 4.1 $\pm$ 5  $\mu\text{g/g T.A.}$ ) oranlarında bulunmuştur (Çizelge 4).

**Çizelge 4.** Farklı azot uygulaması (%0.5 ve %1.0) ve tuz stresi (150 mM NaCl) altında yetiştirilen domates genotiplerinde MDA miktarı. (Değerler üç tekrarın ortalaması  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir)

Genotip		MDA ( $\mu\text{g/g T.A}$ )				
Uygulama	kontrol	%0.5 azot	% 1.0 azot	stres	stres+%0.5	stres+% 1.0
TR-68516	45.2 $\pm$ 3	44.2 $\pm$ 7	43.5 $\pm$ 4	67.5 $\pm$ 11	59.3 $\pm$ 14	65.3 $\pm$ 12
TR-47815	43.2 $\pm$ 4	47.3 $\pm$ 3	44.2 $\pm$ 3	48.6 $\pm$ 10	23.5 $\pm$ 11	34.2 $\pm$ 13
TR-55711	48.4 $\pm$ 5	46.4 $\pm$ 4	52.4 $\pm$ 5	62.5 $\pm$ 14	58.4 $\pm$ 12	54.6 $\pm$ 12
PI-899-01	44.4 $\pm$ 7	51.2 $\pm$ 8	48.2 $\pm$ 6	66.8 $\pm$ 12	55.3 $\pm$ 11	62.2 $\pm$ 10
TR-47882	47.5 $\pm$ 5	48.2 $\pm$ 3	45.9 $\pm$ 4	33.2 $\pm$ 10	21.8 $\pm$ 10	25.6 $\pm$ 11

MDA (genotip p= 0.032), tuz P= 0.031)

## Tartışma ve Sonuç

Bir çok araştırmacı tarafından tuz stresinde söz konusu enzim oranlarının farklı şekilde etkilendiği bulunmuştur (Doğan vd., 2010a, Bybordi ve Ebrahimian, 2011, Simaei vd., 2011). Bu çalışmada da SOD, GR, APX ve CAT enzim aktiviteleri tuz stresine artış göstermiştir (Çizelge

2).

Çeltik fideleriyle yapılan çalışmada, tuz stresi sonrası SOD aktivitesinin yavaş ve kademeli olarak arttığı bulunmuştur (Oidaire vd., 2000). Lee ve Lee (2000) 'nin hıyar bitkisiyle yaptıkları çalışmada, yapraklarda SOD aktivitesinin tuz uygulamasından sonra arttığı bulunmuştur. Başka bir araştırmada tuz stresine toleranslı olan domateslerin hassas

olanlara göre daha etkin bir antioksidatif enzim sistemine sahip olduğu belirtilmiştir (Scandalios 1993; Shalata vd., 2001; Dalal ve Khanna-Chopra, 2001; Ben-Amor vd., 2006; Doğan vd., 2010b). Çalışmada yabancı (PI-899-01) ve toleranslı (TR-68516, TR-55711) iki genotipte SOD miktarının arttığı, hassas (TR-47882, TR-47815) iki genotipte ise azaldığı görülmüştür (Çizelge 2). Strese iyi adapte olmuş yabancı domates türünün (*Lycopersicon peruvianum*), kültürü yapılan modern domatese (*L. esculentum*) göre strese karşı daha dayanıklı olmasının nedeni yabancı türün aktif oksijen radikallerinin oluşumunu daha etkin şekilde engellemesiyle ilişkili bulunmuştur (Mittova vd., 2002). Süperoksit dismutazın (SOD), süperoksit radikali ( $O_2^-$ )'nin  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'ye dismutasyonunu katalizleyerek (Çakmak, 1994), süperoksit konsantrasyonunun yüksek oluşmasını sağladığı ve bu nedenle Haber-Weiss reaksiyonu üzerinden hidroksil radikal oluşumunu minimize ettiği (Elstner, 1982) bildirilmiştir. Domateslere N uygulamasından sonra oluşan olumlu gelişmeye bağlı olarak yaprak rengi ve sayısının artması, fotosentez üzerinde artırıcı etki yapmış olabileceği fikrini vermektedir. Nitekim N içeriğindeki artışa bağlı olarak yaprakların  $CO_2$  asimilasyon oranının ıspanakta (Evans ve Terashima, 1988), buğdayda (Evans, 1983) ve mısırdaki (Muchow ve Sinclair, 1997) önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Stres şartlarında hassas genotiplerde SOD miktarının azalmasının nedeni, fotosentetik olayların bloke edildiğini göstermektedir. Hassas genotiplerde strese karşı stres proteinlerin sentezlenmediği, buna bağlı olarak SOD aktivitesinin azaldığı düşünülmektedir (Doğan vd., 2010a).

GR aktivitesinin tuz stresinde farklı şekilde etkilendiğini ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, *Arabidopsis thaliana*'nın strese birlikte GR aktivitesinde artış olduğu bulunmuştur (Chattopadhyay vd., 2002). Hıyarda yapılan bir çalışmada tuz stresi uygulamasından sonra bitkilerde GR aktivitesinin dereceli olarak artış gösterdiği bildirilmiştir (Lee ve Lee, 2000). Yapılan başka çalışmalarda tuz stresine birlikte GR düzeyinin domates yapraklarında değişmediği (Walker ve McKersie, 1993), çeltikte düştüğü (Chattopadhyay vd., 2002) bildirilmiştir. N uygulamasıyla GR'daki artışa bakarak, sistemin, savunma mekanizmasını aktif hale getirdiğini söyleyebiliriz. Araştırmamızda tuz stresi koşullarında GR miktarının önemli ölçüde artmış olması, SOD'da olduğu gibi, azotun GR'in detoksifikasyon kapasitesini arttırmış olabileceğini yukarıda belirtilen çalışmalarla paralellik göstermektedir (Çizelge 2). Buna göre, SOD, GR aktivitelerinin tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte fasulyede arttığı rapor edilmiştir (Dalal ve Khanna-Chopra 2001).

APX aktivitesinin ise tuz uygulamasından sonra çeltik fidelerinde arttığı bulunmuştur (Oidaire vd., 2000). Askorbik asit için daha az spesifik olup kloroplastik olmayan ve başlıca hücre duvarlarında ve sitoplazmada lokalize olan APX (Hernandez ve Almonsa 2002),

denemede strese birlikte önemli ölçüde artmıştır (Çizelge 2). Bu çalışmada, tuz stresine dayanıklı olan çeşidin yapraklarındaki APX aktivitesinin strese hassas olan çeşitten daha yüksek olduğu saptanmıştır (Ben-Amor vd., 2006). APX aktivitesinin strese birlikte, N uygulamasına bağlı olarak önemli ölçüde artması, strese karşı toleransın N uygulamasından olumlu yönde etkilendiğini gösteren bir başka sonuç olmuştur (Çizelge 2). Mittova vd., (2004)'na göre, yüksek askorbat peroksidaz aktivitesi, lokalize olduğu, hücre duvarlarında ve/veya sitosolde yüksek düzeyde  $H_2O_2$  üretiminin olduğunu göstermiştir. Bu nedenle APX aktivitesindeki artışa bağlı olarak bu enzimin lokalize olduğu yerlerde  $H_2O_2$  düzeyinin düşük olabileceğini söyleyebiliriz. Bir başka açıklama ise şu olabilir; APX aktivitesinin strese birlikte artması, bu enzimin detoksifikasyon (indirgenme) kapasitesinin  $H_2O_2$ 'nin oksidasyon kapasitesinin altında kalmasıyla ilişkili olabilir. Tuz stresi koşullarında her iki türde N uygulamasıyla birlikte bu enzimin aktivitesinde görülen artış N'un, toksik oksijen radikallerine karşı koruyucu rol oynadığını ve hücre duvarlarının dayanıklılığına katıldığını göstermektedir.

Stresin CAT aktivitesi üzerinde engelleyici etkisi de birçok araştırmaya konu olmuştur. Tuz stresine bağlı hücre tahribatında CAT aktivitesindeki artışın belirleyici rol oynadığı vurgulanmıştır. Antioksidatif savunma sisteminde belirleyici rolü olan katalaz enzim aktivitesinin *Arabidopsis thaliana*'da ve buğdayda düştüğü (Munne-Bosch ve Penuelas 2003, Polesskaya vd., 2006), çeltik fidelerinde etkilendiği (Oidaire vd., 2000) tespit edilmiştir. Prasad (1997), Shalata vd., (2001)'na göre, mısır bitkilerinde tuz stresine karşı korunmada katalazın belirleyici bir rol oynadığı belirtilmiştir. Prasad (1997)'in çalıştığı enzimler içerisinde tuz toleransıyla en iyi ilişkiyi katalazın verdiği bulunmuştur. Yukarıda belirtilen araştırmalara paralel olarak, katalaz aktivitesi tuz stresine dayanıklı olan çeşitlerde hassas çeşitlere oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur (Çizelge 2). Dayanıklı genotiplerde %14 artma, duyarlı genotiplerde %24 düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Azot uygulaması sonucu katalaz aktivitesi özellikle dayanıklı genotiplerde, önemli ölçüde yükselmiştir. (Çizelge 2). CAT aktivitesindeki değişimlerin domates için daha belirgin olduğunu söyleyebiliriz.

Yapraktan yapılan N uygulaması, klorofil miktarında önemli sayılabilecek artışlar sağlamıştır (Çizelge 3). Azot uygulamasına bağlı olarak protein sentezinin artması ve dolayısıyla klorofil miktarının artması arasındaki ilişkiye göre, yaprak dökülmesi önemli ölçüde azalmıştır. İki farklı domates türüyle yapılan bir çalışmada, tuz stresine toleranslı olan çeşitte (*L. hirsutum*) strese birlikte toplam klorofil miktarında artış olurken, tuz stresine hassas olan türde (*L. esculentum*) ise azaldığı bildirilmiştir (Walia vd., 2005, Chattopadhyay vd., 2002; İslam vd., 2007; Sezal vd., 2007). Yabancı ve diğer iki toleranslı genotipte klorofil miktarının artması fotosentez oranının artışıyla ilişkili olduğu söylenebilir.

Azot uygulamasıyla tuz toleransının arttığını inceleyen sınırlı sayıda çalışmada genel olarak tuz stresinde MDA'nın arttığı yönündedir (Hodges vd., 1999; Chen vd., 2000; Shalata vd., 2001; Bybordi ve Ebrahimian, 2011; Simaei vd., 2011). Bu

bağlamda, mısır ve hıyarda yürütülen denemelerde tuz stresinin neden olduğu en karakteristik değişikliğin MDA'daki artış olduğu bulunmuştur (Ben-Amor vd., 2006). Kendall ve McKersie (1989) 'nin bildirdiğine göre, stres koşullarında üretilen aktif O<sub>2</sub> radikalleri membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve bu durum da membranların hasarıyla sonuçlanmaktadır. Azot uygulamasına bağlı olmaksızın denemede ki domates yapraklarında ortalama MDA değerlerinin kontrollerden yüksek olması domateslerin çevresel stres faktörlerinden daha fazla etkilenebileceği ve serbest radikal oluşumunun daha yüksek olabileceği sonucunu ortaya çıkartmaktadır. Kontrol bitkilerine göre hassas genotiplerde, tuz stresine bağlı olarak MDA da meydana gelen artış, N uygulamasıyla özellikle yabancı ve iki toleranslı genotipte önemli ölçüde azalmıştır (Çizelge 3). Dayanıklı sayılan genotip dokularında MDA miktarında görülen azalma, azotun bir ya da daha fazla mekanizmayla membranların dayanıklılığına katkıda bulunduğuna işaret etmektedir. Ayrıca azot uygulamasıyla tuz toleransının arttığı birçok araştırmacı tarafından da ortaya konmuştur (Caporn vd., 1994; Arslan

vd., 1997; Yılmaz vd., 1999; Hamzaoğlu ve Aksoy 2006). Tuz stresi altında yetiştirilen bitkilere % 1.0 azot uygulandığında enzim aktiviteleri genel olarak artmıştır. Birçok araştırmada CAT aktivitesinin stres şartlarında düştüğü rapor edilmiştir. Oysa bizim çalışmamızda CAT aktivitesinin artmış olması dikkat çeken kısım olarak tespit edilmiştir. Özellikle %1.0 azot uygulamasıyla enzim aktivitelerinde meydana gelen artış, bitkilerin strese karşı korunmada, önemli rolü olduğu izlenimini vermektedir. Şüphesiz sadece antioksidant enzimlerin uyarıcı etkisi stres toleransının göstergesi olamaz. Fakat MDA ve klorofil parametrelerinin pozitif yönde antioksidant aktivitelerini desteklemesi, azotun domates fidelerinde strese karşı tolerans artırıcı etki yapmış olduğu fikrini güçlendirmektedir. Buna göre uygulama yaparken %1.0 dozun seçilmesi, 10' ar gün arayla en az 2 defa uygulama yapılmasını önerebiliriz. Sonuç olarak tuz stresi şartlarında azot uygulanması tolerans artırıcı etki yapmıştır.

## Kaynaklar

- Abebe, T., Guenzi A.C., Martin B., Cushman J.C. 2003. Tolerance of Mannitol-accumulating Transgenic Wheat to Water Stress and Salinity. *Plant Physiology*, 133, 1748-1755.
- Arslan, B.Ö., Dede, Ş., Tüfenkçi, A.İ., İlbaş, A.İ. 1997. Azotlu Gübre Uygulanan Patates (*Solanum tuberosum* L.) Bitkisinin Bazı Besin Maddeleri İçeriğinin Belirlenmesi. *Türkiye 2. Tarla Bitkileri Sempozyumu*, 283- 287.
- Ashraf, M. 1994. Breeding for Salinity Tolerance in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 131, 17-42.
- Ashraf, M. 2002. Salt Tolerance of Cotton: Some New Advances. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21, 1-30.
- Ashraf, M., Haris. P.J.C. 2004. Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants, *Plant Science*, 166, 3-16.
- Asada, K., 1992. Ascorbate Peroxidase a Hydrogen Peroxide-Scavenging Enzyme in Plants. *Physiologia Plantarum*, 85, 235-241.
- Belkhdja, R., Morales, F., Abadia, A., Gomez-Aparisi, J., Abadia, J. 1994. Chlorophyll Fluorescence as a Possible Tool for Salinity Tolerance Screening in Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Plant Physiology*, 104, 667-673.
- Bozcuk, S., 1991. Bazı Kültür Bitkilerinde Tuzluluğun Çimlenme Üzerine Etkisi ve tuz Toleransı Sınırlarının Saptanması, *Doğa Türk Journal of Biology*, 15(2), 144-151.
- Ben-Amor, N., Jimenez, A., Megdiche, W., Lundqvist, M., Sevilla, F., Abdelly, C. 2006. Response of Antioxidant SYStems to NaCl Stress in the Halophyte *Cakile maritima*, *Physiologia Plantarum*, 126, 446-457.
- Blum, A., 1985. Breeding Crop Varieties for Stress Environments *CRC critical reviews, Plant Sciences*, 2, 199-238.
- Bybordi, A., Ebrahimiyan, E. 2011. Effect of Salinity Stress on Activity of Enzymes Involved in nitrogen ve Phosphorous Metabolism case Study: Canola *Brassica Napus* L.). *Asian Journal of Agricultural Research*, 53, 208-214.
- Caporn, S.J.M., Risager, M., Lee, J.A. 1994. Effect of Nitrogen Supply on Frost Hardiness in (*Calluna vulgaris* L.) Hull. *New Phytologist*. 12(83), 461-468.
- Chattopadhyay, M.K., Tiwari, B.S., Chattopadhyay. G., Bose, A., Sengupta, D.N., Ghosh, B. 2002. Protect Role of Exogenous Polyamines on Salinity-Stressed Rice (*Oryza sativa*) Plants. *Physiologia Plantarum*. 11(62), 192-199.
- Chen, H.H., Li, P.H., 1989. Biochemical Changes in Tuber-Bearing Solanum Species in Relation to Frost Hardiness During Cold Acclimation. *Plant physiology*, 66, 414-421.
- Chen, W.P., Li, P.H., Chen, T.H.H., 2000. Glycinebetaine Increases Chilling Tolerance and Reduces Chilling-Induced Lipid Peroxidation in *Zea mays* L. *Plant, Cell Environ*. 23, 609-618.

- Coşkun, Y., Öktem, A. 2003. Farklı Dozlarda ve Zamanlarda Uygulanan Azotun Makarnalık Buğdayın Verim ve Verim Unsurlarına Etkisi. Harran Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi (Journal of Agriculture Faculty), 7 (3-4): 1-10.
- Çakmak, I. 1994. Activity of Ascorbate-Dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Scavenging Enzymes and Leaf Chlorosis are Enhanced in Magnesium and Potassium-Deficient Leaves, but not in Phosphorus-Deficient Leaves. Journal of Experimental Botany, 45, 1259-1266.
- Çimrin, K.M., Bozkurt, M.A., Akıncı, İ.E. 2000. Azot ve Fosforun Biberin (*Capsicum annuum* L.) Meyve ve Yaprak Besin Elementi İçeriğine Etkisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Dergisi, 3(2), 174-181.
- Dalal, M., Khanna-Chopra, R. 2001. Differential Response of Antioxidant Enzymes in Leaves of Necrotic Wheat Hybrids and Their Parents. Physiologia Plantarum, 111, 297-304.
- Demiral, M.A., Ay, M., Soral, F., Tekin, M. 2009. Azotun Bazı Kışlık Sebzelerde Bitki Gelişimine ve Nitrat Birikimine Etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(2), 3-7.
- Doğan, M., Tıprıdamaz, R., Demir, Y. 2010a. Effective Salt Criteria in Callus-Cultured Tomato Genotypes A, Journal of Bioscience Contens, 65, 613- 618.
- Doğan, M., Tıprıdamaz, R., Demir, Y. 2010b. Salt Resistance of Tomato Species Grown in Sand Culture, Plant Soil Environment, 56(11), 499-507.
- Du, X.M., Yin, W.X., Zhao, Y.X., Zhang, H. 2001. The Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Plants. Chinese Journal Biotechnology, 17 (2),121-125.
- Embleton, T.W., Jones, W.W. 1974. Foliar-Applied Nitrogen for Citrus Fertilization. Journal of Environment Quality, 3(4), 388-391.
- Edwards, G.R. 1986. Ammonia, Arginine, Polyamines and Flower Initiation in Apple. Acta Horticulturae, 179, 363-364.
- Esendal, E., Kevseroğlu, K., Aytaç, S., Özyazıcı, G., 2000. Değişik Azot Dozlarının Samsun Çevresinde Doğal Floradan Toplanan *Datura stramonium* L.) Bitkilerinin Önemli Bitkisel Özelliklerine Etkisi. Turk Journal Agriculture Forestry, 24, 333-339.
- Eltner, E.F. 1982. Oxygen activation ve oxygen toxicity. Annals Reviuw Plant Physiol., 33, 73-96.
- Evans, J.R. 1983. Nitrogen and Photosynthesis in the Flag Leaf of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Plant Physiology 72, 297-302.
- Evans, J.R., Terashima, I. 1988. Photosynthetic Characteristics of Spinach Leaves Grown With Different Nitrogen Treatments. Plant Cell Physiology, 29, 157-165.
- Hamzaoğlu, E., Aksoy, A. 2006. Sultan Sazlığı Bataklığı Halofitik Toplulukları Üzerine Fitososyolojik Bir Çalışma (İç Anadolu - Kayseri). Ekoloji, 15(60), 8-15.
- Hernandez, J.A., Almansa, M.S. 2002. Short-term Effects Salt Stres On Antioxidant Systems and Leaf Water Relations Of Pea Leaves. Physiologia Plantarum, 115, 251-257.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I. 1950. The Water Culture Method for Growing Plants without Soil. California Agricultural Experiment Station Circular, 347-461.
- Hodges, D.M., Delong, J.M., Forney, C.F., Prange, R.K., 1999. Improving the Thiobarbituric Acid-reactive-Substances Assay for Estimating Lipid Peroxidation in Plant Tissues Containing Anthocyanin and other interfering compounds. Planta, 207, 604-611.
- Islam, S., Malik, A.I., Islam, A.K.M.R., Colmer, T.D., 2007. Salt Tolerance in a *Hordeum marinum*- *Triticum aestivum* Amphiploid and its Parents, Journal of Experimental Botany, 58, 1219-1229.
- Ghoulam, C., Foursy, A., Fares, K. 2002. Effect of Salt Stres on Growth, Inorganic Ions and proline Accumulation in Relation to Osmotic Adjustment in five Sugar Beet Cultivars. Environmental and Experimental Botany, 47, 39-50.
- Gorham, J., Jones, W.R.G., McDonnell, E., 1985a. Some Mechanisms of Salt Tolerance in Crop Plants, Plant and Soil., 89, 15-40.
- Gorham, J., McDonnell, E., Wyn Jones, R.G. 1985b. Salt Tolerance in the *Triticaceae*: Growth and Solute Accumulation in Leaves of *Thinopyrum besseya rabicum*, Journal of Experimental Botany, 36, 1021-1031.
- Greenway, H., Munns, R. 1980. Mechanisms of Salt Tolerance in Non-halophytes, Annual Review Plant Physiology, 31, 149-190.
- Kendall, E.J., Mckersie, B.D. 1989. Free Radical and Freezing injury to Cell Membranes of Winter What. Physiologia Plantarum, 76, 86-94.



- Kaçar, O., Çakmak, F., Çöplü, N., Azkan, N., 2004. Bursa Koşullarında Bazı Nohut Çeşit ve Hatlarında (*Cicer arietinum* L.) Bakteri Aşılama ve Değişik Azot Dozlarının Verim ve Verim Unsurları Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(2), 123-135.
- Kocaer, F.O., Kemiksiz, A., Başkaya, H.S., 2003. Arıtma Çamuru Uygulanmış Bir Topraktaki Organik Azotun Mineralizasyonu Üzerine Bir Araştırma, Ekoloji Çevre Dergisi, 12(46), 12-16.
- Lee, D.H., Lee, C.B. 2000. Chilling Stres-induced Changes of Antioxidant Enzymes in the Leaves of Cucumber in Gel Enzyme Activity Assays. Plant Science, 159, 75-85.
- Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, Vol. II. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press. New York, 607 pp.
- Luna, C., Seffino, L.G., Arias, C., Taleisnik, E., 2000. Oxidative Stress Indicators as Selection Tools for Salt Tolerance in *Chloris gayana*, Plant Breeding, 119, 341-345.
- Lutts, S., Almansouri, M., Kinet, J.M. 2004. Salinity ve water stress have contrasting effects on the relationship between growth ve cell viability during ve after stress exposure in durum wheat callus. Plant Sci. 167, 9–18.
- Lowatt, C.J. Zheng, Y., Hake, K.D. 1988. Demonstration of a Change in Nitrogen Metabolism Influencing Flower Initiation in Citrus. Israel Journal of Botany, 37, 181-188.
- Mert, B., Çiftçi, C.Y., Atak, M., 2003. Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde Farklı Azot Dozlarının Bazı Verim Öğelerine Etkileri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 121(2), 72 – 85.
- Mitova, V., Tal, M., Volokitta, M., Guy, M. 2002. Salt Stres Induces Up-regulation of an Efficient Chloroplast Antioxidant System in the SALT-tolerant wild Tomato Species *Lycopersicon pennellii* but not in the Cultivated Species. Physiologia Plantarum, 115, 393-400.
- Mitova, V., Guy, M., Tal, M., Volokita, M. 2004. Salinity Up-regulates the Antioxidative System in Root Mitochondria and Peroxisomes of the Wild Salt-tolerant Tomato Species *Lycopersicon pennellii*. Journal of Experimental Botany, 55, 1105- 1113.
- Muchow, R.C., Sinclair, T.R. 1997. Nitrogen Response of Leaf Photosynthesis and Canopy Radiation Use Efficiency in Field-Grown Maize and Sorghum. Crop Science Society of America, 34(3), 721-727.
- Munne-Bosch, S., Penuelas, J. 2003. Photo-and Antioxidative Protection During Summer Leaf Senescence in *Pistacia lentiscus* L. Grown Under Mediterranean Field Conditions. Annals of Botany, 92, 385-391.
- Nizam, İ., 2009. Azotlu Gübrelemenin Çok yıllık Çim (*Lolium perenne* L.)'in Tohum Verimi ve Bazı Bitkisel Özelliklerine Etkisi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi. 6(2), 111-120.
- Noble, C.L., Rogers, M.E., 1992. Arguments for the Use of Physiological Criteria for Improving the Salt Tolerance in Crops. Plant Soil, 146, 99-107.
- Oidaire, H., Sano, S., Koshiba, T., Ushimaru, T. 2000. Enhancement of Antioxidative Enzyme Activities in Chilled Rice Seedlings. Journal of Plant Physiology, 156, 811-813.
- Öncel, I., Keleş, Y. 2002. Tuz Stresi Altında Buğday Genotiplerinde Büyüme, Pigment İçeriği ve Çözünür Madde Kompozisyonunda Değişimler, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi, 23(2), 8-16.
- Parida, A.K., Das. A.B. 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: A review Ecotoxicology and Environmental Safety. 60(3), 324-349.
- Polesskaya, O.G., Kashirina, E.I., Alekhina, N.D. 2006. Effect of Salt Stress on Antioxidant System of Plants as Related to Nitrogen Nutrition, Russian Journal of Plant Physiology, 53(2), 186-192.
- Prasad, T.K. 1997. Role of Catalase in Inducing Chilling Tolerance in Preemergent Mize Seedlings. Plant Physiology 114, 1369-1376.
- Ribas-Carbo, M., Taylor, N.L., Giles, L., Busquets, S., Finnegan, P.M., Day, D.A., Lambers, H., Medrano, H., Berry, J.A., Flexas, J. 2005. Effect of Water Stres on Respiration in Soybean Leaves, Plant Physiology, 139, 466-473.
- Rasmussen, P.E., Douglas, Jr. C.L. 1992. The Influence of Tillage ve Cropping-Intensity on Cereal Response to Nitrogen, Sulfur, ve Phosphorus. Fertilizer Research, 31, 15-19.
- Sezal, M., Kara, R., Kaplan, A., Dokuyucu, T., Akaya, A., 2007. Kahramanmaraş Kosullarında Farklı Azot Seviyelerinin Üç Ekmeklik Buğday Çesidinde (*Triticum aestivum* L.) Fenolojik Dönemler, Verim ve Verim Unsurlarına Etkisi. Kahramanmaraş Sütçü imam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Dergisi, 10(1), 106-115.

- Scebba, F., Sebastiani, L., Vitagliano, C. 1998. Changes in Activity of Antioxidative Enzymes in Wheat (*Triticum aestivum*) Seedlings Under Cold Acclimation. *Physiologia Plantarum*, 104, 747- 752.
- Scandalios, J.G. 1993. Oxygen Stres and Superoxide Dismutase. *Plant Physiology*, 101, 7-12.
- Simaei, M., Khavarinejad, R.A., Saadatmand, S., Bernard, F., Fahimi, H. 2011. Interactive Effects of Salicylic Acid and Nitric Oxide on Soybean Plants under NaCl Salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(5), 783–790.
- Shalaby, E.E., Epstein, E., Qualset, C.O. 1993. Variation in Salt Tolerance among Some Wheat and *Triticale* Genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 171, 298-304.
- Shannon, M.C., Gronwald, J., Tal, M., 1987. Effects of Salinity on Growth and Accumulation of Organic ve Inorganic Ions in Cultivated and Wild Tomato Species, *Journal of the American Society for Horticultural Science.*, 112, 416-423.
- Shannon, M.C., Grieve, C.M., 1999. Tolerance of Vegetable Crops to Salinity, *Scientia Horticulturae*, 78, 5-38.
- Shalata, A., Mittova, V., Volokita, Guy, M., Tal, M., 2001. Response of the Cultivated Tomato and its Wild Salt-Tolerant Relative *Lycopersicon pennelli* to Salt-Dependent Oxidative Stres: The Root Antioxidative System, *Physiologia Plantarum*, 112, 487-494.
- Salama, S., Trivedi, S., Busheva, M., Arafa, A.A., Garab, G., Erdei, L. 1994. Effects of NaCl Salinity on Growth, Cation Accumulation, Chloroplast Structure and Function in Wheat Cultivars Differing in Salt Tolerance. *Journal Plant Physiology*, 144, 241-247.
- Turgut, İ., 2000. Bursa Koşullarında Yetiştirilen Seker Mısırında (*Zea mays saccharata* Sturt.) Bitki Sıklığının ve Azot Dozlarının Taze Koçan Verimi ile Verim Öğeleri Üzerine Etkisi. *Turk Journal of Agriculture Forestry*. 24, 341–347.
- Turan, Z.M. 1986. Araştırma ve Deneme Metodları, Uludag Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Bursa, 302.
- Tunçtürk, M., Tunçtürk, R., Yıldırım, B., Eryigit, T., 2004. Değişik Azot Dozları ve Sıra Üzeri Mesafelerinin Patateste (*Solanum tuberosum* L.) Verim ve Kalite Üzerine Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Journal of Agriculture Science*, 14(2), 95-104.
- Walker, M.A. ve Mckersie, B.D. 1993. Role of the ascorbat-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato. *Journal of Plant Physiology*, 14, 234-239.
- Walia, H., Wilson, C., Condamine, P., Liu, X., Abdelbagi, M.I., Zeng, L., Steve, I.W., Mandal, J., Xu, J., Cui, X., Timothy, J.C., 2005. Comparative Transcriptional Profiling of two Contrasting Rice Genotypes under Salinity Stres during the Vegetative Growth Stage. *Plant Physiology* 139, 833-835.
- Weimberg, R. 1986. Growth and Solute Accumulation in 6-week Old Seedling of *Agropyron elongatum* stressed with Sodium and Potassium Salts. *Plant Physiology*, 67, 229-135.
- Weimberg, R. 1987. Solute Adjustments in Leaves of two Species of Wheat at two Different Stages of Growth in Response to Salinity. *Physiologia Plantarum*, 70(3), 381-388.
- Wong, S., Cowan, I.R., Farquhar, G.D. 1985. Leaf Conductance in Relation to rate of CO<sub>2</sub> Assimilation. I. Influence of Nitrogen Nutrition, phosphorus Nutrition, Photon Flus Density and Ambient Partial Pressure of CO<sub>2</sub> During Ontogeny. *Plant physiology*. 78(4), 821-825.
- Yeo, A.R., Flowers, T.J. 1983 Varietal Differences in the Toxicity of Sodium Ions in Rice Leaves, *Physiologia Plantarum*, 59(2), 189-195.
- Yılmaz, H., Kazankaya, A., Aşkın, M.A., 1999. Van Ekolojik Şartlarında Yetiştirilen Çileklere Uygulanan Farklı Azot ve Fosfor Dozlarının Verim Özelliklerine Etkisi Üzerinde Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl, Ziraat Fakültesi Dergisi, 9(1), 17-21.