

Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Tuza Tolerant ve Duyarlı *Cucumis* sp.'nin Bazı Genotiplerinde Lipid Peroksidasyonu, Klorofil ve İyon Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler⁽¹⁾

Şebnem KUŞVURAN⁽²⁾

Fikret YAŞAR⁽³⁾

Kazım ABAK⁽²⁾

Şebnem ELLİALTIOĞLU⁽⁴⁾

Öz: 100 mM tuz uygulanan *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin yapraklarında Na⁺, K⁺, Cl⁻ iyon miktarı, lipid peroksidasyon ve klorofil miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler incelenmiştir. Çalışmada iki adet tuza tolerans yüksek ticari çeşit (Galia C8 ve Galia F₁), üç adet orta düzeyde tolerant yerel çeşit (Besni, Midyat ve Şemame), iki adet hassas kavun çeşidi (Ananas ve Yuva) ile bir adet acur hattı (*C. flexuosus*) kullanılmıştır. Tuz uygulanan genotiplerde kontrol bitkilerine göre Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarında önemli düzeyde artışlar meydana gelirken, K⁺ iyonunda ise azalma görülmüştür. Hücre zarı hasarı göstergesi olan lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarı, tuz stresi altında hassas genotiplerde artış göstermiş; buna karşılık klorofil miktarlarında değişen oranlarda kayıplar meydana gelmiştir. Çalışma sonucunda özellikle Na⁺ ve Cl⁻ iyon miktarlarının tuza tolerant ve hassas kavun genotiplerinin belirlenmesi açısından etkin bir parametre olabileceği görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Tuz stresi, lipid peroksidasyonu, klorofil, kavun, acur, iyon birikimi

Changes Occur in Lipid Peroxidation, Chlorophyll and Ion Contents of Some Salt Tolerant and Sensitive *Cucumis* sp. Genotypes Grown Under Salinity Stress

Abstract: Amounts of Na⁺, K⁺, Cl⁻ ions, lipid peroxidation and chlorophyll-dependent changes in plant leaves of *Cucumis* sp. genotypes treated with 100 mM salt were investigated. In this study, two highly salt tolerant (Galia C8 and Galia F₁), three semi-tolerant (Besni, Midyat and Şemame), two salt-sensitive (Ananas and Yuva) melon varieties and one gherkin line (*C. flexuosus*) were used. While significant increases were observed in Na⁺ and Cl⁻ ions on salt-treated genotypes with respect to control treatment, decreases observed in Ca⁺ ve K⁺ ions. Amount of lipid peroxidation product MDA, which is an indicator of cell membrane damage, exhibited an increase in sensitive genotypes under salt stress; on the other hand, decreases were observed in the amount of chlorophyll at various rates. As a result, it was determined that especially the amounts of Na⁺ and Cl⁻ ions might be an effective parameter in determination of salt-tolerant and salt-sensitive melon genotypes.

Key words: Salt stress, lipid peroxidation, chlorophyll, melon, gherkin, ion accumulation

Giriş

Bitkisel üretimde stres; bitkinin yaşadığı ortamda bir veya birden fazla etkenin, büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyerek, verim düşüklüğü ile sonuçlanan bir dizi gerilemeye neden olarak algılanmaktadır. Toprakta bulunan çözünebilir tuzların miktarı, bitkinin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan miktarın üzerine çıktığında sorunlar ortaya çıkmaya başlar. Toprak çözeltisindeki tuz konsantrasyonu arttığında ve su potansiyeli azaldığında, bitki hücrelerinin ozmotik potansiyeli düşer ve bitki hücrelerinin bölünmesi ya da uzaması birden yavaşlar. Bu stres koşulları altında genellikle stomalar kapanır ve sonuç olarak fotosentez azalır. Stres koşullarının devam etmesi halinde bitki büyümesi tamamen durabilir (Ashraf, 1994). Tuzluluk bitki

gelişmesini üç temel prensip çerçevesinde engellemektedir: 1) Su eksikliği (su stresi), 2) Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının fazla miktarda alınması nedeniyle oluşan iyon toksisitesi, 3) İyon taşınımında ortaya çıkan dengesizlik nedeniyle hücre içindeki sıvının mineral yapısının ve Ca⁺² dengesinin bozulması (Marschner, 1995).

“Tuz toleransı”, bitkilerde farklı biçimlerde kendini gösterebilmektedir. Levitt (1980)'in açıkladığı iki farklı mekanizma, daha sonraki yıllarda Marschner (1995) tarafından da geliştirilerek anlatılmıştır. Buna göre, eğer bir bitkide tuzdan sakınım (*exclusion*) ve tuzu kabullenme (*inclusion*) mekanizmalarından birisi iyi gelişmiş ise, bu bitki genotipinin tuza toleransı yüksek olmaktadır.

⁽¹⁾ Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından desteklenmiştir

⁽²⁾ Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, ADANA

⁽³⁾ **Yazışma Adresi:** Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 65080-VAN, fyasar@yyu.edu.tr

⁽⁴⁾ Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, ANKARA

Bitkilerin tuzlu koşullarda Na^+ iyonu yerine K^+ veya Ca^{+2} iyonlarını almayı tercih etmelerini sağlayan seçicilik özelliğinin gelişmiş olması ve buna bağlı olarak ölçülen yüksek K/Na ve Ca/Na oranları, tuza tolerant genotip seçimlerinde kullanılabilir güvenilir bir parametre olarak literatürde karşımıza çıkmaktadır (Muhammed ve ark., 1987; Maathuis ve Altmann, 1999). Çeltik tohumunun ekiminden 60 gün sonra, bitkinin en genç üç yaprağındaki K/Na oranının, tuzluluk şartlarında, yeşil ürün kaybı hakkında bir fikir verebileceği ve genotip dayanıklılığını yansıtabileceği ileri sürülmektedir.

Seemann ve Critchley (1985) ile Aranda ve Syvertsen (1996), yüksek tuz konsantrasyonlarında iyon birikimi ve stomaların açılıp kapanmasındaki düzensizlikler nedeniyle toplam klorofil miktarında azalmalar olduğunu ve bunun sonucu olarak fotosentez etkinliğinin azalarak bitkinin gelişiminde gerilemeler ortaya çıktığını açıklamaktadırlar.

Tuzluluk, çoğunlukla yapraklarda erken yaşlanmaya neden olmaktadır (Sahu ve Mishra, 1987; Yeo ve ark., 1991). Yaprak yaşlanması genellikle protein veya klorofil konsantrasyonundaki azalma (Chen ve Kao, 1991) ve hücre zarı geçirgenliğindeki artışla (Dhindsa ve Mathowe, 1981) ifade edilmektedir. Tuz stresinin neden olduğu yapraklardaki erken yaşlanma ile lipid peroksidasyonu ürünü olan malondialdehit (MDA) arasındaki bir bağlantıdan bahsedilmektedir. MDA birikimi, iyon sızması (relative leakage ratio=RLLR) ile paralellik göstermektedir. Lutts ve ark. (1996)'nın çeltik bitkisinde yaptıkları bir araştırmada tuza dayanıklı çeşitte MDA miktarı en düşük değerleri verdiği halde, tuza duyarlı çeşitte en yüksek MDA ölçümleri yapılmıştır. Benzer biçimde değişik patlıcan genotipleri ile tuz stresi konusunda çalışan Yaşar (2003), tuza toleransı yüksek patlıcan genotiplerinin yaprak dokularında MDA miktarının; duyarlı genotiplere nazaran daha düşük olduğunu belirlemiştir.

Kavun (*Cucumis melo* L.), kurak ve yarı kurak bölgelerde bitkisel yetiştiriciliğin karşısındaki en önemli sorunlardan biri olan "tuzluluk sorunu" ile karşılaşıldığında çözüm için ilk akla gelen ürünlerden biridir (Navarro ve ark., 1999). Her ne kadar kavun, değişik araştırmacılar tarafından tuza orta derecede tolerant olarak belirtilmiş olsa da (Shannon ve Francois, 1978; Meiri ve ark., 1981; Meiri ve ark., 1982), tuza tolerans özelliğinin kavunlarda da genotiplere göre farklılık gösterdiği, bu özellik bakımından "duyarlı" dan "orta derecede tolerant" olma durumuna kadar değişkenliklerin rapor edildiği görülmektedir (Shannon ve ark., 1984; Mangal ve ark., 1988; Mendlinger ve Pasternak 1992; Botia ve ark., 1998).

Tuz stresi altında tolerant ve duyarlı genotipler arasındaki çok çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin incelenmesi sayesinde, geniş bir gen havuzunda tuz stresine tolerans bakımından yapılacak bir tarama (screening) çalışmasında kullanılabilir etkin parametrelerin ortaya konması mümkün olabilecektir.

Araştırmamızda, bu ana hedefe yönelik olarak; tuza tolerans bakımından farklı tolerans durumuna sahip oldukları çalışmalarımızın önceki aşamalarında belirlenmiş olan kavun genotiplerinde tuz stresi altında yapraklardaki Na^+ , K^+ ve Cl^- iyonu birikimlerini incelemek, hücre zarı hasarı hakkında bilgi veren MDA miktarındaki değişimleri ortaya koymak ve tuz stresi altında klorofil miktarındaki değişimi belirlemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bitkisel materyal olarak, iki adet tuza toleransı yüksek olduğu bilinen ticari çeşit (Galia C8 ve Galia F₁), üç adet orta düzeyde tolerant yerel çeşit (Besni, Midyat ve Şemame), iki adet hassas kavun çeşidi (Ananas ve Yuva) ile bir adet acur hattı (*C. flexuosus*) kullanılmıştır. Tohumlar vermikulit içerisine ekilmiş, ilk gerçek yaprakların görüldüğü dönemde Hoagland besin çözeltisi içeren hidroponik sisteme alınmışlardır. Tüm deneyler, 25°C sıcaklık, %70 nem, 2500 lux ışık şiddeti ve 16/8 saatlik fotoperiyodik düzene sahip iklim odasında gerçekleştirilmiştir.

Fideler 4-5 gerçek yapraklı oldukları dönemde tuz uygulamalarına geçilmiştir. Tuz için ayrılan fidelerin bulunduğu kaplardaki besin çözeltisine 2 gün süresince 50 mM tuz konsantrasyonunu sağlayacak NaCl ilave edilmiştir. Besin çözeltisi içerisinde final konsantrasyon olarak 100 mM bulunması sağlanmıştır.

Ölçüm ve analizler için örnek alma işlemi tuz uygulamasından 8 gün sonra yapılmıştır. Hoagland besin çözeltisinde yetiştirilen kavun genotiplerinde yapraklardaki Na^+ , K^+ ve Cl^- iyon miktarı, klorofil miktarı ve lipid peroksidasyonunu belirlemek üzere MDA miktarı analizleri yapılmıştır.

Klorofil analizleri için sürgün ucundan itibaren geriye doğru ilk üç yaprak alınmıştır. Örneklerden hazırlanan ve içinde klorofil bulunan çözeltinin absorbans değerleri spektrofotometrik olarak okunmuş, klorofil miktarı $\mu\text{g}/\text{mg}$ T.A. olarak hesaplanmıştır (Luna ve ark., 2000).

Lipid peroksidasyonunun ölçümü Lutts ve ark. (1996)'na göre yapılmıştır. MDA konsantrasyonu, 155 mMcm^{-1} olan "extinction katsayısı" kullanılarak $\mu\text{mol}/\text{g}$ T.A. (Taze Ağırlık) olarak belirlenmiştir.

İyon analizleri için ekstraksiyon hazırlama ve ekstraktlarda miktar tayinleri Taleisnik ve ark. (1997)'na uyularak gerçekleştirilmiştir. Na^+ , K^+ iyonları flame fotometrik yöntemle (Eppendorf, flame photometer); Cl^- iyonu gümüş iyonları ile kolorimetrik amperometrik titrasyon yoluyla analiz yapılmıştır. Analizler tamamlandıktan sonra, yaş yaprak örneğindeki iyon miktarı $\mu\text{g}/\text{mg}$ taze ağırlık ($\mu\text{g}/\text{mg}$ T.A.) olarak belirlenmiştir.

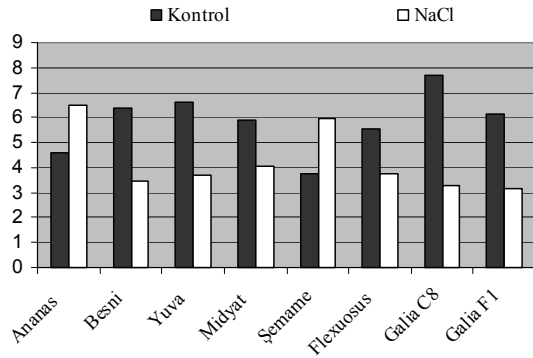
Bulgular

Lipid peroksidasyonu düzeyi

Hücre zarlarındaki tahribat sonucunda lipidlerin oksidasyonu sonucunda ortaya çıkan bir ürün olan MDA miktarının belirlenmesi, çeşidin strese karşı gösterdiği tepki hakkında bilgi verebilir. Tuza hassas olan Ananas çeşidinin 100 mM NaCl içeren ortamda en fazla MDA değerine sahip olduğu (6.50 µg/mg T.A.) ve bunu aynı istatistiksel grup içinde yer alan ancak tuza tolerant genotiplerden biri olarak denemelerde kullanılmak üzere seçilen Şemame kavununun izlediği (5.96 µg/mg T.A.) belirlenmiştir (Çizelge 1, Şekil 1). Buna karşılık diğer genotiplerin tümünde tuz stresi altındaki bitkilerin genç yapraklarında kontrole göre daha düşük miktarda MDA açığa çıkmış olup bu özellik bakımından tek bir istatistiksel grup içinde yer almışlardır. Kontrole göre ortaya çıkan bu azalma çizelgede (-) değerlerle gösterilmiştir. 3.16 ve 3.25 µg/mg T.A. ile, Galia C8 ve Galia F₁ çeşitlerinin en düşük MDA değerine sahip olduğu görülmüştür.

Klorofil miktarı

Klorofil miktarı bakımından istatistiksel anlamda genotipler arasında farklılıkların olduğu belirlenmiş, tuz stresi altında yaprakların klorofil miktarlarında azalma meydana geldiği görülmüştür (Çizelge 1, Şekil 2).

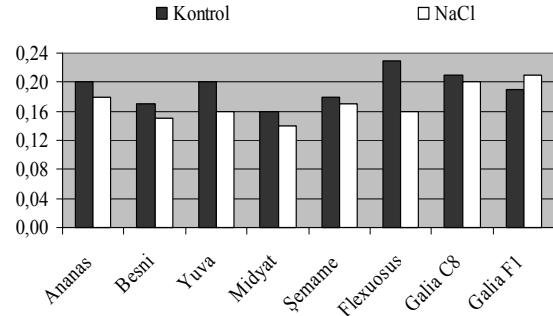


Şekil 1. 100 mM NaCl içeren ve içermeyen besin çözeltilisinde 8 gün süreyle yetiştirilen farklı *Cucumis* sp. genotiplerinde MDA miktarları (µg/mg T.A.)

Figure 1. Amounts of MDA in different *Cucumis* sp. genotypes grown in nutrient solution included 100 mM NaCl or control medium with 8 day-application (µg/mg FW)

Tuz stresi altında klorofil miktarını en iyi koruyan genotipler Galia çeşitleri ile Şemame kavunu olmuştur. Hatta Galia F₁ çeşidinde tuz stresi altında klorofilde azalma

oluşacağı yerde, kontrole göre bir miktar artış belirlenmiştir (%10.5 oranında artış).



Şekil 2. 100 mM NaCl içeren ve içermeyen besin çözeltilisinde 8 gün süreyle yetiştirilen farklı *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin klorofil miktarları (µg/mg T.A.)

Figure 2. Amounts of chlorophyll in different *Cucumis* sp. genotypes grown in nutrient solution included 100 mM NaCl or control medium with 8 day-application (µg/mg FW)

Galia C8 çeşidinde klorofil kaybı tuzlu ortamlarda sadece kontrolün %4.8'i kadar olmuş; Şemame kavununda ise tuz stresi nedeniyle klorofil miktarındaki kayıp %5.6 oranında meydana gelmiştir. Tolerant grupta yer alan Midyat kavunu bu özellik bakımından iyi bir performans sergilerken (%12.5 oranında klorofil kaybı), Besni kavunu da tuz stresi altında klorofil kaybını oldukça sınırlı oranlarda tutabilmiştir. En fazla klorofil kaybı, denemede yer alan tek acur hattında ortaya çıkmış (%30.4), Yuva kavunu bunu izlemiş (%20.0); Ananas kavunu ise tuza duyarlı grupta olmasına karşın kontrole göre sadece %10.0'luk klorofil kaybı sergilemiştir.

İyon miktarları

Na⁺ ve K⁺ iyon miktarları bakımından ortaya çıkan değişimler: *Cucumis* sp.'nin 8 değişik genotipinde 8 gün süreyle 100 mM NaCl uygulaması sonunda yapraklardaki Na⁺ iyon miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler Çizelge 2'de verilmiştir.

Galia C8 çeşidi ile Midyat kavununun tüm genotipler içinde bünyesine en az düzeyde sodyum iyonu alanlar olduğu görülmektedir (Şekil 3). Bunları, Besni, Ananas ve Galia F₁ çeşitleri izlemiştir. Diğer genotipler ise artan miktarlarda Na⁺ iyonunu almışlardır. Genç yapraklarında biriktirdikleri sodyum miktarı en fazla olan genotipler ise *C.flexuosus*, Şemame ve Yuva olmuştur.

Çizelge 1. Tuzlu (100 mM NaCl) ve tuz ilave edilmeyen (0 mM NaCl) besin çözeltisinde 8 gün süreyle yetiştirilen *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin yapraklarındaki MDA ve klorofil miktarları (µg/mg T.A.) ile kontrole göre değişimleri (%)

Table 1. In salt-treatment (100 mM NaCl) and non-salt treatment (0 mM NaCl) mediums grown plants of the *Cucumis* sp with 8 day-application, MDA and Chlorophyll amounts (µ g/mg F.W.) and amounts of changes according to control (%)

Çeşit/Variety	MDA (µg/mg T.A.)/MDA (µg/mg F.W.)*			Klorofil(µg/mg T.A.)/Chlorophyll (µg/mg F.W.)		
	0 mM NaCl	100 mM NaCl	Değişim/ Change (%)	0 mM NaCl	100 mM NaCl	Değişim/ Change (%)
Ananas	4.59 cd	6.50 a	41.6	0.20 ab	0.18 ab	10.0
Besni	6.40 ab	3.43b	(-)46.4	0.17 bc	0.15 b	11.8
Yuva	6.60 ab	3.70 b	(-)43.9	0.20 ab	0.16 ab	20.0
Midyat	5.88 bc	4.04 b	(-)31.3	0.16 c	0.14 b	12.5
Şemame	3.73 d	5.96 a	59.8	0.18 bc	0.17 ab	5.6
<i>C.flexuosus</i>	5.53 bc	3.75 b	(-)32.2	0.23 a	0.16 ab	30.4
Galia C8	7.70 a	3.25 b	(-)57.8	0.21 ab	0.20 a	4.8
Galia F ₁	6.14 b	3.16 b	(-)48.5	0.19 abc	0.21 a	(-)10.5**

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harfle belirtilmiştir (p<0.05)

*Significant differences between means of varieties are indicated by different small letter (p<0.05).

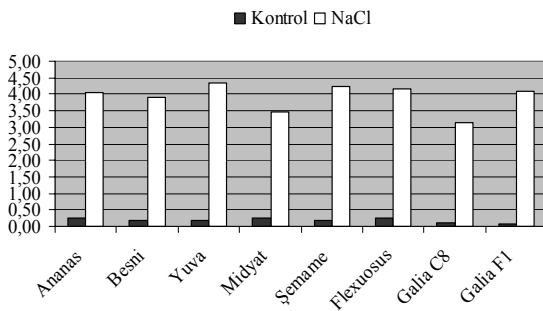
Çizelge 2. Tuzlu (100 mM NaCl) ve tuz ilave edilmeyen besin çözeltisinde 8 gün süreyle yetiştirilen *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin yapraklarındaki Na⁺, K⁺ Cl⁻ iyonu miktarları (µg/mg T.A.) ile kontrole göre artışları (%) ve K/Na oranı

Table 2. In salt-treatment (100 mM NaCl) and non-salt (0 mM NaCl) treatment mediums grown plants of the *Cucumis* sp with 8 day-application, Na, K and Cl ion accumulation amounts (µ g/mg F.W.) and K/Na ratios and amounts of changes according to control (%)

Çeşit/Variety	Na(µg/mg T.A.)/Na (µg/mg F.W.)			K (µg/mg T.A.)/K (µg/mg F.W.)			Cl (µg/mg T.A.)/Cl (µg/mg F.W.)			K/Na	
	0 mM NaCl	100 mM NaCl	Değişim/ Chance (%)	0 mM NaCl	100 mM NaCl	Değişim/ Chance (%)	0 mM NaCl	100 mM NaCl	Değişim/ Chance (%)	0 mM NaCl	100 mM NaCl
Ananas	0.26ab	4.06ab	1461.5	3.00 ab	1.04d	65.3	0.95 a	7.34 c	672.6	12.97cb	0.26c
Besni	0.20abc	3.92ab	1860.0	3.11 a	1.77b	43.1	0.96 a	1.06 d	10.4	15.59bc	0.45b
Yuva	0.18 bc	4.35 a	2316.6	2.80 abc	1.24cd	55.7	0.80 b	9.20 b	1050.0	16.38b	0.29c
Midyat	0.27 a	3.48bc	1188.8	2.43 dc	1.77 b	92.7	0.95 a	0.89 d	(-) 6.3	9.26c	0.52b
Şemame	0.19abc	4.24 a	2131.6	2.60bcd	1.30 c	50.0	0.27 cd	1.75 d	548.2	13.66bc	0.31c
<i>C.flexuosus</i>	0.26 ab	4.16ab	1500.0	2.45 dc	1.25cd	49.0	0.42 c	12.23 a	2811.9	9.50c	0.30c
Galia C8	0.12 dc	3.14 c	2516.6	2.33 d	2.56 a	-	0.25 cd	1.00 d	300.0	19.14b	0.82a
Galia F ₁	0.09 gf	4.07ab	4422.2	2.40 d	1.27cd	47.1	0.42 c	0.91 d	116.6	26.22a	0.31c

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harfle belirtilmiştir (p<0.05)

*Significant differences between means of varieties are indicated by different small letter (p<0.05)



Şekil 3. 100 mM NaCl 100 mM NaCl içeren ve içermeyen besin çözeltisinde 8 gün süreyle yetiştirilen farklı *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin Na⁺ miktarları (µg/mg T.A.)

Figure 3. Amounts of Na⁺ in different *Cucumis* sp. genotypes grown in nutrient solution included 100 mM NaCl or control medium with 8 day-application (µg/mg FW)

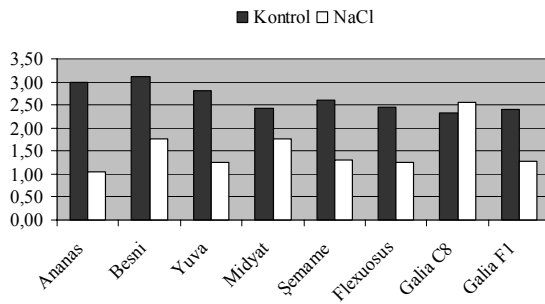
K⁺ iyon miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler ve bunların istatistiksel değerlendirilmesine ilişkin harflendirmeler, Çizelge 2’de verilmiştir. Potasyumun genç yapraklarda tutulması ve birikimi bakımından, genotipler arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Galia C8’de K⁺ miktarı diğer genotiplere nazaran oldukça fazla

çıkıştır (2.56 µg/mg T.A.) ve istatistiksel olarak diğer genotiplerin hepsinden ayrılmıştır. Hatta tuzlu koşullardaki bitkilerinde K⁺ iyonu miktarı, kontrole göre ufak bir artış bile sergilemiştir. Bunu, her ikisi de aynı değerler aynı grup içerisinde yer alan Besni ve Midyat izlemiştir (1.77 µg/mg T.A.). Şemame ise bu grubun ardından gelmiştir (1.30 µg/mg T.A.). *C. flexuosus*, Yuva ve Ananas, genotipleri yapraklarında K⁺ iyonu biriktirme performansı bakımından oldukça zayıf kalmışlar (sırasıyla 1.25, 1.24, 1.04 µg/mg T.A.); Galia F₁ çeşidi ise 1.27 µg/mg T.A.. değeriyle gerilerde kalarak Galia C8’den uzak kalmıştır. Şekil 4’te yapraklardaki K⁺ iyonu bakımından genotiplerin durumu bir grafik yardımıyla açıklanmaktadır.

Cl⁻ iyonu miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler: Su kültüründe yetiştirilen 8 adet *Cucumis* sp. genotipinin tümünde tuz uygulamasının 8. gününde Cl⁻ iyonu miktarında artışlar meydana gelmiştir (Çizelge 2). Cl⁻ birikimi az olan ve dolayısıyla stresten en az etkilenen genotipler olmuştur. En yüksek oranda Cl⁻ biriktiren çeşit ise Yuva’dır.

Kavun genotipleri Cl⁻ birikimi bakımından incelendiğinde aralarında P≤0.01 düzeyinde önemli farklılıkların olduğu görülmektedir. 100 mM tuz stresi

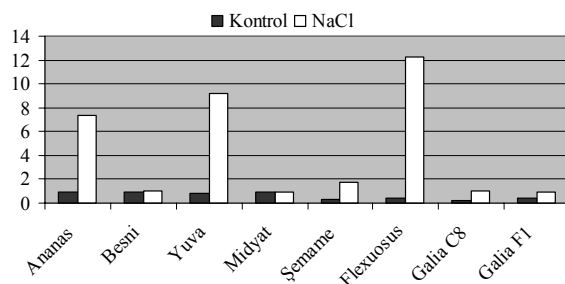
altında Midyat kavununun genç yapraklarında Cl⁻ iyonu artışı olmamış, hatta kontrolden bir miktar az bulunmuştur (%6.3 oranında azalma). Bunun dışında; Cl⁻ birikimi ve kontrole göre birikim oranındaki artışı az olan, dolayısıyla stresten en az etkilenen genotipler Galia C8, Galia F₁, Besni ve Şemame olmuştur (Şekil 5). Bu genotiplerin tuzlu ortamlarda yetişen bitkilerinin genç yapraklarındaki Cl⁻ iyonu miktarları sırasıyla 1.00, 0.91, 1.06 ve 1.75 µg/mg T.A. olarak ölçülmüştür. Midyat genotipi dahil bu beş genotip aynı istatistiksel grup içerisinde yer almış, çalışmalarımızın ilk aşamasında tuza tolerant olarak belirlenen (Ellialtıoğlu ve ark., 2006) ve kontrol olarak denemeye dahil edilen tolerant çeşitleri tümü aynı grupta toplanmışlardır.



Şekil 4. 100 mM NaCl içeren ve içermeyen besin çözeltisinde 8 gün süreyle yetiştirilen farklı *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin K⁺ miktarları (µg/mg T.A.)

Figure 4. Amounts of K⁺ in different *Cucumis* sp. genotypes grown in nutrient solution included 100 mM NaCl or control medium with 8 day-application (µg/mg FW)

Ananas tek başına 'c' harflendirmesini alarak Cl⁻ iyonu biriktirme bakımından en tolerantlardan sonra gelen dereceyi oluşturmuştur (7.34 µg/mg T.A.). Bunu Yuva çeşidi izlemiş (9.20µg/mg T.A.); bir başka *Cucumis* türü olan ve tuza en duyarlı kavun genotipi kadar bile tuza tolerans gösteremeyen acur hattı, en fazla Cl⁻ biriktiren genotip olmuştur (12.23 µg/mg T.A.).



Şekil 5. 100 mM NaCl içeren ve içermeyen besin çözeltisinde 8 gün süreyle yetiştirilen farklı *Cucumis* sp. genotiplerine ait bitkilerin Cl⁻ miktarları (µg/mg T.A.)

Figure 5. Amounts of Cl⁻ in different *Cucumis* sp. genotypes grown in nutrient solution included 100 mM NaCl or control medium with 8 day-application (µg/mg FW)

K/Na oranı bakımından ortaya çıkan değişimler: Potasyum/Sodyum (K⁺/Na⁺) oranları bakımından denemede yer alan 8 genotip, istatistiksel açıdan farklı gruplar oluşturmuştur. Tuzlu ortamdaki bitkiler içerisinde, K⁺/Na⁺ oranları bakımından en düşük sayısal değerleri veren genotipler Ananas, Yuva, Şemame, Acur ve Galia F₁ olmuştur. K⁺/Na⁺ oranları bakımından en yüksek değerleri veren ve Na⁺ yerine K⁺ iyonunu tercih ederek bünyesine alan ilk sıradaki çeşit ise, Galia C8 olmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Kavunda, fide aşamasında uygulanan yüksek tuz (NaCl) konsantrasyonunun gelişmeyi olumsuz yönde etkilediği; ancak tuzdan etkilenme özelliği bakımından denemelerde yer alan kavun genotipleri arasında önemli düzeyde farklılıklar ortaya çıktığı belirlenmiştir. Kavun materyalinin arasına dahil edilen bir başka *Cucumis* türü olan *C. flexuosus* (acur), tuzdan çok fazla etkilenmiş ve kavunlar kadar dayanım gösterememiştir. Kavun genotipleri arasındaki tuza tolerans bakımından ortaya çıkan farklılığı, bir veya birkaç ortak davranışla açıklamaya çalışmanın oldukça güç olduğu Akıncı (1996)'nın çalışmasından sonra bir kez daha ortaya çıkmıştır. Yine de incelenen özellikler arasında bazılarının tuza toleransın göstergesi olarak kullanılabileceği, ya da üzerinde yeni çalışmalar yapılacak konuların kendini göstermesi sonucunda mekanizmanın iyice anlaşılabilmesi için hangi yolların izlenebileceği ortaya konulmuştur.

Bu çalışmanın öncesinde, otuz altı adet *Cucumis* sp. genotipinde, 150 mM dozunda uygulanan toksik düzeydeki NaCl tuzunun değişik fizyolojik parametrelere olan etkisi incelenmiş ve tuza tolerans bakımından genotipler sınıflandırılmıştır. Sonuçları sunulan bu makalede bitkisel materyal olarak kullanılan 8 *Cucumis* sp. genotipi, ön seçim aşamasındaki bulgulara göre seçilmiştir (Kuşvuran 2004). Yüksek dozda tuz kullanılan ilk seçim aşamasında, tuz stresinin kavun ve acur genotiplerindeki ilk belirgin semptomatik etkisi, 'bitkilerin yeşil aksam yaş ağırlığında azalma ve bitki büyümesinde duraklama' olmuştur (Ellialtıoğlu ve ark. 2006). Bunu takiben öncelikle yaşlı yapraklardan başlayarak sararma ve nekroze olma, yaşlı yapraklardan itibaren kuruyarak yaprak dökülmesi, büyümenin sınırlanması ve sonuçta bitkinin ölümü gerçekleşmiştir. Munns ve Termaat (1986), tuzluluk koşullarında en fazla etkilenen organların yapraklar olduğunu bildirmiştir. Mer ve ark., (2000), tuzun toksik etkisinin ilk önce yaşlı yapraklarda görülmeye başladığını, bu yaprakların uçlarından başlayıp yaprak ayasına ve sapına doğru ilerleyen kloroz şeklinde kendini gösterdiğini, daha sonra bu kısımların nekroze olduğunu belirtmektedir.

Farklı kavun genotiplerinde büyümedeki azalmanın en önemli nedenlerinden birisi, bitki bünyesinde gereğinden çok fazla ve toksik düzeyde biriken sodyum iyonu konsantrasyonudur. Başka bazı bitki türlerinde olduğu gibi

(Karanlık, 2001; Aktaş, 2002; Yaşar, 2003) kavunda tuza tolerans özelliği bitki yeşil aksamındaki Na^+ iyonu birikimi ile ilgili görülmektedir. NaCl konsantrasyonunun yüksek olduğu yetiştirme ortamlarındaki bitkiler, aşırı miktarda Na^+ iyonu almaktadırlar. Na^+ iyonuna, iyonik çapları ve elektriksel yükleri nedeniyle büyük benzerlik gösteren K^+ iyonunun alımı, bu nedenle tuzlu koşullarda engellenmektedir. Kavun genotiplerinin bazılarında Na^+ iyonu alımındaki artışlarla birlikte K^+ iyonu alımında azalmalar ortaya çıktığı halde, tuza yüksek düzeyde duyarlılık gösteren genotiplerin bulunduğu bazılarında tuz stresi altındaki bitkilerdeki K^+ iyonu miktarları, kontrol bitkilerine göre fazla bulunmuştur. Aralarında yüksek değerli bir negatif etkileşim bulunan Na^+ ve K^+ iyonlarının alımı, bu bitki türünde toleransın ortaya çıkmasında etkili bir kriter olarak görülmemiştir. Oysa Levitt (1980), ortamda sodyum klorürün fazla olması durumunda, bitkiler tarafından Na^+ iyonunun gereğinden fazla alındığı ve oluşan rekabet nedeniyle K^+ iyonu alımında azalma olduğunu kaydetmiştir. Buğday, (Karanlık, 2001), biber (Aktaş, 2002) ve patlıcan (Yaşar, 2003) türlerinde ülkemizde yapılan çalışmalarda da potasyum iyonunu almayı tercih edebilen çeşitlerin tuza toleransının yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak kavunda bu iki iyon arasındaki oransal etkileşimin, tuza tolerans hakkında bilgi veremeyeceği anlaşılmıştır.

150 mM tuz stresi uyguladığımız denemelerin sonucunda tuza duyarlı Ananas çeşidinin yapraklarında; tuza tolerat Midyat kavunundan yaklaşık 5 kat daha fazla Na^+ iyonu varlığı tespit edilmiştir. Böylece kavun türünde tuza dayanımın sağlanmasında sodyum iyonu ile ilgili çeşitli mekanizmaların çalıştığı düşünülmüştür (Ellialtıoğlu ve ark., 2006). Ancak tuz konsantrasyonunun 100 mM'a düşürülmesi genotipler arasında Na^+ iyonu alımındaki artış oranları bakımından ayırt edici farklılıkları azaltmıştır. Bu nedenle Na^+ iyonu alımı özelliğinin bir seçim (screening) parametresi olarak kullanılması güvenilir bulunmamıştır.

Denemede kullanılan tüm *Cucumis* sp. genotiplerinde NaCl içeren ortamında yetiştirme sonrası Cl^- iyonu artışı olmuş ve bu artış oranları arasında çok büyük farklılıklar ortaya çıkmıştır. Akıncı (1996) da, tuzlu ortamlarda yetiştirdiği kavun bitkilerinin yapraklarında toksik doz sınırlarının ($\text{Na}=\%0.01-10.0$, $\text{Cl}=\%0.02-2.0$) çok üzerinde Na ve Cl iyonu birikimi saptandığını kaydetmiştir. Çalışmada tuza duyarlı Ananas ve Yuva kavun çeşitlerinde tuz uygulanan bitkilerin yapraklarında Cl^- iyonu birikimi bakımından kontrole göre sırasıyla %3516.7 ve % 4254.2 oranında artış ortaya çıkmıştır. Buna karşılık tuza toleransı yüksek Besni ve Mardin kavunlarında bu artış sadece %357.1 ve %366.7 oranında olmuştur. Carjaval ve ark. (1998) da kavun bitkisinin Na^+ ve Cl^- iyonlarına karşı spesifik bir toksisiteye sahip olduğunu bildirmektedir.

Çevresel stres ile karşılaşan bitkilerde serbest O_2 türevlerinin oluşumunun arttığı, önceki yıllarda birçok araştırmacı tarafından kanıtlanmıştır (Gosset ve ark., 1994;

Hernandez ve ark. 1994; Sreenivasulu ve ark., 2000). Aktif oksijen türevleri membran lipidlerinin peroksidasyonuna neden olmakta ve hücre zarında hasara yol açmakta (Sreenivasulu ve ark., 1999), böylece ortaya çıkan iyon sızması da bazı araştırmacılar tarafından tuz stresine tolerans için bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Blum, 1985; Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994). Bunun yanında lipid peroksidasyonu ürünü olan malondialdehit'in miktarının belirlenmesi, oksidatif zararın en basit göstergesi olarak kullanılmaktadır (Zhang ve Kirkham, 1996). Gossett ve ark. (1994), tuz stresine duyarlı bir pamuk çeşidinde 150 MM tuz uygulamasının ardından ölçülen lipid peroksidasyonunun, dayanıklı çeşitten %51 oranında daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Hernandez ve ark. (1995) bezelye bitkisinde; Shalata ve Tal (1998) domates genotiplerinde; Karanlık (2001) buğdayda, Aktaş (2002) biberde ve Yaşar (2003) patlıcanda tuza toleransı yüksek genotiplerin düşük MDA miktarı ve daha az lipid peroksidasyonuna sahip olduğunu, lipid peroksidasyonu fazla olan genotiplerin ise tuza daha fazla duyarlılık gösterdiklerini belirlemişlerdir. Bu araştırmada da bitkinin tuzdan etkilenme düzeyi ile yapraklarda ölçülen MDA miktarı arasında ilişki bulunduğu görülmüş, MDA miktarındaki artış ve azalışlara göre yapılan sıralama ile tuza tolerans özelliğinin bağlantılı olduğu anlaşılmıştır.

Klorofil miktarı, yüksek tuz konsantrasyonlarında kontrole göre azalmaktadır (Franco ve ark., 1993; Tıprıdamaz ve Ellialtıoğlu, 1994; Sivritepe, 1995). Tuz stresi, bitkinin ölümüne neden olabildiği gibi tolerans durumuna bağlı olarak büyümeyi engellemekte, kloroplastların tahrip olması nedeniyle kloroz ve nekrotik lekelerin oluşumuna yol açabilmektedir (Hasegawa ve ark., 1986). Kavun ve acur genotiplerinde de tuz uygulaması, büyük bir çoğunlukla klorofil miktarında azalmaya neden olmuştur. Klorofildeki azalma, kavun yapraklarının sararması ile kendini göstermiş olup bunun hemen ardından kurumalar meydana gelmiştir. Ancak sonuçlar incelendiğinde 8 adet genotipten 1 tanesinin tuz stresi altında, toplam klorofil miktarı bakımından kontrole göre artış gösterdiği görülmektedir (Galia F₁, %10.5 artış). Bu durum, 'tuzlu koşullarda büyüyen bitkilerin yaprakları küçük, rengi de koyu yeşildir' ifadesini kullanan Mangal ve Lal (1990)'in tespitleriyle uyumaktadır. Çalışmamızda yer alan genotiplerin büyük çoğunluğu ait oldukları tolerans grubu ile uyumlu değerler verdiği halde, tuza duyarlı Ananas çeşidinin düşük klorofil kaybı oranı sayesinde toleranlar grubu içerisine girmesi, bu özelliğin seçim kriteri olarak önerilmesini engellemiştir.

Sonuç olarak incelenen özellikler içerisinde, tuza tolerat genotip seçimi amacıyla en etkili seçim kriterinin klor iyonu miktarındaki değişimler olabileceği görüşü oluşmuştur. Tuz stresi altında yapraklarında klor iyonunu daha az biriktiren veya bünyesinden uzak tutan/uzaklaştıran kavun genotiplerinin tuza toleransının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Daha fazla sayıda acur genotipi kullanılarak

yapılacak yeni denemelerle, acurun kavuna göre tuza toleransının daha düşük olduğu yönündeki izlenimin incelenmesi yerinde olacaktır. Ayrıca kavunlarda tuz stresi altında iyon birikiminin, yaprak, gövde ve kök olmak üzere değişik bitki kısımlarında incelenmesi, tuza tolerans mekanizmasını aydınlatma bakımından yararlı olabilecektir.

Kaynaklar

- Akıncı, İ.E., 1996. *Kavunda Tuza Tolerans Üzerine Araştırmalar*. (Doktora Tezi, basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 157 s.
- Aktaş, H., 2002. *Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı*. (Doktora Tezi, basılmamış), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 105 s.
- Aranda, R.R., Syvertsen, J.P., 1996. The influence of foliar applied urea nitrogen and salina solutions on net gas exchange of *Citrus* leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121:501-506.
- Ashraf, M., 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13(1): 17-42.
- Blum, A., 1985. Breeding crop varieties for stress environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2:199-238.
- Botia, P., Carvajal, M., Cerda, A., Martinez, V., 1998. Response of eight *Cucumis melo* cultivars to salinity during germination and early vegetative growth. *Agronomie*, 18:503-513.
- Carvajal, M., Del Amor, F., Fernandez, G., Martinez, V., Cerda, A., 1998. Time course of solute accumulation and water relations in muskmelon plants exposed to salt during different growth. *Plant Science*, 138:103-112.
- Chen, C.T., Kao, C.H., 1991. Senescence of rice leaves. XXIX: Ethylene production, polyamine level and polyamine biosynthetic enzyme activity during senescence. *Plant Science*, 78:193-198.
- Dhindsa, R.S., Mathowe, W., 1981. Drought tolerance in two mosses : Correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *J. of Exp. Bot.*, 32(126): 79-91.
- Ellialtıoğlu, Ş., Abak, K., Kuşvuran, Ş., 2006. *Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Kavun Çeşitlerinde in vitro ve in vivo Koşullarda Bazı Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi*. (Proje Sonuç Raporu, basılmamış), Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Projeleri, Proje No: 2002-58, 113s.
- Franco, J.A., Esteban, C., Rodriguez, C., 1993. Effect of salinity on various growth stages of muskmelon cv. Revigal. *J. of Hort. Sci.*, 68: 899-904.
- Gossett, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M.C., 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci.*, 34:706-714.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, A.V., 1986. Cellular mechanisms of salinity tolerance. *Hort. Sci.*, 21:1317-1324.
- Hernandez, J.A., Del Rio, I.A., Sevilla, F., 1994. Salt stress-induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *Vigna unguiculata* L. Walp. *New Phytol.*, 126:37-44.
- Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F. ve Del Rio, I.A., 1995. Salt-Induced Oxidative Stress in Chloroplasts of Pea Plants. *Plant Sci.*, 105:151-167
- Karanlık, S., 2001. *Değişik Buğday Genotiplerinde Tuz Stresine Dayanıklılık ve Dayanıklılığın Fizyolojik Nedenlerinin Araştırılması*. (Doktora Tezi, basılmamış), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 125 s.
- Kuşvuran, Ş., 2004. *Kavunda (Cucumis melo L.) Tuz Stresine Toleransın Belirlenmesinde Antioksidant Enzim Aktivitesi ve Lipid Peroksidasyonundan Yararlanma Olanakları*. (Yüksek Lisans Tezi, basılmamış), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 103 s.
- Levitt, J., 1980. *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Vol.II, 2nd ed. Academic Press, New York, pp:607.
- 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., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996. NaCl-Induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.*, 78, 389-398.
- Maathuis, F.J.M., Altmann, A., 1999. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: The basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Ann. Bot.*, 10:123-133.
- Mangal, J.L., Hooda, P.S., Lal, S., 1988. Salt tolerance of five muskmelon cultivars. *J. Agr. Sci.*, 110:641-643.
- Mangal, J.L., Lal, S., 1990. Salt tolerance behavior of Khorif onion variety N.53. *Hort. Abst.*, 53:5129.
- Marschner, H., 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, 657-680.
- Meiri, A., Hoffman, G., Shannon, M., Poss, J., 1982. Salt tolerance of two muskmelon cultivars under two solar radiation levels. *J. of Amer. Soc. Hort. Sci.*, 107:1668-1672.
- Meiri, A., Plaut, Z., 1981. Salt tolerance of glasshouse grown muskmelon. *Soil Science*, 131:189-193.
- Mendlinger, S., Pasternak, D., 1992. Screening for salt tolerance in melons. *Hort.Sci.*, 27(8):905-907.
- Mer, R.K., Prajith, P.K., Pandya, D.H., Pandey, A.N., 2000. Effect of salt on germination of seeds and growth young plants of *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Cicer arietinum* and *Brassica juncea*. *J. Agron. Crop. Sci.*, 185:209-217.
- Muhammed, S., Akbar, M., Neue, H.U., 1987. Effect on Na/Ca and Na/k ratios in saline culture solution on the growth and mineral nutrition of rice (*Oryza sativa*). *Plant and Soil*, 104:57-62.

- Munns, R., Termaat, A., 1986. Whole-plant responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13:143-160.
- Navarro, J.M., Botella, M.A., Martinez, V., 1999. Yield and fruit quality of melon plants grown under saline conditions in relation to phosphate and calcium nutrition. *J. of Hort. Sci. Biotechnol.*, 74:573-578.
- Sahu, A.C., Mishra, D., 1987. Changes in some enzyme activities during excised rice leaf senescence under NaCl-stress. *Biochemie und Physiol. der Pflanzen*, 182:501-505.
- Seemann, J.R., Critchley, C., 1985. Effects of salt stress on growth. Ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta*, 164:151-162.
- Shalata, A., Tal, M., 1998. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol. Plant.*, 104:169-174.
- Shannon, M.C., Francois, L.E., 1978. Salt tolerance of three muskmelon cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 103:127-130.
- Shannon, M.C., Bohn, G.W., McCreight, J.D., 1984. Salt tolerance among muskmelon genotypes during seed emergence and seedling growth. *Hort. Sci.*, 19:828-830.
- Sivritepe, N., 1995. *Asmalarda Tuza Dayanıklılık Testleri ve Tuza Dayanımda Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Araştırmalar*. (Doktora Tezi, basılmamış), Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 176s.
- Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H.S., Shekar-Shetty, H., Savithri, H.S., Sudhakar, C., 1999. Total Peroxidase Activity and Peroxidase Isoforms as Modified by Salt Stress in Two Cultivars of Fox-Tail Millet with Differential Salt Tolerance. *Plant Sci.*, 141:1-9.
- 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*). *Physiol. Plant.*, 109:435-442.
- Taleisnik, E., Peyrano, G., Arias, C., 1997. Respose of *Chloris gayana* cultivars to salinity. 1. Germination and early vegetatif growth. *Trop. Grassl.*, 31:232-240.
- Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş., 1994. *Domates Genotiplerinde Tuza Dayanıklılığın Belirlenmesinde Değişik Tekniklerin Kullanımı*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Yayınları, Yayın No: 1358, Bilimsel Ar. ve İnc., 752, 21s.
- Yaşar, F., 2003. *Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin in vitro ve in vivo Olarak İncelenmesi*. (Doktora Tezi, basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 138 s.
- Yeo, A.R., Lee, K.S., Izard P., Boursier, P.J., Flowers, T.J., 1991. Short and long term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Exp. Bot.*, 42:881-889.
- Zhang, J., Kirkham, M.B., 1996. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. *J. Plant Physiol.*, 149:489-493.