



**ALKALİ KOŞULLARA EKMEKLİK  
BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.)  
GENOTİPLERİNİN FİZYOLOJİK VE  
MOLEKÜLER TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Damla DURULAR**

**Yüksek Lisans Tezi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emre İLHAN**

**2019  
Her hakkı saklıdır.**



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ALKALİ KOŞULLARA EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.)  
GENOTİPLERİNİN FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER TEPKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Damla DURULAR**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Emre İLHAN**

**Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik**

**Erzurum**

**2019**

**Her hakkı saklıdır**

**T.C.**  
**ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TEZ ONAY FORMU**

---

**ALKALİ KOŞULLARA EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.)**  
**GENOTİPLERİNİN FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER TEPKİLERİNİN**  
**BELİRLENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Emre İLHAN danışmanlığında, Damla DURULAR tarafından hazırlanan bu çalışma 14/01/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oy birliği ile (3/0)** kabul edilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi İsmail Bezirganoğlu      *İmza* :

Üye : Doç. Dr. Murat Aydın      *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Emre İlhan      *İmza* :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

**Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ**

**Enstitü Müdürü**

Bu tez çalışması ..... tarafından ..... nolu proje ile desteklenmiştir.

## **ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

17 / 01 / 2019

İmzası

Damla DURULAR

# ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

## ALKALİ KOŞULLARA EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) GENOTİPLERİNİN FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER TEPKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Damla DURULAR

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emre İLHAN

Buğday tarımı yapılan en eski kültür bitkilerindedir. Bitkiler yaşamları boyunca biyotik ve abiyotik stres koşullarına maruz kalmaktadır. Bu çalışmanın amacı alkali koşullarına Aytın-98, Çetinel-2000 ve Tir ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) genotiplerinin tepkilerinin hem antioksidant enzim aktiviteleri, element analizi hem de moleküler analizlerle belirlenmesidir. Bu amaçla hidroponik ortam kullanılarak yetiştirilen bitkiler fide döneminde 48 saat süreyle  $\text{NaHCO}_3$ 'ün 0, 10, 50 ve 100 mM'lık dozlarına maruz bırakılmıştır. Bu çalışmada kontrolle karşılaştırıldığında hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) aktivitelerinde Çetinel-2000 genotipinde  $\text{NaHCO}_3$  dozlarının tümünde artışlar olurken Aytın-98 ve Tir genotiplerinde ise artış ve azalışlar meydana gelmiştir. Benzer şekilde malondialdehit içeriği yönünden Çetinel-2000 genotipi yine diğer genotiplerden daha yüksek olmuştur. ISSR (Basit dizi tekrarları arası)'ler ile yapılan Genomik Kalıp Stabilitesi (GKS) oranları  $\text{NaHCO}_3$  dozuna bağlı olarak azalma göstermiştir. Strese bağlı olarak DNA hasarları meydana gelmiştir. Element analizi sonuçlarında  $\text{NaHCO}_3$  dozuna bağlı olarak Na (Sodyum) miktarında tüm genotiplerde artış meydana gelirken K (Potasyum) oranlarında ise azalış olmuştur. Na/K oranlarında da artışlar olmuştur. Çalışmada yapılan analizlere göre Çetinel-2000 genotipinin  $\text{NaHCO}_3$  ile yapay olarak oluşturulan alkali koşulların tüm dozlarına karşı hassas olduğu diğer taraftan Aytın-98 ve Tir genotiplerinin ise alkali koşullara karşı Çetinel-2000'e göre daha dayanıklı oldukları anlaşılmıştır.

**Yıl, 74 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan enzimler, ISSR, Na, K, Na/K oranı

## ABSTRACT

MS. Thesis

### THE DETERMINATION of PHYSIOLOGICAL and MOLECULAR RESPONSES of BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.) GENOTYPES to ALKALINE CONDITIONS

Damla DURULAR

Erzurum Technical University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Emre İLHAN

Wheat is one of the most early cultivated plants. Plants are exposed to biotic and abiotic stress conditions throughout their lives. The aim of this study is to determine the reactions of Aytın-98, Çetinel-2000 and Tir bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes to alkaline conditions by both antioxidant enzyme activities, elemental analysis and molecular analysis. For this purpose, plants grown using hydroponic medium were exposed to 0, 10, 50 and 100 mM doses of NaHCO<sub>3</sub> for 48 hours during seedling stage. In this study, in the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities compared to the control, all of the doses of NaHCO<sub>3</sub> in the Çetinel-2000 genotype were increased, while there were increases and decreases in the Aytın-98 and Tir genotypes. Similarly, in terms of malondialdehyde content, Çetinel-2000 genotype was higher than other genotypes. The rates of Genomic Template Stability (GTS) with ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) decreased with respect to the dose of NaHCO<sub>3</sub> DNA damage has occurred due to stress. In the results of the elemental analysis, an increase in all genotypes in Na (sodium) amount was observed due to the dose of NaHCO<sub>3</sub> while the K (potassium) ratios decreased. There were also increases in Na/K ratios. According to the results of the study, it was understood that Çetinel-2000 genotype was susceptible to all doses of artificially induced alkaline conditions with NaHCO<sub>3</sub>, whereas Aytın-98 and Tir genotypes were more resistant to alkaline conditions than Çetinel-2000.

**Year, 74 page**

**Keywords:** Antioxidant enzymes, ISSR, Na (Sodium), K (Potassium), Na/K ratio

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu alışma, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Tarla Bitkileri Bölümünün Bitki Doku Kólture Laboratuvarında ve Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi Bitki Biyoteknolojisi laboratuvarında yürütölmüştür.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana inanan, benden yardımlarını esirgemeyen, her zaman yanımda olan, çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda engin fikirleriyle yetişmeme ve gelişmeme katkıda bulunan saygı değer tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emre İLHAN en içten teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince bana yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU, Prof. Dr. Güleray AÇAR, Doç. Dr. Murat AYDIN, Dr. Arash HOSSEIN-POUR ve Arş. Gör. Selçuk KODAZ'a bana ayırdığı değerli zamanı ve sağladığı imkânlar için sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda yardımcı olan saygı değer Doç. Dr Adem GÜNEŞ ve ekibine sonsuz teőekkürlerimi minnetle sunarım.

Laboratuvar ve tez çalışmalarımda her zaman yanımda olan değerli çalışma arkadaşım Sayın Ayşegöl KASAPOĞLU ve Sayın Yüksek Ziraat Müh. Esmay İĞİDER'e teőekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her anında benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, ilgi ve sevgilerini her zaman hissettiğim aileme hep yanımda oldukları ve bana güvendikleri için sonsuz teşekkür ederim.

**Damla DURULAR**

**Ocak / 2019**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	6
2.1. Antioksidan Mekanizma.....	6
2.1.1. Antioksidan Enzimler.....	6
2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	10
2.1.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS/ROT).....	11
2.2. DNA Hasarı.....	15
2.3. Malondialdehit (MDA).....	16
2.4. Alkali Topraklar.....	16
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	22
3.1. Bitkinin Yetiştirilmesi.....	22
3.1.1. Bitki Materyalinin Temini.....	22
3.1.2. Bitki Materyalinin Çimlendirilmesi.....	22
3.1.3. Stres Ajanının (NaHCO <sub>3</sub> ) Hazırlanması.....	22
3.1.4. Hoagland Çözeltisinin Hazırlanması.....	22
3.1.5. Stres Ajanının Sıvı Ortama Uygulanması.....	23
3.2. Bitki Analizleri.....	24
3.2.1. Bitkide element analizi.....	24
3.2.2. Değişebilir Na oranı.....	24
3.2.3. Bitkilerde biyokimyasal analizler.....	25
3.2.4. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	25
3.3. Moleküler Analiz.....	27
3.3.1. DNA İzolasyonu.....	27
3.3.2. PCR Analizi.....	27
3.3.3. Elektroforez İşlemi.....	28
3.4. Verilerin Değerlendirilmesi.....	29
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	30



4.1. Biyokimyasal Analizler.....	30
4.1.1. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	30
4.1.2. Katalaz.....	32
4.1.3. Peroksidaz (POD).....	35
4.1.4. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	38
4.1.5. Malondialdehit (MDA) .....	41
4.2. Element Analizleri .....	44
4.2.1. Potasyum (K) .....	44
4.2.2. Sodyum (Na) .....	45
4.2.3. Na/K Oranı .....	48
4.2.4. Na elementinin diğer elementler ile ilişkisi .....	50
4.3. Moleküler Analiz .....	51
4.3.1. ISSR Primerlerinin Değerlendirilmesi ve Analizi .....	51
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>65</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>66</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>74</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
$\mu\text{M}$	Mikro molar
$\mu\text{mol}$	Mikromol
$\mu\text{s}$	Mikrosaniye
EU	Enzim ünitesi
g	Gram
kg	kilogram
mM	Milimolar
mmol	milimol
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece

### **Kısaltmalar**

$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
$\text{CO}_3^{-2}$	Karbonat
$\text{HCO}_3^-$	Bikarbonat
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	Sodyum karbonat
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	Sodyum Sülfat
$\text{NaHCO}_3$	Sodyum bikarbonat
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Oksijen anyonu
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Süperoksit anyon radikali
ABA	Absisik asit
APX	Askorbat peroksidaz
AsA	Askorbik asit
ASH	Askorbat
B	Bor
Ca	Kalsiyum
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Kalsiyum Nitrat Tetrahidrat
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum

Cl	Klor
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
CPD	Siklobütan primidin dimerleri
Cu	Bakır
CuSO <sub>4</sub>	Bakır Sülfat
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EC	Elektriksel İletkenlik
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
ESP	Değişebilir Sodyum Yüzdesi
ET	Etilen
EtBr	Etilyum Bromür
Fe	Demir
GB	Glisinbetain
GR	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Oksitlenmiş glutasyon
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	Molibdik Asit
H <sub>2</sub> O	Su
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	Borik Asit
HO <sub>2</sub>	Perhidroksil radikali
ISSR	Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm
JA	Jasmonik asit
K	Potasyum
KNO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Potasyum Nitrat
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
Mg	Magnezyum
MgSO <sub>4</sub>	Magnezyum Sülfat
Mn	Manganez
MnCl <sub>3</sub>	Manganklorit Tetrahidrat
Na	Sodyum

NaCl	Sodyum Klorür
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NBT	Nitroblue tetrazolyum
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	Amonyumdihidrojen Fosfat
Ni	Nikel
O <sub>2</sub>	Oksijen
OH	Hidroksil radikali
OH	Hidroksit
OH	Hidroksit
P5CDH	P5C dehidrogenaz
Pb	Kurşun
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
POD	Gayakol Peroksidaz
Pro	Prolin
ProDH	Pro dehidrogenaz(oksidaz)
RAP	Rastgele arttırılmış polimorfik DNA
RFLP	Kesilmiş parça uzunluğu polimorfizmi
ROO	Peroksi radikali
ROS	Reaktif oksijen türleri
SA	Salisilik asit
SAR	Sodyum Adsopsiyon Oranı
-SH	Sülfhidril
SOD	Süperoksit dismütaz
TBA	Tiobarbitürik asit
Zn	Çinko
ZnSO <sub>4</sub>	Çinko Sülfat

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 ROS ve antioksidan savunma mekanizması .....	7
Şekil 2.1 Glutasyon redüktaz ve hücrel redoks .....	9
Şekil 2.3 Prolin biyosentezi .....	11
Şekil 2.4 Enerji aktarımıyla ROS üretimi .....	12
Şekil 2.5 Antioksidanlar ve ROS arasındaki denge .....	12
Şekil 2.6 Abiyotik streslerle ROS'ların üretimi ve hücre ölümü .....	13
Şekil 2.7 Optimum pH'ya sahip olmayan topraklara bitki yanıtları .....	17
Şekil 4.1 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokularında <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> miktarları .....	32
Şekil 4.2 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokularında <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> miktarları .....	32
Şekil 4.3 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki CAT miktarları .....	35
Şekil 4.4 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki CAT miktarları .....	35
Şekil 4.5 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki POD miktarları .....	38
Şekil 4.6 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki POD miktarları .....	38
Şekil 4.7 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki SOD miktarları .....	40
Şekil 4.8 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki SOD miktarları .....	41
Şekil 4.9 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki MDA miktarları .....	43
Şekil 4.10 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki MDA miktarları .....	43
Şekil 4.11 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki K miktarları .....	45
Şekil 4.12 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki K miktarları .....	45
Şekil 4.13 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki Na miktarları .....	48
Şekil 4.14 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki Na miktarları .....	48
Şekil 4.15 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki Na/K miktarları .....	50
Şekil 4.16 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki Na/K miktarları .....	50

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Tuzlu-alkali toprakların sınıflandırılması .....	18
Çizelge 3.1 Hoagland çözeltilisinin element içerikleri ve miktarları .....	23
Çizelge 3.2 Hoagland çözeltilisinin deneme öncesi ve sonrası ölçülen pH, EC ve Na değerleri.....	24
Çizelge 3.3 Hoagland çözeltilisinin deneme öncesi ve sonrası SAR ve ESP değerleri ....	25
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan ISSR primerlerine ait dizileri ve bağlanma sıcaklıkları .....	28
Çizelge 4.1 Kök ve gövde dokularındaki <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> miktarı üzerine genotipin ve <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozunun etkisi .....	31
Çizelge 4.2 Kök ve gövde dokularındaki katalaz miktarı üzerine genotipin ve <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozunun etkisi .....	34
Çizelge 4.3 Kök ve gövde dokularındaki peroksidaz miktarı üzerine genotipin ve <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozunun etkisi.....	37
Çizelge 4.4 Kök ve gövde dokularındaki süperoksit dismütaz miktarı üzerine genotipin ve <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozunun etkisi .....	39
Çizelge 4.5 Kök ve gövde dokularındaki malondialdehit miktarı üzerine Genotipin ve <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozunun etkisi.....	42
Çizelge 4.6 Kök ve gövde dokularındaki K, Na, Na/K üzerine genotipin ve <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozunun etkisi .....	47
Çizelge 4.7 Kök dokusunda Na elementi ve besin elementleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) ( <b>n = 27</b> ) .....	51
Çizelge 4.8 Gövde dokusunda Na elementi ve besin elementleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) ( <b>n = 27</b> ) .....	51
Çizelge 4.9 Aytın-98 genotipinin kök ve gövde dokularında genomik kalıp stabilite ve polimorfizm oranları .....	53
Çizelge 4.10 Aytın-98 genotipinde ISSR moleküler markörüyle <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozlarında kontrole göre meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları.....	54
Çizelge 4.11 Çetinel-2000 genotipinin kök ve gövde dokularında genomik kalıp stabilite ve polimorfizm oranları.....	56

Çizelge 4.12 Çetinel-2000 genotipinde ISSR moleküler markörüyle <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozlarında kontrole göre meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları .....	57
Çizelge 4.13 Tir genotipinin kök ve gövde dokularında genomik kalıp stabilite ve polimorfizm oranları .....	59
Çizelge 4.14 Tir genotipinde ISSR moleküler markörüyle <b>NaHCO<sub>3</sub></b> dozlarında kontrole göre meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları .....	60



### 1. GİRİŞ

Yaklaşık 3500 çeşidi olan ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) Poaceae ailesinin *Triticum* cinsinin bir üyesidir. Üç farklı diploid genomdan oluşan ekmeklik buğday alloheksaploid olup kendine döllenmiş bir bitkidir. A, B ve D genomlarının donörleri sırasıyla *Triticum urartu* Thuman ex Gandil. (AA, 2n = 14), *Aegilops speltoides* Tausch (BB, 2n = 14) ve *Aegilops tauschii* Coss. (DD, 2n = 14)'dir. (Dvorak et al., 1988, 1993, 1998; Dvorak and Zhang 1990).

Buğday, dünyada kültüre alınmış en önemli bitki olup tahıllar arasında ise 220 milyon ha ile en geniş ekim alanına sahiptir. Ülkemizde ise 7,61 milyon ha ekim alanına sahiptir (FAO, 2018). Dünya nüfusunun yaklaşık %35'inin temel besin kaynağını buğday oluşturmaktadır ve buğday günlük enerji ihtiyacının yaklaşık %20'sini karşılayan bir tahıldır (Scofield ve ark., 2005; Lobell ve Gourdjı 2012; Shiferaw ve ark., 2013). Yapılan kaba hesaplamalara göre insanlığın ihtiyacı olan buğday üretiminin 2050 yılında yeterli miktarda olabilmesi için bugünkü buğday üretiminin her yıl %2 oranında artması gerekmektedir (İlhan, 2013). Küresel iklim değişikliği nedeniyle kuraklık ve yağış rejimindeki değişikliklerle birlikte mevcut tarım alanlarının da son sınırlarına doğru yaklaştığı düşünüldüğünde, buğday tane biyolojisi ve buğday bitkisinin biyolojik mekanizmasının anlaşılması birim alandan alınan verimi artırmada ne kadar büyük bir öneme sahip olduğu daha da ortaya çıkacaktır.

Topraktaki yüksek tuz ve alkali miktarı pek çok bitki türünde büyüme ve gelişmeyi sınırlayıcı faktörler arasındadır (Torbaghan et al., 2017). Bitkiler tuzlu ve alkali topraklarda genellikle karma bir stresle karşı karşıya kalmaktadır (Guan et al., 2008; Li et al., 2010). Dolayısıyla ile bitkinin tuza mı yoksa alkali stresine mi maruz kaldığını iyice araştırmak gerekmektedir. Genellikle tuzlu topraklardaki tuzdan sorumlu bileşik NaCl'dir. Ancak  $\text{HCO}_3^-$  ve  $\text{CO}_3^{2-}$  gibi iyonlar tuzlu ve alkali olan toprakların pH'sını artırmaktadır (Li et al., 2010).

Alkali topraklar genellikle Orta Doğu, Güney Amerika ve Avrupa'nın Akdeniz bölgelerinde, Asya, Afrika ve Avustralya gibi bölgelerin kurak ve yarı kurak alanlarında bulunmaktadır. Ülkemizdeki çorak arazilerin ölçümleri ile ilgili genel duruma



## 1. GİRİŞ

---

bakıldığında Türkiye yüzölçümünün %2'sine, toplam işlenen tarım arazilerinin %5.48'ine, ekonomik olarak sulanabilen 8.5 milyon hektar arazinin %17'sine eşittir. Ayrıca toplam çorak alanların %74.2'si tuzlu, %25.5'i tuzlu-alkali ve %0.5'i ise alkali topraklardan oluşmaktadır (Sönmez, 2004).

Bitkiler, biyotik (simbiyotlar, parazitler, patojenler, herbivorlar ve rakipler) ve abiyotik (sıcaklık, nem, ışık, su, besin elementleri, CO<sub>2</sub>, rüzgâr, iyonize radyasyon ve kirleticiler) çevresel faktörleri içeren çeşitli ve karmaşık etkileşimlerle uğraşmak zorundadır. Evrim sürecinde, bitkiler stresli olaylara uyum sağlamaları ve hayatta kalmalarını sağlayan özel mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere maruz kalması, fizyolojik süreçleri içeren bitki metabolizmasında bozulmaya yol açar (Heil and Bostock 2002; Massad et al. 2012; Rejeb et al. 2014) ve bu da seçim değerinde ve sonuçta üretkenlikte bir azalmaya neden olur (Shao et al. 2008). Abiyotik stresin en önemli özelliklerinden biri büyümede büyük bir etkiye sahip olmasıdır ve tarladaki ciddi kayıplardan sorumludur. Meydana gelen verim kayıpları çoğu bitki türünde % 50'ye ulaşabilir (Wang et al. 2003). Dahası, biyotik stres, bitkiler üzerinde güçlü bir baskı oluşturmakta ve patojen veya herbivor saldırısıyla da hasara katkıda bulunan ek bir sorundur (Maron and Kauffman 2006; Brown and Zangerl 2002; Rejeb et al. 2014).

Bitki savunmasındaki hayati bir adım, strese yanıt verebilmek için stresin zamanında algılanmasıdır. Tanımadan sonra, bitkilerin yapısal bazal savunma mekanizmaları (Andreasson and Ellis 2010), bir stresten diğerine değişen karmaşık savunma kaskadlarının aktivasyonuna yol açar (Abou Qamar et al. 2009; Chinnusamy et al. 2004). Bitkiler biyotik ve/veya abiyotik strese maruz kalmalarının ardından, spesifik iyon kanalları ve kinaz kaskadları (Fraire-Velázquez et al. 2011) aktive eder, reaktif oksijen türleri (ROS), absisik asit (ABA), salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA) ve etilen (ET) gibi bitki hormonlarını biriktirir ve genetik mekanizma yeniden programlanarak, stresin neden olduğu biyolojik hasarı en aza indirmek için gerekli olan savunma reaksiyonlarıyla ve bitki toleransında bir artışla sonuçlandırır (Rejeb et al. 2014).

## 1. GİRİŞ

---

Son yıllarda araştırmalar, eř zamanlı strese yanıtın çok daha karmaşık bir senaryoya yol açmasına (Fujita et al. 2006) rağmen, abiyotik veya biyotik strese karşı bitki tepkilerini anlama üzerine yoğunlaşmıştır (Qin et al. 2011). Stresin algılanmasından hücrelerdeki son yanıt kadar, bitkiler, strese bağlı olarak çeşitli sinyal yollarını kullanırlar. Bitkilerin aynı anda birden fazla stresle karşı karşıya kaldıkları durumda spesifik bir şekilde tepki verdikleri görölmektedir ve yanıt, bitkinin tek tek streslere tepkisine göre tahmin edilemez (Atkinson and Irwin 2012). Çoklu stresler üzerinde yapılan araştırmalar, doğal koşulları simüle etmeye çalışmaktadır. Ancak tarladaki koşullar kontrol edilmemekte ve stres, bitkilerin temel stres savunma yanıtını güçlü bir şekilde etkileyebilmektedir (Rejeb et al. 2014). Ayrıca, bitkiler tarla koşullarına ve bitkinin gelişim dönemine bağlı olarak farklı derecelerde hassasiyet gösterebilirler (Mittler and Blumwald 2010). Stresin algılanmasından sonra oluşan savunmalar arasında çeşitli etkileşimler meydana gelebilir. Bunlar, streslerin spesifik kombinasyonuna ve hatta aynı andaki etkisine bağlıdır (Rasmussen, et al. 2013). Eşzamanlı streslerin, spesifik bir stres türüne daha fazla veya daha az hassasiyeti içeren antagonistik, sinerjistik veya eklemeli olup olmadığı açık değildir (Asselbergh et al. 2008). İki stresörün kombinasyonu, bitkiler üzerinde negatif ve eklemeli bir etkiye sahip olabilir ve bu yüzden ikinci stres, daha büyük hasara yol açan faktördür. Öte yandan, streslerin kombinasyonu ayrıca bitkilerdeki antagonistik tepkilere de yol açabilir (Rejeb et al. 2014).

Tuzluluğun neden olduğu ozmotik stres sonucunda sitoplazmanın ozmotik potansiyeli, prolin, glisin betain ve sakkaroz gibi organik bileşiklerin birikimiyle sağladığını ortaya koymaktadır (Taban vd. 1999). Bitkilerde Na yapraklarda birikerek klorofil moleküllerindeki Mg ile yer değiştirmektedir ve aynı zamanda klorofillerin yapısını bozarak klorozis'e neden olmaktadır. Bir stres proteini olan prolinin hücrelerde üretimi ve birikimi artmaktadır (Avcioğlu vd. 2003). Tuz stresi koşullarında bitkiler, prolin üreterek hücrenin osmotik basınçlarını yükseltmektedir ve bu sayede besin ortamında ortaya çıkan yüksek osmotik basıncı dengesini sağlayıp yaşamlarını sürdürebilmektedir. Tuz stresinin oluştuğu ortamda, hücre zarı yüzeyine biriken NaCl moleküllerinin iyonizasyonu sonucu oluşan Cl iyonları pH'yı hızla düşürmektedir. Sonuç olarak zar proteinlerinin hidrojen bağları kopmakta ve proteinlerden, protein pompalarından K, Ca gibi iyonlar da koparak ortama dağılmaktadır, bunun sonucu

## 1. GİRİŞ

---

olarak da zarar zararlanması oranında ortamda serbest iyon konsantrasyonuyükselmektedir (Öztürk vd. 2002).

Çevresel stres, hücrelerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikmesine neden olur ve bu da bitkilerde ciddi oksidatif hasara neden olabilir. Bu durum bitkide büyümeyi ve tane verimini önler. ROS üretimi ve atılması arasındaki denge genellikle redoks homeostazi olarak bilinir. Bununla birlikte, ROS üretiminde hücrel temizleme kapasitesini bastırıldığında yani, hücrel redoks homeostazını dengesiz hale getirdiğinde, oksidatif stres olarak bilinen ROS'ların geçici süreliğine birikimine sebep olur (Mullineaux et.al. 2010; Sharma et. al. 2012).

Tuz stresi, besin eksikliği, hava kirleticileri, su mevcudiyeti, kuraklık, ağır metaller, yüksek sıcaklıklar, toprak sodikliği ve tuzluluğu gibi elverişsiz çevre koşullarına bitkilerin maruz kalması ROS'ların üretilmesini artırabilir. Bitki hücreleri, kloroplast, mitokondri ve peroksizom gibi organellerinde üretilen antioksidan savunma sistemlerini kullanarak bitkiyi toksik oksijen ara ürünlerine karşı korur. Araştırmalar çeşitli streslere karşı hücrel antioksidan mekanizmanın teşvik edilmesi üzerine kurulmaktadır. Antioksidan savunma mekanizmasının bileşenleri enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenir. Enzimatik antioksidanlar SOD (Süperoksit dismutaz), CAT (Katalaz), APX (Askorbat peroksidaz), MDHAR (monodehidroaskorbat redüktaz), DHAR (dehidroaskorbat redüktaz) ve GR (Glutasyon peroksidaz) iken, enzimatik olmayanlar ise GSH (Glutasyon), AA (Askorbik asit) (her ikisi de suda çözülebilir), karotinoidler ve tokoferoller (yağda çözülebilir)'dir (Büyük ve ark., 2012; Gill and Tutajeva, 2010; Şahin, 2009).

Moleküler markörler DNA seviyesinde genotipler arasındaki farklılıkları ortaya çıkararak, genetik kaynakların karakterizasyonu için doğrudan, daha güvenilir ve etkili bir yöntemdir. Bitkilerde kullanılan mevcut moleküler markörler arasında DNA hibridizasyonuna dayalı ve PCR temelli markörler olarak iki grupta toplanmaktadır. Hibridizasyona dayalı teknik RFLP olurken, PCR tabanlı markörler ise RAPD, ISSR, SSR ve SNP'tir. PCR tabanlı markörler daha kolay, daha ucuz ve daha hızlı oldukları için daha yaygın olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, RAPD ve ISSR dominant markörler iken, SSR'ler ise kodominant markörlerdir. Moleküler markörler genom

## 1. GİRİŞ

---

haritalama, gen etiketleme, genetik çeşitliliğin tahmini, çeşit tanımlama ve markör destekli seleksiyonda kullanılırlar (Sonnante et al. 1994; Mall and Chawla 2014).

ISSR tekniği, daha uzun primer dizisine ve primerlerin daha yüksek bağlanma sıcaklığına sahip olması nedeniyle reaksiyonları daha yüksek kesinlikte olup ve RAPD'den daha güvenilir, hızlı ve kolay bir metottur (Sorrentino et al. 2017). ISSR primerleri bir genomda tekrarlar arasındaki mesafeyi düzenleyen delesyon, insersiyon veya translokasyona sahip olan ya da dizi tekrarını kaybettiğinde polimorfizm üretir (Vijayan 2005).

Bu çalışmada buğday genotiplerinin erken gelişim döneminde alkali koşullara verdiği yanıtın hem antioksidan enzim aktiviteleri ve element analizleriyle hem de moleküler markörlerle stresin oluşturduğu DNA hasarının tespit edilmesi amaçlanmaktadır.

### 2. KAYNAK ÖZETLERİ

#### 2.1. Antioksidan Mekanizma

Bitkilerin antioksidan savunma mekanizması, çeşitli biyotik ve abiyotik stres koşulları altında aşırı üretilen toksik ROS'ları uzaklaştırmak için görev alır. Antioksidan mekanizma aşağıdaki şekilde gruplandırılabilir (Tanotra 2017; Koç 2010).

##### 2.1.1. Antioksidan Enzimler

2.1.1.1. Askorbat peroksidaz

2.1.1.2. Katalaz

2.1.1.3. Süperoksit dismutaz

2.1.1.4. Glutatyon redüktaz

2.1.1.5. Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)

##### 2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.1.2.1. Askorbat

2.1.2.2. Prolin (ozmolit ve antioksidan olarak)

##### 2.1.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

2.1.3.1.  $H_2O_2$

2.1.3.2. Süperoksit anyonu

2.1.3.3. Hidroksil iyonu

##### 2.1.1. Antioksidan Enzimler

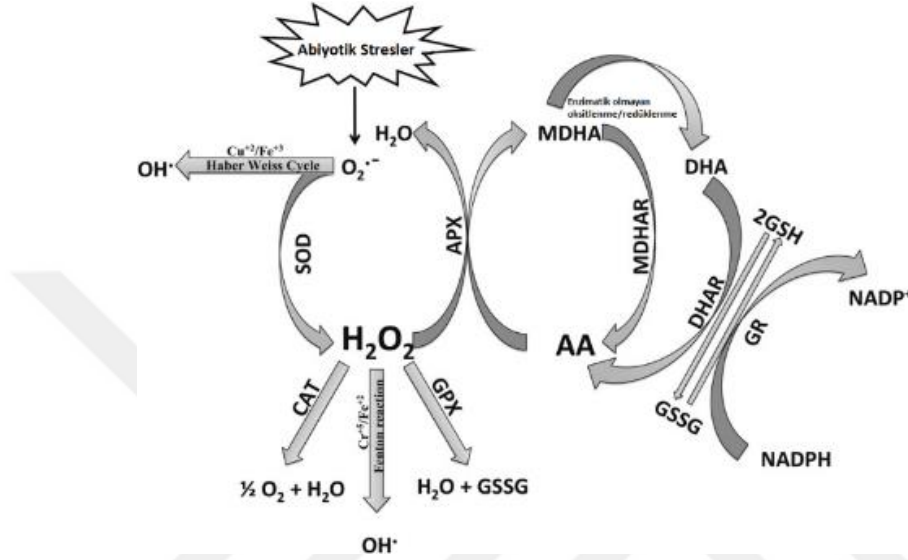
Farklı stresler altında, antioksidan enzimler bitkilerin hayatta kalabilmeleri için miktarlarında değişiklikler gösterirler.

##### 2.1.1.1. Askorbat peroksidaz (APX; EC: 1.11.1.11)

Askorbat peroksidaz enzimleri özel bir elektron vericisi olarak askorbati kullanarak  $H_2O_2$ 'nin suya dönüştürülmesini katalizlemektedir. APX, bitki hücrelerindeki önemli bir ROS detoksifikasyonlama sistemi olan askorbat–glutatyon

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

döngüsünün bir bileşenidir. Farklı APX izoformları (tAPX, gmAPX, sAPX, cAPX) sitozol, peroksisom, kloroplast ve mitokondri gibi farklı alt hücrel bölümlerle ilişkilidir. APX, katalaz ve peroksidaz gibi diğer  $H_2O_2$  detoksifiye edici enzimlerle karşılaştırıldığında daha yüksek afiniteye sahiptir (Caverzan et al 2012). Stres süresince ROS'ların yönetiminde etkili bir rol oynamaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 ROS ve antioksidan savunma mekanizması (Gill and Tutajeva, 2010 değiştirilerek alınmıştır).

### 2.1.1.2. Katalaz (CAT; EC: 1.11.1.6)

Katalaz oksijeni kullanan neredeyse tüm yaşayan organizmaların bir antioksidan enzimidir. Bu organizmalar bakteriler, bitkiler ve hayvanlardır. Katalaz dört polipeptit zincirli bir tetramerdir. Dört porfirin hem (demir) grubu içerir. Herhangi bir redüktaz kullanmaksızın  $H_2O_2$ 'yi su ve oksijene dönüştürür. Katalaz oksijen türleriyle (ROS) oluşan oksidatif stresten hücreleri korur. Tüm enzimler arasında katalazın devir sayısı en yüksek olanıdır, bir katalaz molekülü dakikada  $H_2O_2$ 'yi  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye yaklaşık 5 milyon moleküle dönüştürebilir. Katalaz yağ asitleri, fotorespresyon ve pürin metabolizmasının  $\beta$ -oksidasyonunda üretilen  $H_2O_2$ 'nin uzaklaştırılmasını sağlar ve aynı zamanda askorbat glutatyon döngüsünün metabolitlerini uzaklaştırır (Dat et al 2000). Katalaz aktivitesi su stresi altında 2 katına çıkar. Katalaz peroksisomda lokalize olmuştur. Yine sitozol, kloroplast ve mitokondri gibi diğer organellerde de lokalize olmuştur. Angiospermlerde üç katalaz geni bulunmuştur. Bunlardan CAT1 polen ve tohumlarda, CAT2 fotosentetik dokularda, kökler ve tohumlarda, CAT3 ise

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

---

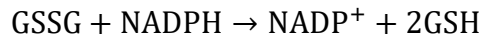
mitokondride üretilip yapraklar ve vasküler dokularda ifade olmaktadır (Tanotra 2017; Zhang et al 2015; Das and Roychoudhury 2014; Mhamdi et al 2010).

### 2.1.1.3. Süperoksit dismutaz (SOD; EC: 1.15.1.1)

Süperoksit dimutazlar ROS'lara karşı hücre sel savunma mekanizmalarında anahtar bir rol oynamaktadır ve aerobik organizmalarda yaygın olarak bulunan enzimlerden biridir. Bir hücre içinde SOD'lar ROS'lara karşı ilk savunma hattını oluşturur. Aktivitesi, iki Haber-Weiss reaksiyon substratı olan  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$ 'nin reaktif miktarlarını ayarlar ve yüksek oranda reaktif olan ve membran, protein ve DNA'da ciddi hasara neden olabilen OH radikal oluşumu riskini azaltır (Koyro et al., 2012). Taşımış olduğu metal kofaktörlerine bağlı olarak 4 grupta toplanır: Fe SOD, Mn SOD, Zn SOD ve Ni SOD. Fe SOD'lar temelde kloroplastta, Mn SOD'lar mitokondri ve peroksizomlarda ve Cu SOD'lar ise sitozol, kloroplast, peroksizomlar ve apoplastta bulunmaktadır (Gill and Tuteja 2010; Abreu and Cabelli 2010).

### 2.1.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR; EC: 1.6.4.2)

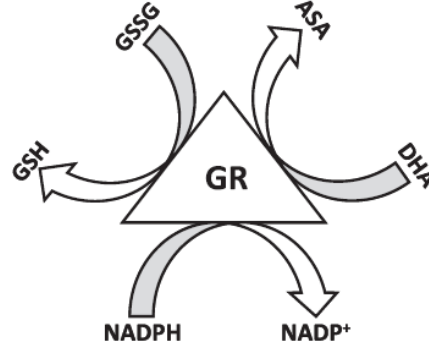
Glutasyon redüktaz hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunan bir flavo-protein oksidoredüktazdır (Romero-Puertas et al. 2006). Askorbat (ASH)–indirgenmiş glutasyon (GSH) döngüsünün potansiyel bir enzimi olup, GSH'ın indirgenmiş durumunu sürdürerek ROS'lara karşı savunma sisteminde önemli bir rol oynamaktadır. Çoğunlukla kloroplastta bulunmasına karşın mitokondri ve sitozolde de bulunmaktadır. GR, GSSG'nin disülfid bağının NADPH bağımlı reaksiyonunu katalize ettiği ve bu nedenle GSH havuzunu koruduğu için büyük bir öneme sahiptir. GR, bitkilerde birçok metabolik düzenleyici ve antioksidatif süreçte yer alan bir molekül olan GSH'nin indirgenmesini katalizler (Gill and Tuteja 2010) (Şekil 2.2).



Aslında, GSSG, GR tarafından GSH'ye geri dönüştürülebilir bir disülfid köprüsü ile bağlanan iki GSH'den oluşur. GR, oksidatif strese karşı savunmada yer alırken, GSH, ASH-GSH döngüsüne katılımı, sülfhidril (-SH) grubunun korunmasını ve

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

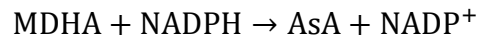
GST'ler için bir substratı içeren hücre sistemi içinde önemli bir rol oynamaktadır. GR ve GSH, çeşitli stres altındaki bir bitkinin toleransının belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Rao and Reddy, 2008; Rao et al. 2006).



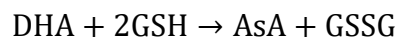
Şekil 2.1 Glutatyon redüktaz ve hücrel redoks (Gill and Tutajeva, 2010 alınmıştır)

2.1.1.5. Monohidroaskorbat redüktaz (MDHAR; EC: 1.6.5.4) ve Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR; EC:1.8.5.1)

MDHAR ve DHAR redüktantları NAD(P)H ve GSH'yi kullanarak askorbatın redoks döngüsünden sorumludurlar. MDHAR ve DHAR, askorbat-glutatyon döngüsüne katılır. MDHAR aktivitesi hafif stres altında artarken, DHAR aktivitesi herhangi bir stres seviyesinde artar. MDHAR ve DHAR, askorbik asidin üretiminden sorumlu olduğundan, antioksidan savunmada önemli rol oynamaktadır. MDHAR, indirgeyici bir madde olarak NAD(P)H'yi kullanarak monodehidroaskorbat (MDHA)'dan askorbat üretir (Das and Roychoudhury 2014; Hassanuzzaman et al 2011).



Vasküler bitkilerde, MDHAR sitozol, kloroplast, mitokondri ve peroksizomda bulunur (del Río et al. 2002; Lunde et al. 2006). DHAR dehidroaskorbatı (DHA) AsA'ya indirgemek için elektron vericisi olarak indirgenmiş glutatyonu kullanır (Eltayeb et al 2007, Das and Roychoudhury 2014).





## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

---

### 2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

#### 2.1.2.1. Askorbat

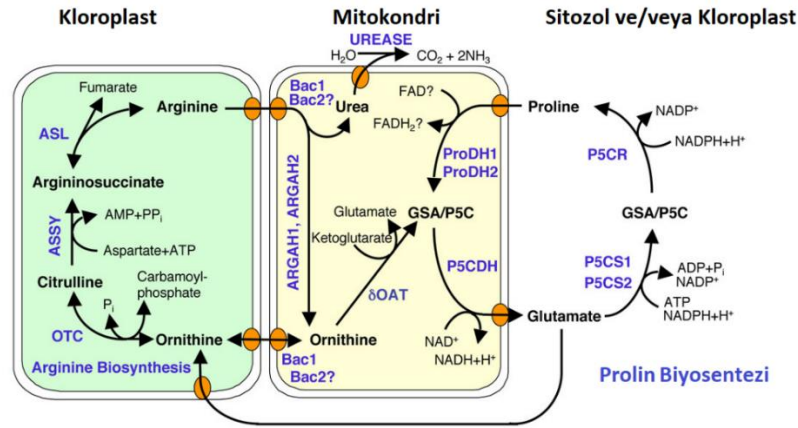
APX reaksiyonunda bir redüktant olarak askorbat süperoksit anyon radikallerinin dismutasyonu ile oluşan  $H_2O_2$ 'nin detoksifikasyonuna yardım eder. Askorbat glutatyonla ve fotoresprasyonla üretilen ROS türlerinin artışını önleyen birkaç enzimatik antioksidanla benzer bir fonksiyona sahiptir. Singlet oksijen ( $^1O_2$ ) ve hidroksil radikali (OH) askorbatın yardımıyla detoksifiye olurlar. Bir antioksidanla birlikte askorbat viyolaksantin de-epoksidaz enziminin kofaktörüdür. Aynı zamanda abiyotik strese maruz kalan bitkilere dışardan uygulanan en yararlı büyüme düzenleyicilerinden biridir. Askorbik asidin hücresel düzeyleri karmaşık biyolojik savunma mekanizmalarının aktivasyonu ile ilişkilidir. Genelde vitamin C olarak bilinen askorbik asit (AsA) hücreleri oksidatif stresten koruyan suda çözülebilir enzimatik olmayan bir antioksidandır. Antioksidan rolünün yanında aynı zamanda farklı rolleri de vardır. Antioksidan savunma sistemi, foto-koruma, fotosentez ve büyüme düzenleyicisi gibi pek çok fonksiyona da sahiptir (Blokhina et al 2003; Huang et al 2005; Fatma et al 2009; Tanotra 2017).

#### 2.1.2.2. Prolin

Bitkiler su alımını kolaylaştırmak için tuzluluk ve kuraklığa yanıtta glisinbetain (GB) ve prolini (Pro) biriktirirler. Bu şartlar altında uyumlu çözücüler vardır. Stres koşullarında bu ozmolitler ROS birikiminin artan düzeylerine karşı hücreleri korurlar. Bir ozmolit olan prolin aynı zamanda güçlü bir antioksidan olarak da kabul edilmektedir (Tanotra 2017). Stres süresince prolin koful ve sitozolde birikir (Aubert et al 1999, McNeil et al 1999). Prolin  $^1O_2$  veya  $OH^-$  tarafından neden olunan hasarlara karşı bitki hücrelerini korumaktadır. Bitkilerde,  $\Delta^1$ -pirrolin-5-karboksilat (P5C) yoluyla L-glutamik asitten L-Pro'nun sentezi  $\Delta^1$ -pirrolin-5-karboksilat sintaz (P5CS) ve  $\Delta^1$ -pirrolin-5-karboksilat redüktaz (P5CR) enzimlerinin aktivitesiyle katalizlenir. Diğer taraftan mitokondriyal enzimler Pro dehidrogenaz (oksidaz) (ProDH) ve P5C dehidrogenaz (P5CDH) L-Pro'yu P5C yoluyla L-Glu'ya metabolize eder (Verbruggen and Hermans 2008). Serbest Pro'nun osmoprotektan, protein stabilizörü, metal şelatörü,

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

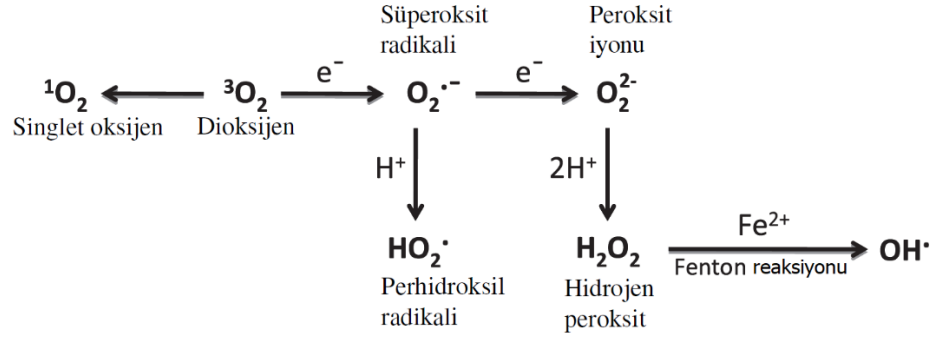
LPO inhibitörü ve OH ve  $^1O_2$  uzaklaştırılması önerilmiştir (Şekil 2.3). Sorbitol, mannitol, myo-inositol ve Pro, OH $^*$  uzaklaştırma kapasitesi için test edilmiştir ve Pro'nun etkin bir OH toplayıcısı olarak ortaya çıktığı bulunmuştur. Bu nedenle, Pro sadece redoks sinyallemede önemli bir molekül değil, aynı zamanda algleri de içeren tüm bitkilerde tuz, metal ve dehidrasyon stres koşulları altında oluşan ROS'ların etkili bir baskılayıcısıdır (Smirnoff and Cumbes 1989; Saradhi 1991; Ashraf and Foolad 2007; Trovato et al. 2008; Gill and Tutajeva, 2010) .



Şekil 2.3 Prolin biyosentezi (Anonymous 2019)

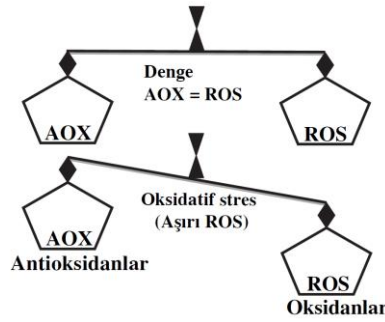
### 2.1.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS/ROT)

Reaktif oksijen türleri başlangıçta aerobik metabolizmanın ürünleriyle toksik olarak tanımlanmıştır. ROS bitkilerde sinyal molekülü olarak önemli bir rol oynar. ROS sinyalleme büyüme, gelişme ve özellikle biyotik ve abiyotik stres etmenlerine yanıt gibi pek çok işlevi düzenler. ROS üyeleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve  $^1O_2$  gibi radikal olmayanlar ve O<sub>2</sub> $^{\cdot-}$  ve OH $^*$  gibi serbest radikallerdir. Süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, gayakol peroksidaz, glutatyon-S-transferaz, katalazdan oluşan enzimatik bileşenler ve askorbik asit, indirgenmiş glutatyon, alfa-tokoferol, karotinoidler, fenolikler, flavonoidler ve prolinden oluşan enzimatik olmayan bileşenler çevresel stresler altında bitkilerdeki redoks homeostaziyi sürdürmeye yardım eden antioksidan mekanizmasının iki kolu olabilirler (Tanotra 2017) (Şekil 2.4). ROS kloroplast, mitokondri ve peroksizomlar gibi farklı hücre bileşenlerinde aerobik metabolizmayla sürekli üretilir. Son dönemlerde apoplastta da üretildiği bildirilmektedir (Jubany-Marí et al 2009, Roychoudhury et al 2012).



Şekil 2.4 Enerji aktarımıyla ROS üretimi (Gill and Tutajeva, 2010 değiştirilerek alınmıştır)

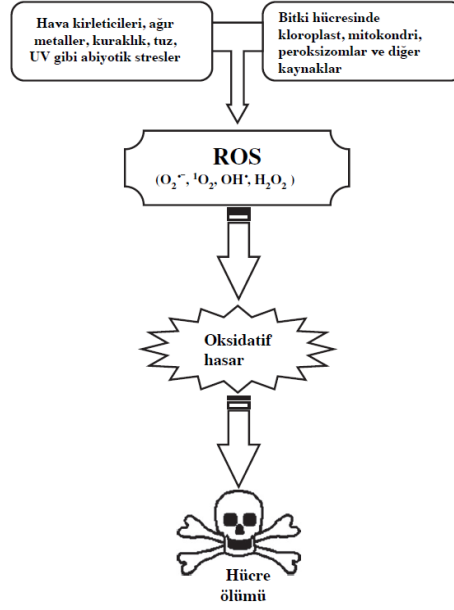
ROS molekülleri çeşitli antioksidatif savunma mekanizmaları tarafından uzaklaştırılır (Foyer et al. 2005). ROS'ların üretimi ve atılması arasındaki denge, tuzluluk, UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, aşırı sıcaklıklar, besin eksikliği, hava kirliliği, herbisitler ve patojen atakları gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından bozulabilir (Şekil 2.5). Dengedeki bu bozukluklar hücre yapılarına önemli hasara neden olabilen ROS'un hücre içi seviyelerinde ani artışlara yol açar ve bitki dokularında tüketilen oksijenin %1-2'sinin ROS ürettiği tahmin edilmektedir



(Bhattacharjee 2005).

Şekil 2.5 Antioksidanlar ve ROS arasındaki denge (Gill and Tutajeva, 2010 değiştirilerek alınmıştır)

Çeşitli reaksiyonlarla,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{OH}^{\cdot}$  ve diğer ROS oluşumuna yol açar.  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  ${}^1\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^{\cdot}$ ,  $\text{OH}^{\cdot}$ ,  $\text{ROOH}$ ,  $\text{ROO}^{\cdot}$  ve  $\text{RO}^{\cdot}$  içeren ROS, yüksek oranda reaktif ve toksiktir. DNA, karbonhidratlar, lipitler ve proteinlerin hasarlarına neden olarak hücrenin ölümüyle sonuçlanır (Şekil 2.6).

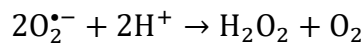


Şekil 2.6 Abiyotik streslerle ROS'ların üretimi ve hücre ölümü (Gill and Tutajeva 2010 alınmıştır)

Çeşitli çevresel streslerin bir sonucu olarak ROS birikimi, dünya çapında tarımsal üretimdeki azalmanın başlıca nedenidir (Gill and Tutajeva, 2010.) ROS, nükleik asit hasarları, proteinlerin oksitlenmesi ve lipit peroksidasyonu (LPO) gibi pek çok hücre fonksiyonunu etkilemektedir. ROS'ların zarar verici, koruyucu veya sinyalleme faktörleri olarak hareket edip etmeyeceğinin, ROS üretimi ile doğru yer ve zamanda uzaklaştırılması arasındaki hassas dengeye bağlı olduğuna dikkat etmek önemlidir (Gratão et al. 2005).

### 2.1.3.1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hidrojen Peroksit)

O<sub>2</sub><sup>•-</sup>'nin univalent indirgenmesiyle hidrojen peroksiti (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) üretir. O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, OH<sup>•</sup> ve <sup>1</sup>O<sub>2</sub> gibi diğer ROS'lar çok daha kısa yarılanma ömrüne (2-4 µs) sahipken, orta derecede reaktif bir ROS olan hidrojen peroksit nispeten uzun bir yarılanma ömrüne (1 ms) sahiptir (Gill and Tutajeva 2010).

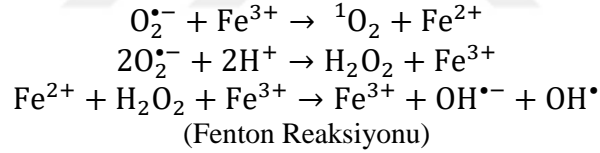


## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin dismutasyonu düşük pH şartlarında enzimatik olmayan şekilde veya SOD'la enzimatik olarak meydana gelir (Das and Roychoudhury 2014). Bitkilerdeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> iki şekilde davranır: düşük konsantrasyonlarda bitkiye yararlı, yüksek konsantrasyonlarda ise bitkiye hasar verir. ROS'lar düşük hücre içi konsantrasyonlarda yaşlanma, fotorespirasyon, fotosentez, stoma hareketleri, hücre döngüsü, büyüme ve gelişme gibi zorunlu fizyolojik süreçler için düzenleyici bir sinyal olarak davranır (Tanotra 2017).

### 2.1.3.2. Süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

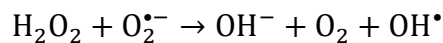
O<sub>2</sub>'nin kısmi indirgenmesinden dolayı, bu ROS kloroplastta sürekli üretilmektedir. Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) temel olarak tilakoidlerde PSI (Fotosistem I)'de siklik olmayan elektron taşıma sistemi (ETS) süresince oluşturulur. Normalde sitokrom c oksidaz O<sub>2</sub> ile etkileşime girdiğinde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretilir. Genelde oluşturulacak olan ilk ROS'tur. Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) ROS ailesinin diğer üyelerini üretmeden sorumludur.



O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, kısa bir yarılanma ömrüne (2 – 4 µs) sahip olduğundan aşırı bir hasara neden olmaz. Kendini daha reaktif ve toksik olan OH<sup>•</sup> ve <sup>1</sup>O<sub>2</sub>'ye dönüştürerek membran lipid peroksidasyonuna neden olur (Puntarulo et al. 1988).

### 2.1.3.3. Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>)

Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>) bilinen en reaktif ve toksik ROS'tur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub><sup>•-</sup> arasında Fenton reaksiyonuyla nötr pH'da üretilen hidroksil radikali Fe (Fe<sup>2+</sup> ve Fe<sup>3+</sup>) gibi geçiş metalleriyle katalizlenen hidroksil radikalinin üretiminden sorumludur.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

---

Lipid peroksidasyonu (LPO), protein hasarı ve membran parçalanmasıyla farklı hücrel bileşenlere hasardan da sorumludur. Bu toksik radikal aşırı miktarda birikirse bu toksik radikali uzaklaştırabilecek her hangi bir enzimatik sistemin olmamasından dolayı hücre ölümüne neden olabilir (Vranová et al. 2002; Pinto et al 2003).

### 2.2. DNA Hasarı

Bitki genomu çok kararlı olmasına rağmen, DNA'ya hasar verebilen biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kalmasından dolayı DNA'sı hasar görebilir ve bu nedenle genotoksik stres meydana gelir (Tuteja et al. 2009). DNA'da endojen olarak gelişen hasar, reaktif metabolitler ( $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$  ve  $\text{NO}^\bullet$ ) tarafından üretilen "spontan DNA hasarı" olarak bilinir. Yüksek ROS seviyeleri hücre yapılarına, nükleik asitlere, lipidlere ve proteinlere zarar verebilir.  $\text{OH}^\bullet$  en çok reaktif ve DNA molekülünün tüm bileşenlerinde hasara neden olduğu, hem pürin hem de pirimidin bazlarına ve ayrıca deoksiriboz omurgasına zarar verdiği bildirilmiştir,  $^1\text{O}_2$  temelde guanine saldırır ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2^{\bullet-}$  reaksiyona girmez (Gill and Tutajeva 2010). ROS, alkilasyon ve oksidasyon gibi baz delesyonu, pirimidin dimerleri, çapraz bağlar, zincir kırıkları ve baz modifikasyonunu içeren DNA'da dahil olmak üzere neredeyse tüm hücrel makromoleküllere zarar verme yeteneğine sahiptir. DNA hasarı, protein sentezi, hücre zarı tahribatı ve fotosentetik proteinlere zarar verme gibi çeşitli fizyolojik etkilerle sonuçlanır, bu da tüm organizmanın büyümesini ve gelişmesini etkiler. DNA hasarı, tüm organizmanın büyüme ve gelişmesini etkileyen fotosentetik proteinlerde hasar, indirgenmiş protein sentezi ve hücre membran yıkımı gibi çeşitli fizyolojik etkilerle sonuçlanır. DNA hasarı, transkripsiyonun ya başlatılması ya da durdurulması, sinyal aktarım yollarının indüksiyonu, replikasyon hataları, hücre membranı yıkımı ve genomik instabilite ile sonuçlanabilir (Britt 1999; Cooke et al. 2003). UV-B'ye maruz kalmanın neden olduğu önemli bir tip DNA hasarı, pirimidinler arasındaki dimerlerin oluşumudur. Yani UV foto ürünleri temelde siklobütan pirimidin dimerleri (CPD'ler) ve 6-4PPs dimerlerinden oluşur (Gill and Tutajeva 2010).

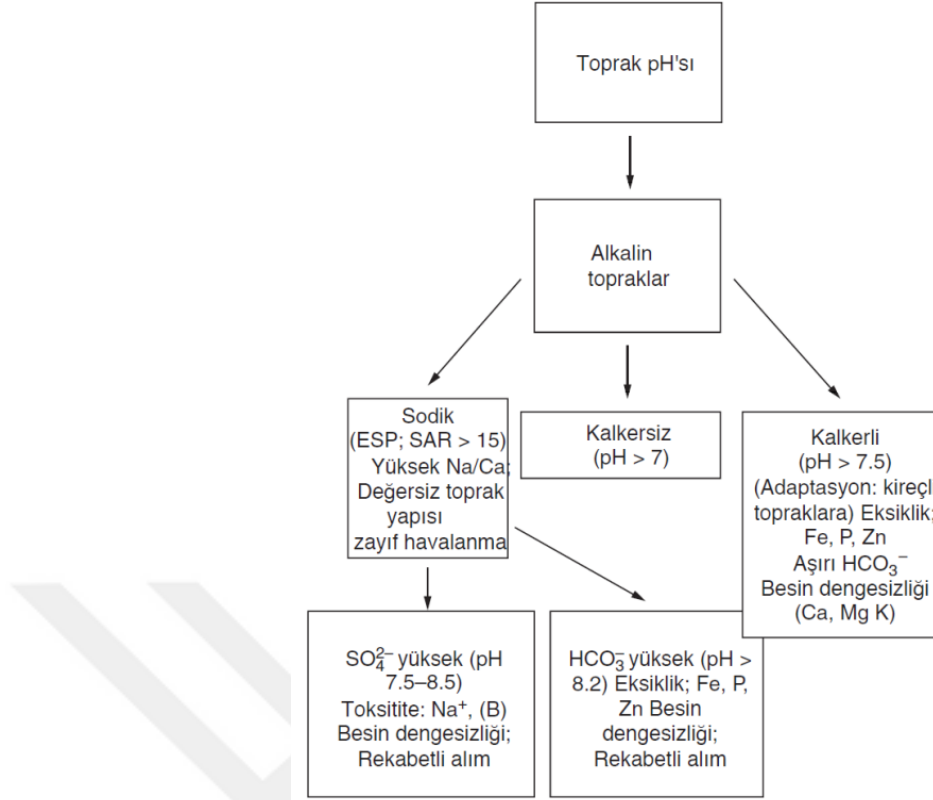
### 2.3. Malondialdehit (MDA)

Stres koşulları altında, bitkide üretilen reaktif oksijen türleri (ROS), membran lipid peroksidasyonunda bir artışa, zar yapısı ve fonksiyonuna zarar vererek plazma membranında değişikliklere neden olur. Malondialdehit (MDA), güçlü sitotoksositeye sahip membran lipid peroksidasyon ürünlerinden biridir ve MDA içeriği, membran lipid peroksidasyon seviyesini ve plazma membranı hasarını yansıtmaktadır. MDA içeriğini belirlemek için tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi kullanılmaktadır (Kong ve ark., 2016; Ayala ve ark., 2014).

### 2.4. Alkali Topraklar

Alkali tuzlar ( $\text{NaHCO}_3$  ve  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ve nötral tuzlar ( $\text{NaCl}$  ve  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) tarımsal üretimde kullanılan ve nispeten tuza ve alkaliliğe hassas olan bitkilerin büyüme, fizyoloji ve metabolizmalarını etkileyen stresin iki ayrı tipidir (Lunde et al. 2007). Yapılan çalışmaların çoğunluğu tuzluluk üzerine olup, alkali stresi bitkilerde tuz stresinin oluşturduğu etkiden daha fazla tahrip edicidir. Ancak bitkilerin bu strese karşı yanıt mekanizması hala bilinmemektedir (Hu et al. 2015).

Büyüme ve gelişme dönemlerinde bitkiler toprakta tuz stresine maruz kaldıklarında sadece dehidrasyon, iyon toksisitesi ve oksidatif stresleri içeren birbirine bağımlı kısıtlamalarla değil, aynı zamanda metabolik düzensizlikler ve besin dengesizliği ile de karşı karşıya kalmaktadır (Guo et al. 2009; Hu et al. 2015). Diğer taraftan bitkiler alkali stresine maruz kaldıklarında ise ozmotik ve iyon stresine ek olarak yüksek pH stresine de karşılaşırlar. Bitki köklerini çevreleyen yüksek pH şiddetli olarak toprak yapısını etkiler, iyon alımını engeller, hücreler arası iyon dengesini bozarak fotosentez ve büyümeyi de engellemektedir (Shi and Yin 1993; Yang et al. 2007) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 Optimum pH'ya sahip olmayan topraklara bitki yanıtları (Läuchli and Grattan, 2012'den değiştirilerek alınmıştır)

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Tuzluluk Laboratuvarı 1954 yılında toprakları tuzluluk içeriklerine göre sınıflandırmıştır (Deliboran ve Şavran, 2015). Laboratuvar sınıflandırmada pH, EC (elektriksel iletkenlik), ESP (Değişebilir Sodyum Yüzdesi) (denklem 2.1) ve SAR (Sodyum Adsorpsiyon Oranı) (denklem 2.2) gibi parametreleri kullanmıştır. Yapılan sınıflandırmaya göre topraklar üç gruba ayrılmıştır: Tuzlu, tuzlu-alkali ve tuzsuz alkali topraklar. Bu sınıflandırmaya göre toprak tuzluluğu ve alkaliliği üzerinde pH, EC, ESP ve SAR değerlerinin önemli parametreler olduğu bildirilmiştir (Budak 2012; Deliboran ve Savran 2015). Bu değerlerle ilgili göstergeler Çizelge 2.1'de verilmiştir.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$  oranları ESP değerinin hesaplanmasında kullanılmaktadır.

$$\text{SAR} = \frac{\text{Na}^+}{\sqrt{\frac{(\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})}{2}}} \quad (2.1)$$

$$\text{ESP} = \frac{100(-0.0126 + 0.0145\text{SAR})}{1 + (-0.0126 + 0.0145\text{SAR})} \quad (2.2)$$



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2.1 Tuzlu-alkali toprakların sınıflandırılması (Deliboran ve Savran 2015)

Sınıf	pH	EC (dS/m)	ESP (%)	SAR	Toprağın Fiziksel Özellikleri
Tuzsuz	<8,5	<4	<15	<13	İyi
Tuzlu	<8,5	>4	<15	<13	İyi
Tuzlu- Alkali	<8,5	>4	>15	>13	İyi
Sodik	>8,5	<4	>15	>13	Kötü

Yapılan literatür çalışmalarında genellikle tuzluluk ve alkalilik/sodiklik birlikte değerlendirildiğinden bu kısımda tuzlu-alkali koşullarla ilgili literatür taramalarına da yer verilmiştir.

Zhao et al (2013) yaptıkları çalışmalarında sorgum bitkisinin tohum çimlenme ve fide döneminde tuzlu-alkali stresinin etkileri biyokimyasal olarak araştırılmıştır. Bu çalışmada NaCl ve Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nötral tuzları ile bir alkali tuz (NaHCO<sub>3</sub>) kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarında Na konsantrasyonunun sorgum bitkisinin hayatta kalışı, fide büyümesi ve tohum çimlenmesi üzerine önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte artan Na konsantrasyonları çimlenme oranında bir azalışa sebep olmuştur. Ayrıca düşük Na tuzu konsantrasyonları altında, pH'nın artışındaki farkın istatistiki olarak önemli olmamasına rağmen ortalama çimlenme zamanı, çimlenme oranı ve hayatta kalış yüzdesinde bir azalışa yol açmıştır. Artan tuz miktarına (200 mM) bağlı olarak pH'daki artış ortalama çimlenme zamanının engellenmesine yol açmıştır. Ayrıca düşük tuz konsantrasyonlarında alkali in etkisi zayıf olurken, yüksek tuz konsantrasyonlarında ise daha güçlü bir etki göstermiştir. Tuz-alkali stresi yoğunlaştığında MDA gibi lipit oksidasyon ürünleri sorgum fidelerinde artmıştır. Sorgum fideleri 100 mM nötral tuzda yetiştirildiğinde, SOD, gayakol peroksidaz (POD) ve katalaz gibi antioksidan enzim aktivitesi nötral Na tuz stresine maruz kalmış sorgum fidelerindeki toleransın belli bir derecesini gösteren kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yapraklarda artış olmuştur. Benzer tuz konsantrasyonları altında yüksek pH, antioksidan enzim aktivitesinde önemli bir azalışa yol açmıştır.

Angın (2010) yaptığı çalışmada tuzlu-sodik ve sodik toprakların ıslahında bir seçenek olarak değerlendirilebilecek olan yeşil ıslah yönteminin etkinliğini ortaya

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

---

koyup ve mekanizmasını incelemiştir. Yeşil ıslah sistemin başarısının bitkinin kökündeki CO<sub>2</sub> miktarının yapmış olduğu kısmi basıncının artırılması ile birlikte seçilecek bitki türüne bağlı olduğunu belirtmiştir. Bu sistem aracılığıyla bitkinin kökünden daha fazla miktarda tuz ve sodyum uzaklaştırılabileceği kanısına varmıştır. Bununla birlikte, tamponlama yeteneği sayesinde ıslahtan sonra toprağın yüzeyinden toprak çözeltisine Na<sup>+</sup> geçişi gözlenebilir, bu da toprağın pH'sında artışa neden olmaktadır.

Hari Prasath and Sudarshan (2014) yaptıkları çalışmalarında farklı ağaç türlerinin tohum çimlenmesi üzerine toprak sodikliliğinin etkisini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada 13 farklı ağaç ve farklı pH dereceleri kullanılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre 4 ağaç türünün farklı pH düzeylerine karşı çimlenebilme kabiliyetlerinden dolayı daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında 7 tür ise pH: 9 ve 9,5 düzeylerinde sodikliğe karşı orta düzeyde toleranslı çıkmıştır. İki tür ise pH: 9,5 ve 10'da en az toleranslı olduğu belirlenmiştir.

Ma et al. (2015) yaptıkları çalışmalarında *Leymus chinensis* tohumlarının çimlenmesi üzerine alkali toprak etkisinin değerlendirmesinde yüksek pH'nın bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. Bu çalışmada 10–100 mM NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve NaHCO<sub>3</sub> konsantrasyonlarında farklı tuzlar kullanılmıştır. Sonuç olarak alkali çimlendirme ortamında (pH 10,04 – 10,35), yüksek çimlenme sadece düşük EC değerinde elde edilmiştir. Ayrıca tohum çimlenmesi üzerine alkali toprakların etkisinin güvenilir bir indikatörü olarak pH'nın kullanılmayacağı bildirilmiştir. Alkali toprağın yüksek pH'sı negatif etkiye sahip olmayıp, tuz kompozisyonu ve konsantrasyonu özellikle CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> ve HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>'ün temel engelleyiciler olduğu rapor edilmiştir.

Zhang and Mu (2009) *Lathyrus quinquenervius* tuz ve alkali stresinin çimlenme, büyüme, fotosentez, iyon dengesi ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada 9:1 molar oranında NaHCO<sub>3</sub> : Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve pH 8.71–8.89'unda alkali stres uygulanmıştır. Düşük stres yoğunluğunda tuz ve alkali stresinin etkisinin aynı olduğu bildirilmiştir. Tuz stresi alkali stres ile karşılaştırıldığında çimlenme, büyüme, fotosentez ve kök sistem aktivitesi açık olarak engellenmiştir. Bunun yanında MDA ve

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

---

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin artmasına ve sürgünlerde Na ve iyon dengesinin bozulmasına neden olmuştur. Ayrıca güçlü alkali stresi SOD ve APX aktivitelerini önemli derecede artırmış ve CAT aktivitesini ise azaltmıştır. SOD ve APX aktivitelerinin artması alkali stresinin neden olduğu oksidatif strese *L. quinquenervius* dayanımında önemli bir mekanizma olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca 8 haftalık süreyle yetiştirilen *L. quinquenervius* fideleri 10 günlük alkali stresine maruz kaldıktan sonra sürgünlerden alınan örneklerde artan alkali oranına bağlı olarak Ca, Fe ve Na miktarlarında artış gözlemlenirken, K ve Mg elementlerinde azalışlar tespit edilmiştir. Na/K oranı ise LSD testine göre önemli bulunmuştur.

Gao et al. (2014) tarafından yulaf fidelerindeki büyüme ve fizyolojik değişimler üzerine tuz ve alkali streslerinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada iki nötral tuz (NaCl ve Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ve alkali tuzları (NaHCO<sub>3</sub> ve Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre alkali stres altında hücre membran geçirgenliği artarken, biyokütle, su ve klorofil içeriği azalmıştır. Ayrıca alkali stresi kök dokusunda pH değerini artırmıştır. Na, Na/K, ve SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> bileşenleri daha fazla artarken, K, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> alkali stres altında azalmıştır. Aynı zamanda Ca miktarında dalgalanmalar tespit edilmiştir. Cl bileşeni ise çok az değişmiştir. Alkali stresi kök dokusunda pH stabilitesini bozmuş olup, yulaf fidelerinde büyüme ve fizyolojik değişimler üzerine daha zararlı etkilere neden olmuştur.

Zhang et al. (2016) yaptıkları çalışmalarında 17 farklı anaç elma genotipinin alkali şartlara kaşı tolerans düzeylerini karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışmada 17 anaç elma genotipini hidroponik ortamda 1:1 oranında Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve NaHCO<sub>3</sub> ile test etmişlerdir. Bu bitkiler 15 gün boyunca alkali stresine maruz bırakılmış ve kontrol ve stresli bitkiler karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada kontrol bitkilerine göre stresli bitkilerde daha kısa kökler ve sürgünler, daha az kuru ve yaş ağırlık elde edilmiştir. Tüm stresli bitkilerde klorofil düzeyi düşerken, MDA konsantrasyonu artmıştır. Kök aktivitesindeki değişimler, POD, SOD ve CAT'ın aktivitesi genotipe bağlı olup alkali koşullara toleransları bu enzim aktivitelerindeki farklılıkları yansıtmaktadır. Çalışma sonucunda alkali koşullara dayanıklı ve hassas genotipler tespit edilmiştir.

Bai et al. (2013) tarafından yulafın çözülebilir şeker, antioksidan enzim ve verim üzerine alkali stresinin etkisi konulu çalışmalarında alkali koşullara dayanıklı Vao-9 ve

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

---

hassas Baiyan 5 genotiplerini kullanmışlardır. Bu iki genotipin sapa kalkma, başaklanma ve tane dolumu gibi farklı büyüme dönemlerinde 25, 50, 75 ve 100 mmol/L konsantrasyonlarında alkali stresi 2 gün süreyle uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre dayanıklı olan Vao-9 genotipinde MDA içeriği Baiyan 5 genotipine göre her üç büyüme döneminde de daha az çıkmıştır. Bunun yanında SOD ve POD antioksidan enzim aktiviteleri de MDA'da verildiği gibi her üç dönemde de azalmıştır. Yüksek ROS uzaklaştırma kapasitesi yulaf bitkisinde alkali strese yanıt mekanizmasında önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Bitkinin Yetiştirilmesi

##### 3.1.1. Bitki Materyalinin Temini

Bu çalışmada bitki materyali olarak Tir, Çetinel-2000 ve Aydın-98 ekmeklik buğday genotipleri Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilerek kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Bitki Materyalinin Çimlendirilmesi

Ekmeklik buğday genotipleri her bir petri kabına 25 adet tohum gelecek şekilde 3 tekerrürlü olarak ekilmiştir. Bitkiler iklimlendirme kabininde 4 gün karanlıkta daha sonra 16/8 saat gündüz/gece olacak şekilde 10 gün büyütüldükten sonra hidroponik ortama transfer edilerek 5 gün daha büyümeleri için bekletilmiştir.

##### 3.1.3. Stres Ajanının ( $\text{NaHCO}_3$ ) Hazırlanması

86 gram  $\text{NaHCO}_3$  1 litre suda çözülürerek pH:8,5 olacak şekilde NaOH ile 1M çözelti olacak şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca hazırlanan çözeltinin EC (Elektrik İletkenliği) EC metre ile ölçülmüştür.

##### 3.1.4. Hoagland Çözeltisinin Hazırlanması

Çözeltinin hazırlanması için makroelement ve mikroelementler suda çözerek sırasıyla karıştırılmıştır. Karışım için ilk etapta dört makroelementin her biri 1 L suda çözüldükten sonra tamamı 5 L distile suda karışımı sağlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Hoagland çözeltisinin element içerikleri ve miktarları

<b>Makroelementler</b>	<b>g/L</b>
KNO <sub>3</sub>	1,020 g
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> [4H <sub>2</sub> O]	0,492 g
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,230 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,490 g
<b>Mikroelementler</b>	<b>mg/L</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	2,860
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0,090
MnCl <sub>3</sub> 4H <sub>2</sub> O	1,810
CuSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0,080
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,220

Makroelementler verildiği çizelgede verildiği sıra ile karıştırılmıştır. Mikroelementler de benzer şekilde çizelgede verilen oranlarda alınarak önce 1 L'lik beherde çözdürülüp daha sonra 10 L'lik ayrı bir kapa alınmıştır. Çimlendirilen bitki materyali küçük saksılara konulmuştur. Uygun yetiştirme ortamı elde edebilmek için her iki günde bir 0,6 mL olacak şekilde FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,5 g) (50 ml'lik polietilen tüplere % 0,5'lik) ve Tartarik asit (0,4 g) (% 0,4'lük) hazırlanarak saksılara eklenmiştir (Öncel ve Keleş., 2002).

#### 3.1.5. Stres Ajanının Sıvı Ortama Uygulanması

Bitkiler istenilen büyüklüğe ulaştıktan sonra (fide döneminde) sıvı ortama stres ajanı eklenmiştir. Bunun için çalışma Kontrol (0 mM), 10 mM, 50 mM ve 100 mM olacak şekilde planlanmış ve uygulamalar buna göre yapılmıştır. Sıvı ortamın pH'sı 8,5'e NaOH kullanılarak ayarlanmış ve çözeltinin EC (Elektrik İletkenliği) EC metre ile ölçülmüştür (Çizelge 3.3). Bitkiler belirtilen konsantrasyonlarda 48 saat süreyle strese maruz bırakılmıştır. Uygulama sonunda bitkilerden DNA izolasyonu, antioksidan enzim aktivitesi, MDA ve element analizleri için örnekler alınmıştır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Çizelge 3.2 Hoagland çözeltilisinin deneme öncesi ve sonrası ölçülen pH, EC ve Na değerleri

NaHCO <sub>3</sub> Dozları (mM)	Deneme Öncesi			Deneme Sonrası		
	pH	EC (mmhos/cm)	Na (mg/L)	pH	EC (mmhos/cm)	Na (mg/L)
10	8,5	3,01	144,53	7,55	3,76	222,34
	8,5	3,01	142,36	7,57	3,75	221,45
	8,5	3,03	145,28	7,53	3,78	222,98
50	8,5	5,85	1215,36	8,18	6,39	1120,10
	8,5	5,83	1216,53	8,19	6,41	1121,45
	8,5	5,80	1212,34	8,18	6,38	1122,30
100	8,5	10,31	2115,30	8,32	8,04	1980,45
	8,5	10,30	2118,69	8,33	8,06	1978,63
	8,5	10,32	2110,47	8,32	8,05	1981,52

#### 3.2. Bitki Analizleri

##### 3.2.1. Bitkide element analizi

Mertens (2005a, 2005b)'de belirtildiği gibi bitkideki element analizleri gerçekleştirilmiştir. Kısaca bitki örneklerinin P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn, Zn, B, Cl, Cd, Pb ve Ni içerikleri nitrik asit-perklorik (4:1) asit ile yakıldıktan sonra ICP OES spektrofotometresinde (Inductively Couple Plasma spectrophotometer) (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) okunarak tespit edilmiştir.

##### 3.2.2. Değişebilir Na oranı

Çalışmada kullanılan ortamın SAR ve ESP değerleri stres ajanını uygulanmasından önce ve sonra olmak üzere 2 defa ölçülmüştür. Suda çözülmüş Na, Ca ve Mg konsantrasyonları (me/L) belirlenerek önce SAR değeri ve sonrasında da SAR-ESP eşitliği kullanılarak ESP değeri belirlenmiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Çizelge 3.3 Hoagland çözeltilisinin deneme öncesi ve sonrası SAR ve ESP değerleri

NaHCO <sub>3</sub> Dozları (mM)	Deneme öncesi		Deneme Sonrası	
	SAR (me/L)	ESP	SAR (me/L)	ESP
10	3,65	4,08	2,79	2,82
	3,64	4,06	2,76	2,76
	3,73	4,18	2,81	2,84
50	19,76	27,67	18,72	26,14
	19,37	27,09	18,50	25,81
	19,44	27,19	18,33	25,57
100	33,98	48,48	31,43	44,75
	33,80	48,22	31,27	44,53
	33,57	47,90	30,79	43,83

#### 3.2.3. Bitkilerde biyokimyasal analizler

Katalaz ve süperoksit dimutaz gibi antioksidan enzimler Yang et al. (2008) tarafından belirtilen ve yaygın olarak kullanılan yöntem ile izole edilmiştir. Kök ve gövde örneklerini içeren yaklaşık olarak 0,5 g taze doku 1 mM EDTA, %2 PVP, %0,05 Triton X-100 içeren soğuk 50 mM potasyum fosfat (pH 7) tampon çözeltilisinden 1,5 mL eklenerek homojen hale getirilerek +4°C'de, 15000xg'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant enzim ölçümleri için kullanılmıştır.

#### 3.2.4. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği Velikova et al. (2000) tarafından verilen metot kullanılarak belirlenmiştir. Kısaca kontrol ve 48 saat süreyle alkali stresi uygulanmış bitki örnekleri 5 mL TCA (%0,1 w/v) kullanılarak izole edilmiştir. Elde edilen homojenat 15 dakika süreyle 12000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Her bir örnekten alınan 0,5 mL süpernatanta 0,5 mL (10 mM PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>buffer pH:7) ve 1 mL (1 M potasyum iyodit) eklenmiştir. Elde edilen karışımın 390 nm dalga boyunda absorbansı ölçülmüştür.



#### 3.2.3.1. Katalaz (CAT - EC: 1.11.1.6) aktivitesinin belirlenmesi

Yang et al (2008)'e göre 50 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi, 25 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 50 µl enzim ekstraktı içeren 2,5 mL'lik reaksiyon hacmi elde edilmiştir. Spektrofotometre kuvetinde 25 °C'de 15 s aralıklarla 240 nm dalga boyunda 2,5 dakika absorbanstaki değişim ölçülerek kaydedilmiştir. Katalaz aktivitesi her dakikadaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nin µmol'ündeki değişim 0,0394 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin molar tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı. Absorbansı 25 °C'de, 1 dakika içinde 1 µM azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş olup g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) olarak değerlendirilmiştir.

#### 3.2.3.2. Peroksidaz (POD; EC: 1.11.1.7) aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz aktivitesi Castillo et al. (1984) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. 10 mM gayakol, 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 50 mM fosfat tamponu (pH 6) ve 50 µl enzim ekstraktı içeren karışımdan 3 mL kullanılmıştır. Absorbans 470 nm dalga boyunda 5 dakika boyunca izlenmiş ve absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilerek 25 °C'de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olup sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) cinsinden hesaplanmıştır.

#### 3.2.3.3. Süperoksid dismutaz (SOD; EC: 1.15.1.1) aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi nitroblue tetrazolyum (NBT)'nin fotokimyasal indirgenmesinin engellenmesinin Becana et al. (1986) tarafından belirtildiği gibi ölçülmesidir. 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 50 mM metiyonin, 75 µM nitroblue tetrazolyum, 20 µM riboflavin, 0,1 mM EDTA ve 0,1 mL enzim ekstraktını içeren 3 mL'lik reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 15 dakika 120 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> altında gerçekleştirilmiştir. Enzim içermeyen kör ve kontrol aynı yolu ışıksız almıştır. SOD'un bir ünitesi 560 nm dalga boyunda izlenerek NBT'nin indirgenmesinin %50 engellenmesine neden olan enzimin miktarı 1 enzim ünitesi olup, değerler EU/g yaprak olarak değerlendirilmiştir.

#### 3.2.3.4. MDA Analizleri

Lipid peroksidasyonu malondialdehit ile ölçülmektedir. Doymamış yağ asidi peroksidasyonunun bir ürünü olan malondialdehit konsantrasyonu Hodges (1999)'e göre değerlendirilmiştir. Ekstraksiyon çözeltisi olarak 5 mL %5'lik trikloroasetik asit kullanılmıştır. Homojenat 15 dakika 5000g'de santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 2 ml alınarak 2 ml %0,5 (w/v) tiyobarbitürik asit ile karıştırılmıştır. Karışım 95 C'de 30 dakika kaynatılmıştır. 15 dakika 5000g'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası hızlı soğutulmuştur. Absorbans 450, 532 ve 600 nm dalga boylarında ölçülmüştür.

MDA konsantrasyonları;

$$\text{MDA } (\mu\text{mol mL}^{-1}) = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$$

#### 3.3. Moleküler Analiz

##### 3.3.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu Murray ve Thompson (1980) metodunda değişikliklerle yapılmıştır. DNA konsantrasyonları nanodrop spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümden sonra PCR için konsantrasyonlar 10 ng/ $\mu\text{l}$ 'ye göre seyreltilmiştir.

##### 3.3.2. PCR Analizi

Her PCR karışımı 200  $\mu\text{l}$ 'lik steril PCR tüpü içinde yapılmıştır. PCR karışımı ve PCR şartları aşağıda verildiği gibi hazırlanmıştır. PCR reaksiyonları thermal cyeler ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler ve dizileri Çizelge 3.5'de verilmiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan ISSR primerlerine ait dizileri ve bağlanma sıcaklıkları

Primer Adı	Primer dizisi 5' 3'	Tm
UBC 809	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52 °C
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52 °C
UBC 812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50 °C
UBC 825	ACACACACACACACT	50 °C
UBC 826	ACACACACACACACC	52 °C

#### PCR Karışımının Hazırlanması

Kalıp DNA (10ng/ µL)	:	3.0 µL
ISSR Primeri (10 µM/ µL)	:	1.0 µL
dNTP (10 mM/ µL)	:	1.0 µL
10X PCR Buffer	:	2.0 µL
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	:	1.5 µL
Taq Polimeraz	:	0.6 µL
ddH <sub>2</sub> O	:	10.9 µL
TOPLAM	:	20 µL

#### PCR Şartları

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
95	5 dk.	1
94	30 sn.	
54.7	30 sn.	35
72	1 dk.	
72	10 dk.	1
+4	-----	

#### 3.3.3. Elektroforez İşlemi

PCR çalışmasından elde edilen ürünler 0,1 ng L<sup>-1</sup> EtBr içeren %1,8'lik agaroz jelde 110 voltta 90 dakika yürütülerek elektroforez yapılmıştır. Jel görüntülemesi yapıldıktan sonra jel görüntüleme cihazı ile bilgisayar kayıtları alınmıştır.

#### 3.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırma tam şansa bağlı deneme planına göre 3 (genotip)\*3 (NaHCO<sub>3</sub> dozu) faktoriyel düzende 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve çift yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Araştırmada incelenen karakterlerdeki Ortalamalar arasındaki farklılıklar Fisher's LSD testine göre %5 önem seviyesinde karşılaştırılmıştır. İstatistik analizlerde SAS v9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) kullanılmış olup, grafikler ise Graphpad programı ile çizilmiştir.

Genomik kalıp stabilitesi (GKS) oranları, 0 mM kontrol dozuna ait örneklerin ISSR primerlerinin oluşturduğu bant profilleri kullanılarak uygulama dozlarına ait bant profillerinin karşılaştırılması ile elde edilmiştir. Kontrol grubuna göre yeni oluşan veya kaybolan bantlar polimorfik bantlar olarak değerlendirilmiş olup bu işlem her primer için ayrı bir şekilde belirlenmiştir. GKS oranları aşağıdaki formüle göre hesap edilmiştir.

$$GKS = \left(1 - \frac{a}{n}\right) \times 100$$

Formüldeki değerler a: her örnekteki ortalama polimorfik bant sayısı, n: kontroldeki bant sayısı olarak kullanılmıştır. Bu analiz için TotalLab TL120 programı kullanılmıştır.

### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

NaHCO<sub>3</sub> kullanılarak Na elementinin 3 farklı dozunun 3 farklı ekmeklik buğday genotipinin kök ve gövde dokularındaki biyokimyasal, element içeriği ve moleküler etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

#### 4.1. Biyokimyasal Analizler

##### 4.1.1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının kök ve gövde dokularında içeriği üzerine genotipin ana etkisi çok önemli (p<0,01) olmuştur (Çizelge 4.1). Kök dokusunda uygulamaların ortalamasına göre genotiplerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 13,7 ile 17,2 mmol/kg arasında değişmiş ve 3 genotip arasındaki farklılıklar çok önemli bulunmuştur. En yüksek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı Çetinel-2000 genotipinde (17,2 mmol/kg) belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 15,1 ve 13,7 mmol/kg ile Tir ve Aytın-98 genotipleri izlemiştir. Gövde dokusunda ise uygulamaların ortalamasına göre genotipleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 17,8 ile 23,1 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve kök dokusundakine benzer olarak genotiplerin sıralaması Çetinel-2000 (23,1 mmol/kg), Tir (18,6 mmol/kg) ve Aytın-98 (17,8 mmol/kg) şeklinde olmuştur.

NaHCO<sub>3</sub> uygulamasının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı üzerine ana etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.1) uygulamanın ana etkisi kök dokusunda çok önemli (p<0,01) iken, gövde dokusunda etki önemsiz (p>0,05) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre uygulamaların H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 14,8 ile 15,9 mmol/kg arasında değişmiştir. En düşük (14,8 mmol/kg) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub> uygulamasında elde edilirken, en yüksek 15,9 mmol/kg ile 50 mM NaHCO<sub>3</sub> elde edilmiştir. Ancak 0 ile 10 mM NaHCO<sub>3</sub> ve 50 ile 100 mM NaHCO<sub>3</sub> arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur. Diğer taraftan genotiplerin ana etkisine göre uygulamaların H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 19,7 ile 20,1 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz (p>0,05) bulunmuştur (Şekil 4.1 ve 4.2).

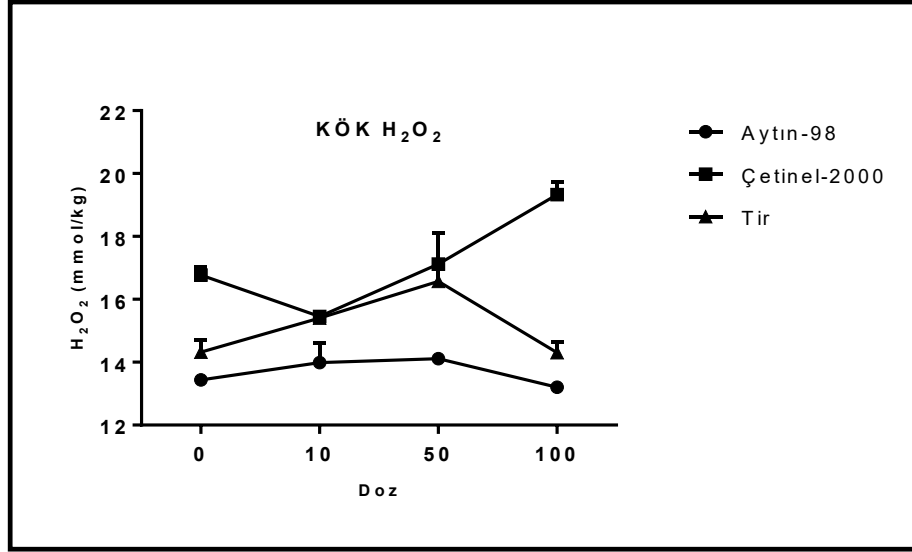
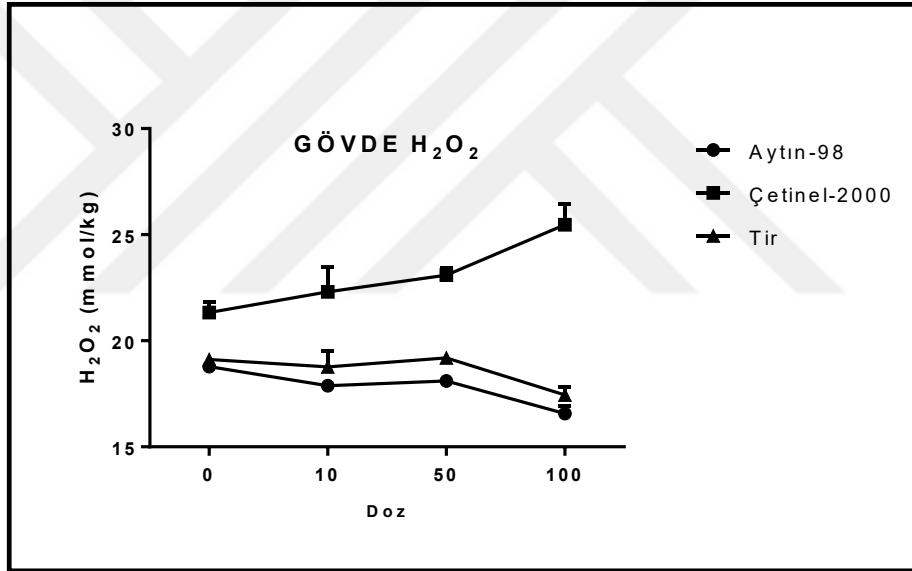
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çizelge 4.1 Kök ve gövde dokularındaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı üzerine genotipin ve NaHCO<sub>3</sub> dozunun etkisi

Genotip	NaHCO <sub>3</sub> (mM)	Doku tipi	
		Kök	Gövde
Aytın-98	0	13,4	18,8
	10	14,0	17,9
	50	14,1	18,1
	100	13,2	16,6
	<i>Ortalama</i>	<i>13,7</i>	<i>17,8</i>
Çetinel 2000	0	16,8	21,3
	10	15,5	22,3
	50	17,1	23,1
	100	19,3	25,5
	<i>Ortalama</i>	<i>17,2</i>	<i>23,1</i>
Tir	0	14,3	19,1
	10	15,4	18,8
	50	16,6	19,2
	100	14,3	17,4
	<i>Ortalama</i>	<i>15,1</i>	<i>18,6</i>
Genotip Ortalaması	0	14,8	19,7
	10	14,9	19,7
	50	15,9	20,1
	100	15,6	19,8
<b>Genel Ortalama</b>		<b>15,3</b>	<b>19,8</b>
F Değeri (Genotip) (G)		181,113**	298,405**
F Değeri (Doz) (D)		12,233**	1,25 <sup>öd</sup>
F Değeri (GxD)		23,117**	21,311**
LSD <sub>(0,05)</sub> (G)		0,38	0,48
LSD <sub>(0,05)</sub> (D)		0,44	0,55
LSD <sub>(0,05)</sub> (GxD)		0,8	0,9
VK (%)		2,94	2,84

\*\* : Çok önemli (p<0,01), \* : Önemli (p<0,05), <sup>öd</sup> : önemsiz (p>0,05).

Her iki doku tipinde de genotiplerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği NaHCO<sub>3</sub> uygulamasının dozuna göre farklılık göstermesi Genotip x Doz interaksiyonunun çok önemli çıkmasına neden olmuştur. Kök dokusunda genotiplere göre uygulama dozunun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub>'ta elde edilirken en yüksek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Aytın-98 ve Tir genotiplerinde 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda, Çetinel-2000 genotipinde 100 mM NaHCO<sub>3</sub> tespit edilmiştir. Gövde dokusunda ise en düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı Tir genotipinde 100 mM, Çetinel-2000 genotipinde 0 mM ve Aydın genotipinde ise 10 mM NaHCO<sub>3</sub> uygulamalarında elde edilmiştir. En yüksek ise Aytın-98 genotipinde 0 mM, Çetinel-2000 genotipinde 100 mM ve Tir genotipinde ise 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir.

Şekil 4.1 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokularında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarlarıŞekil 4.2 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokularında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarları

#### 4.1.2. Katalaz

Katalaz miktarının kök ve gövde dokularında içeriği üzerine genotipin ana etkisi çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.2). Kök dokusunda NaHCO<sub>3</sub> dozunun ortalamasına göre genotiplerin CAT miktarı 254,9 ile 358,8 mmol/kg arasında değişmiş ve 3 genotip arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. En yüksek CAT miktarı Çetinel-2000 genotipinde (358,8 mmol/kg) belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 274,0 ve 254,9 mmol/kg ile Aytın-98 ve Tir genotipleri izlemiştir. Gövde dokusunda ise NaHCO<sub>3</sub> dozunun ortalamasına göre genotiplerin CAT miktarı 315,2 ile 448,6 mmol/kg arasında

değişim göstermiştir. Gövde dokusunda en yüksek CAT miktarı kök dokusunda olduğu gibi Çetinel-2000 genotipinde (448,6 mmol/kg) belirlenmiştir. Bunu yine sırasıyla 350,1 ile 315,2 mmol/kg ile Aytın-98 ve Tir genotipleri izlemiştir.

NaHCO<sub>3</sub> dozunun CAT miktarı üzerine ana etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.2) uygulamanın ana etkisi her iki doku tipinde de çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre uygulamaların CAT miktarı 273,4 ile 315,8 mmol/kg arasında değişmiştir. En düşük (273,4 mmol/kg) CAT miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub> uygulamasında elde edilirken, en yüksek 315,8 mmol/kg ile 50 mM NaHCO<sub>3</sub> elde edilmiştir. Çalışmada tüm uygulamalar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. Diğer taraftan gövde dokusunda genotiplerin ortalamasına göre NaHCO<sub>3</sub> dozunun CAT miktarı 340,8 ile 398,4 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur (Şekil 4.3 ve 4.4).

Her iki doku tipinde de genotiplerin CAT içeriği NaHCO<sub>3</sub> dozuna göre farklılık göstermesi Genotip x Doz interaksiyonunun çok önemli çıkmasına neden olmuştur. Kök dokusunda genotiplere göre NaHCO<sub>3</sub> dozunun CAT miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük CAT miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub> 'te elde edilirken en yüksek ise Aytın-98 ve Tir genotiplerinde 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda, Çetinel-2000 genotipinde ise 100 mM NaHCO<sub>3</sub> tespit edilmiştir. Gövde dokusunda ise en düşük CAT miktarı Aytın-98 genotipinde 100 Mm belirlenirken, Çetinel-2000 genotipinde 0 mM da ve Tir genotipinde 10 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda elde edilmiştir. En yüksek ise tüm genotiplerde ise 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir.

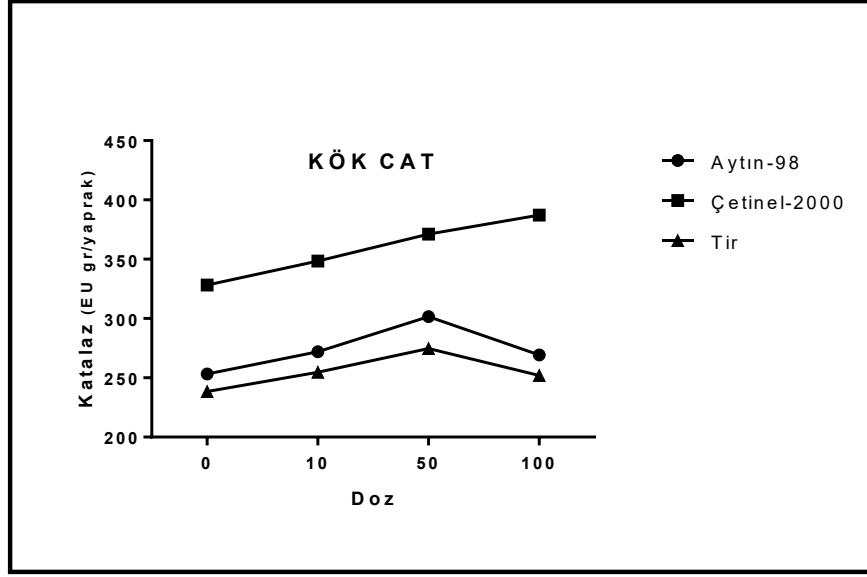


#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

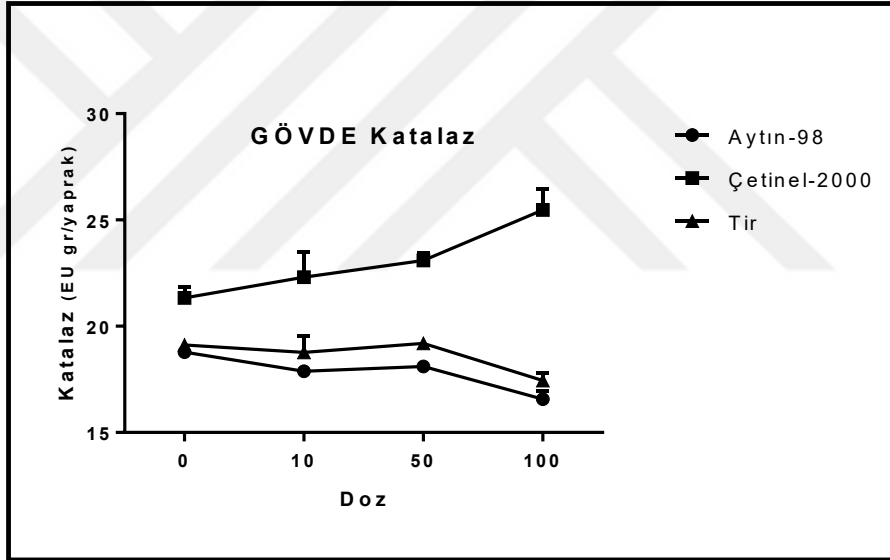
Çizelge 4.2 Kök ve gövde dokularındaki katalaz miktarı üzerine genotipin ve NaHCO<sub>3</sub> dozunun etkisi

Genotip	NaHCO <sub>3</sub> (mM)	Doku Tipi	
		Kök	Gövde
Aytın-98	0	253.3	340.4
	10	272.0	372.5
	50	301.5	404.7
	100	269.3	282.7
	<i>Ortalama</i>	<i>274.0</i>	<i>350.1</i>
Çetinel 2000	0	328.3	434.2
	10	348.4	442.2
	50	371.2	461.0
	100	387.3	456.9
	<i>Ortalama</i>	<i>358.8</i>	<i>448.6</i>
Tir	0	238.5	327.0
	10	254.6	321.6
	50	274.7	329.6
	100	251.9	282.7
	<i>Ortalama</i>	<i>254.9</i>	<i>315.2</i>
Genotip Ortalaması	0	273.4	367.2
	10	291.7	378.8
	50	315.8	398.4
	100	302.8	340.8
<b>Genel Ortalama</b>		<b>295.9</b>	<b>371.3</b>
F Değeri (Genotip) (G)		6019.223**	5120.708**
F Değeri (Doz) (D)		477.633**	465.48**
F Değeri (GxD)		79.908**	214.665**
LSD (0,05) G		2.07	2.82
LSD (0,05) D		2.4	3.26
LSD(GxD)		4.2	5.6
VK (%)		0.83	0.9

\*\* : Çok önemli (p<0,01).



Şekil 4.3 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki CAT miktarları



Şekil 4.4 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki CAT miktarları

#### 4.1.3. Peroksidaz (POD)

POD miktarının kök ve gövde dokularında içeriği üzerine genotipin ana etkisi çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). Kök dokusunda  $\text{NaHCO}_3$  dozlarının ortalamasına göre genotiplerin POD miktarı 371,9 ile 299,3 mmol/kg arasında değişmiş ve 3 genotip arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. En yüksek POD miktarı Çetinel-2000 genotipinde (371,9 mmol/kg) belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 300,7 ve 299,3 mmol/kg ile Tir ve Aytın-98 genotipleri izlemiştir. Gövde dokusunda ise  $\text{NaHCO}_3$

dozlarının ortalamasına göre genotiplerin POD miktarı 565,0 ile 418,5 mmol/kg arasında değişim göstermiştir. Genotiplerin sıralaması Çetinel-2000 (565,0 mmol/kg), Tir (459,3 mmol/kg) ve Aytın-98 (418,5mmol/kg) şeklinde olmuştur.

NaHCO<sub>3</sub> dozunun POD miktarı üzerine ana etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.3 ) dozun ana etkisi her iki doku tipinde de çok önemli olmuştur(p<0,01). Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre NaHCO<sub>3</sub> dozlarına ait POD miktarı 317,9 ile 336,5 mmol/kg arasında değişmiştir. En düşük (317,9 mmol/kg) POD miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub> uygulamasında elde edilirken, en yüksek 336,5 mmol/kg ile 50 mM NaHCO<sub>3</sub> elde edilmiştir. 0 ve 100Mm NaHCO<sub>3</sub> dozları arasındaki fark önemsizken bu dozlar ile diğer dozlar arasındaki farklılık önemli olmuştur. Diğer taraftan gövde dokusundaki genotiplerin ortalamasına göre POD miktarı 468,3 ile 492,2 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur (Şekil 4.5 ve 4.6).

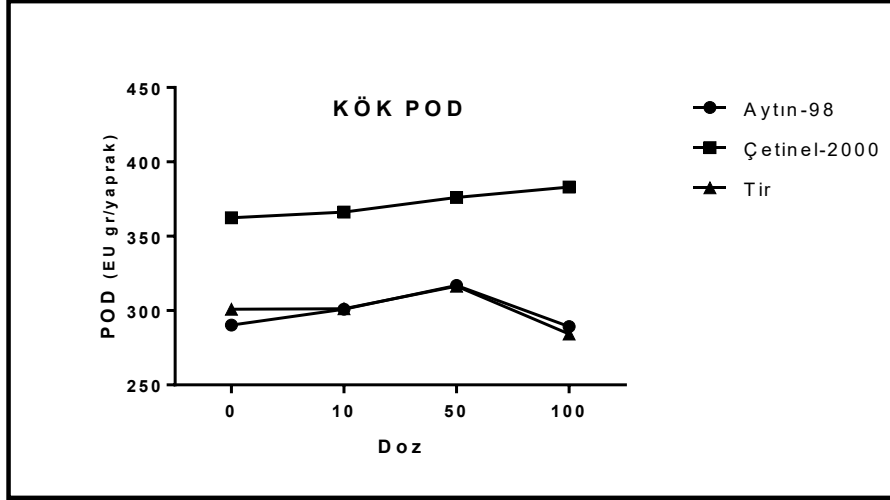
Her iki doku tipinde de genotiplerin POD içeriği NaHCO<sub>3</sub> dozuna göre farklılık göstermesi Genotip x Doz interaksiyonunun çok önemli (p<0,01) çıkmasına neden olmuştur. Kök dokusunda genotiplere göre uygulama dozunun POD miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük POD miktarı Çetinel-2000 genotipinde 0 mM NaHCO<sub>3</sub> ve Aytın-98 ve Tir genotiplerinde 100 mM NaHCO<sub>3</sub> 'te elde edilirken; en yüksek POD içeriği ise Çetinel-2000 genotipinde 100 mM NaHCO<sub>3</sub> 'te, Aytın-98 ve Tir genotiplerinde 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda tespit edilmiştir. Gövde dokusunda ise en düşük POD miktarı Aytın-98 ve Çetinel-2000 genotiplerinde 10 mM NaHCO<sub>3</sub> iken, Tir genotipinde 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda elde edilmiştir. En yüksek ise Çetinel-2000 genotipinde 100 Mm NaHCO<sub>3</sub> de, Aytın-98 ve Tir genotiplerinde 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

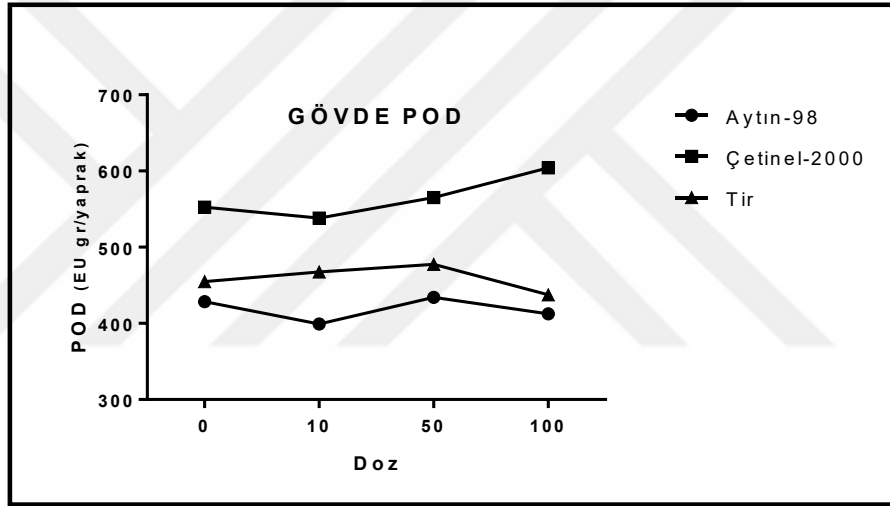
Çizelge 4.3 Kök ve gövde dokularındaki peroksidaz miktarı üzerine genotipin ve NaHCO<sub>3</sub>dozunun etkisi

Genotip	NaHCO <sub>3</sub> (mM)	Doku Tipi	
		Kök	Gövde
Aytın-98	0	290.3	428.4
	10	300.9	399.0
	50	316.9	434.1
	100	289.2	412.4
	<i>Ortalama</i>	<i>299.3</i>	<i>418.5</i>
Çetinel 2000	0	362.4	552.6
	10	366.2	538.2
	50	376.1	565.0
	100	383.0	604.2
	<i>Ortalama</i>	<i>371.9</i>	<i>565.0</i>
Tir	0	301.0	454.7
	10	301.2	467.6
	50	316.5	477.4
	100	284.3	437.6
	<i>Ortalama</i>	<i>300.7</i>	<i>459.3</i>
Genotip Ortalaması	0	317.9	478.6
	10	322.7	468.3
	50	336.5	492.2
	100	318.9	484.8
<b>Genel Ortalama</b>		<b>324.0</b>	<b>481.0</b>
F Değeri (Genotip) (G)		4883.020**	7374.740**
F Değeri (Doz) (D)		157.363**	98.672**
F Değeri (GxD)		72.445**	168.421**
LSD <sub>(0,05)</sub> G		1.73	2.57
LSD <sub>(0,05)</sub> D		2	2.97
LSD <sub>(0,05)</sub> (GxD)		3.5	5.1
VK (%)		0.63	0.63

\*\* : Çok önemli (p<0,01).



Şekil 4.5 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki POD miktarları



Şekil 4.6 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki POD miktarları

#### 4.1.4. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD miktarının kök ve gövde dokularında içeriği üzerine genotipin ana etkisi çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.4). Kök dokusunda uygulamaların ortalamasına göre genotiplerin SOD miktarı 460,2 ile 557,8 mmol/kg arasında değişmiştir. Aydın-98 ve Tir genotipleri arasındaki fark önemsiz iken bu genotipler ile Çetinel-2000 genotipi arasındaki farklılıklar önemli olmuştur. Genotipler arasında SOD miktarı bakımından Çetinel-2000 557,8 mmol/kg ile en yüksek olurken, bunu sırasıyla Aydın-98 (462,1 mmol/kg) ve Tir genotipleri (460,2 mmol/kg) izlemiştir. Gövde dokusunda ise dozların ortalamasına göre genotiplerin SOD miktarı 574,5 ile 694,3 mmol/kg arasında değişim göstermiş olup genotipler arasındaki sıralama ise 694,3

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

mmol/kg ile Çetinel-2000'de, 573,5 mmol/kg ile Aydın-98 ve 574,4 mmol/kg Tir genotipinde elde edilmiştir.

Çizelge 4.4 Kök ve gövde dokularındaki süperoksit dismütaz miktarı üzerine genotipin ve NaHCO<sub>3</sub> dozunun etkisi

Genotip	NaHCO <sub>3</sub> (mM)	Doku Tipi	
		Kök	Gövde
Aydın-98	0	404.2	552.7
	10	426.3	562.9
	50	471.9	573.1
	100	546.1	605.4
	<i>Ortalama</i>	<i>462.1</i>	<i>573.5</i>
Çetinel 2000	0	529.3	619.2
	10	532.9	658.7
	50	546.1	712.6
	100	622.8	786.8
	<i>Ortalama</i>	<i>557.8</i>	<i>694.3</i>
Tir	0	426.3	565.9
	10	425.1	579.0
	50	458.1	612.0
	100	531.1	540.7
	<i>Ortalama</i>	<i>460.2</i>	<i>574.4</i>
Genotip Ortalaması	0	453.3	579.2
	10	461.5	600.2
	50	492.0	632.5
	100	566.7	644.3
<b>Genel Ortalama</b>		<b>493.4</b>	<b>614.1</b>
F Değeri (Genotip) (G)		786.077**	462.924**
F Değeri (Doz) (D)		504.790**	63.771**
F Değeri (GxD)		10.380**	48.053**
LSD <sub>(0,05)</sub> G		5.8	9.42
LSD <sub>(0,05)</sub> D		6.71	10.89
LSD <sub>(0,05)</sub> (GxD)		11.6	18.9
VK (%)		1.39	1.82

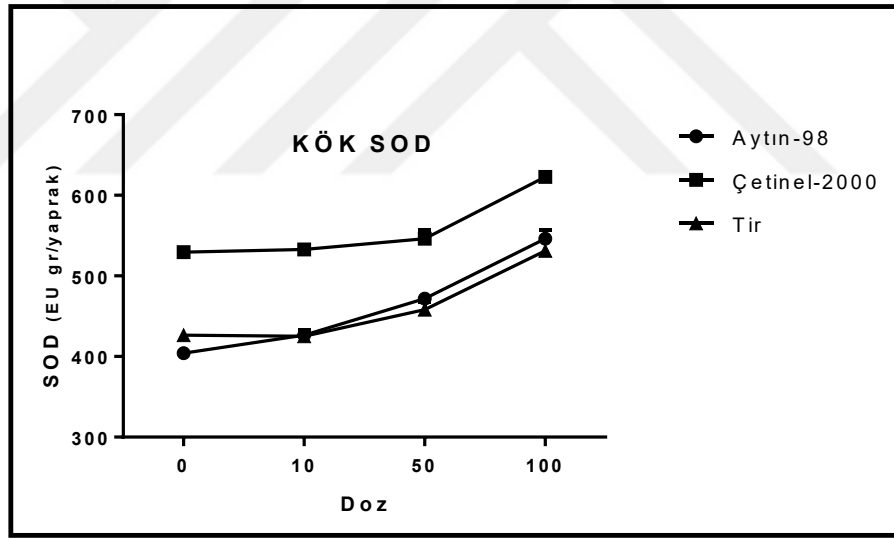
\*\* : Çok önemli (p<0,01).

NaHCO<sub>3</sub> dozunun SOD miktarı üzerine etkisi Çizelge 4.4 incelendiğinde dozun ana etkisi 0 ila 10 mM'da fark önemsiz iken 50 mM ile 100 mM arasındaki farklar önemli (p<0,01) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre dozların SOD miktarı 453,3 ile 566,7 mmol/kg arasında değişmiştir. En düşük (453,3 mmol/kg) SOD miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda elde edilirken, en yüksek 566,7 mmol/kg ile 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozundan elde edilmiştir. Tüm uygulamalar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. Diğer taraftan gövde dokusunda genotiplerin ortalamasına göre dozların

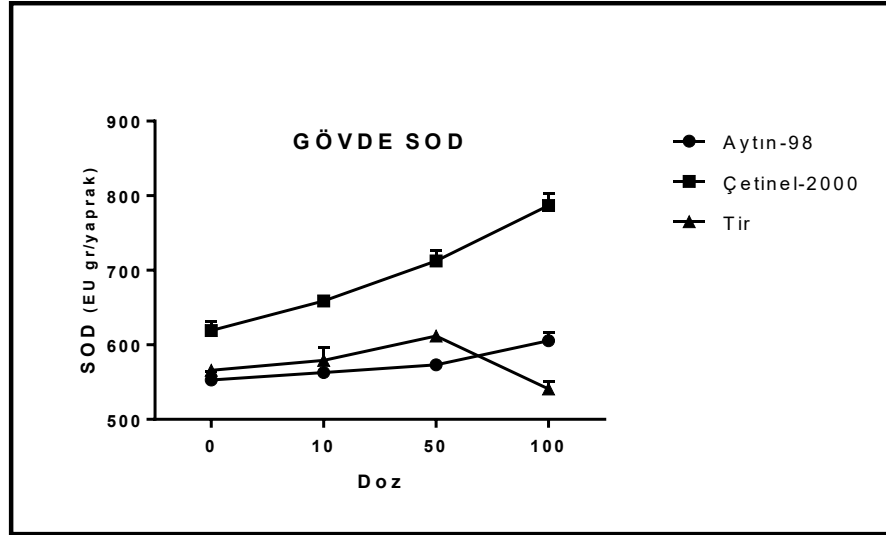
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

SOD miktarı 579,2 ile 644,3 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur (Şekil 4.7 ve 4.8).

Her iki doku tipinde de genotiplerin SOD içeriği  $\text{NaHCO}_3$  dozuna göre farklılık göstermesi Genotip x Doz interaksyonunun çok önemli çıkmasına neden olmuştur. Kök dokusundaki genotiplere göre dozunun SOD miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük SOD miktarı Aydın-98 ve Çetinel-2000 genotiplerinin 0 mM  $\text{NaHCO}_3$ 'teyken Tir genotipinde ise 10 mM'da elde edilmiştir. En yüksek SOD miktarı tüm genotiplerin 100 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda tespit edilmiştir. Gövde dokusunda ise en düşük SOD miktarı Tir genotipinde 100 mM  $\text{NaHCO}_3$  iken Çetinel-2000 ve Aydın-98 genotiplerinde ise 0 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozlarında belirlenmiştir. En yüksek ise Aydın-98 ve Çetinel-2000 genotiplerinde 100 mM  $\text{NaHCO}_3$  ve Tir genotipinde ise 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda tespit edilmiştir.



Şekil 4.7 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki SOD miktarları



Şekil 4.8 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki SOD miktarları

#### 4.1.5. Malondialdehit (MDA)

MDA miktarının kök ve gövde dokularında içeriği üzerine genotipin ana etkisi çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). Kök dokusunda uygulamaların ortalamasına göre genotiplerin MDA miktarı 9,1 ile 13,8 mmol/kg arasında değişmiş ve 3 genotip arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. En yüksek MDA miktarı Çetinel-2000 genotipinde (13,8 mmol/kg) belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 10,0 ve 9,1 mmol/kg ile Tir ve Aytın-98 genotipleri izlemiştir. Gövde dokusunda ise  $\text{NaHCO}_3$  dozların ortalamasına göre genotipleri MDA miktarı 11,2 ile 17,4 mmol/kg arasında değişim göstermiştir. Genotiplerin sıralaması Çetinel-2000 (17,4 mmol/kg), Aytın-98 (11,3 mmol/kg) ve Tir (11,2 mmol/kg) ve şeklinde gerçekleşmiştir.

$\text{NaHCO}_3$  dozunun MDA miktarı üzerine ana etkisi Çizelge 4.5 incelendiğinde  $\text{NaHCO}_3$  dozunun ana etkisi her iki doku tipinde de çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre  $\text{NaHCO}_3$  dozlarının MDA miktarı 10,5 ile 11,6 mmol/kg arasında değişmiştir. En düşük (10,5 mmol/kg) MDA miktarı 0 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda elde edilirken, en yüksek 11,6 mmol/kg ile 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda elde edilmiştir. 0 ile 10 Mm  $\text{NaHCO}_3$  dozları arasındaki farklılıklar önemsiz iken bu iki doz ile diğerleri arasındaki farklılıklar önemli olmuştur. Diğer taraftan gövde dokusunda genotiplerin ortalamasına göre  $\text{NaHCO}_3$  dozlarının MDA miktarı 12,6 ile 14,2 mmol/kg arasında değişim göstermiştir. Kök dokusunda elde edilen bulgulara benzer olarak 0 ile



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

10 mM NaHCO<sub>3</sub> dozları arasındaki farklılıklar önemsiz iken bu iki doz ile diğerleri arasındaki farklılıklar önemli olmuştur (Şekil 4.9 ve 4.10).

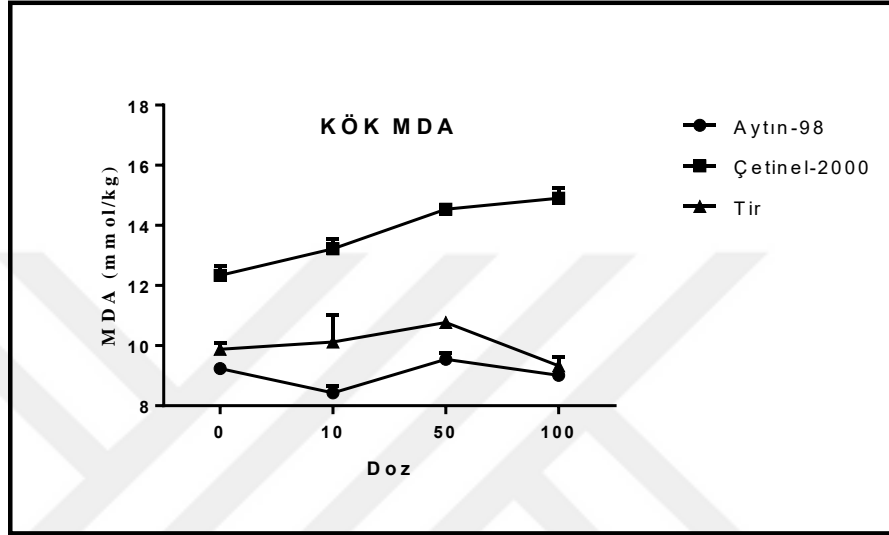
Çizelge 4.5 Kök ve gövde dokularındaki malondialdehit miktarı üzerine Genotipin ve NaHCO<sub>3</sub> dozunun etkisi

Genotip	NaHCO <sub>3</sub> (mM)	Doku Tipi	
		Kök	Gövde
Aytın-98	0	9.2	11.2
	10	8.4	11.0
	50	9.6	12.3
	100	9.0	10.5
	<i>Ortalama</i>	<i>9.1</i>	<i>11.3</i>
Çetinel 2000	0	12.3	15.5
	10	13.2	16.1
	50	14.5	17.9
	100	14.9	20.1
	<i>Ortalama</i>	<i>13.8</i>	<i>17.4</i>
Tir	0	9.9	11.9
	10	10.1	10.8
	50	10.8	12.3
	100	9.3	9.8
	<i>Ortalama</i>	<i>10.0</i>	<i>11.2</i>
Genotip Ortalaması	0	10.5	12.9
	10	10.6	12.6
	50	11.6	14.2
	100	11.1	13.5
	<b>Genel Ortalama</b>	<b>10.9</b>	<b>13.3</b>
F Değeri (Genotip) (G)	631.542**	817.516**	
F Değeri (Doz) (D)	20.832**	22.834**	
F Değeri (GxD)	15.114**	38.939**	
LSD <sub>(0,05)</sub> G	0.29	0.36	
LSD <sub>(0,05)</sub> D	0.33	0.42	
LSD <sub>(0,05)</sub> (GxD)	0.6	0.7	
VK (%)	3.12	3.24	

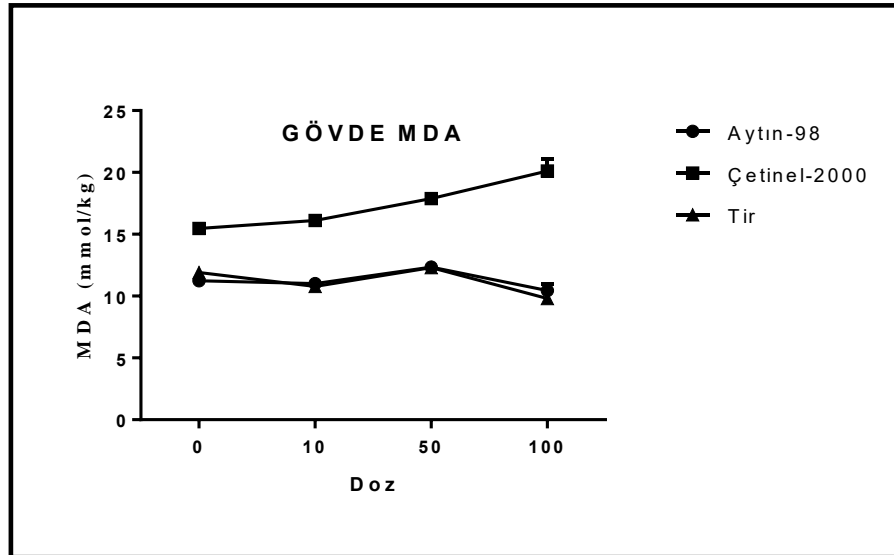
Her iki doku tipinde de genotiplerin MDA içeriği NaHCO<sub>3</sub> dozuna göre farklılık göstermesi Genotip x Doz interaksiyonunun çok önemli çıkmasına neden olmuştur. Kök dokusunda Genotiplere göre uygulama dozunun MDA miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük MDA miktarı Çetinel-2000 genotipinde 0 mM NaHCO<sub>3</sub>'te, Aytın-98'de 10 mM'da ve Tir'de 100 mM NaHCO<sub>3</sub>'te elde edilmiştir. Genotiplerin en yüksek MDA içeriği Çetinel-2000'de 100 mM NaHCO<sub>3</sub>'te, Aytın-98 ve

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Tir genotiplerinde 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda tespit edilmiştir. Gövde dokusunda ise en düşük MDA miktarı Aytın-98 ve Tir genotiplerinde 100 mM NaHCO<sub>3</sub>'te ve Çetinel-2000 genotipinde ise 0 mM NaHCO<sub>3</sub>'te tespit edilmiştir. En yüksek MDA içeriği ise Çetinel-2000 genotipinde 100 mM NaHCO<sub>3</sub>'te, Aytın-98 ve Tir genotiplerinde ise 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir.



Şekil 4.9 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki MDA miktarları



Şekil 4.10 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki MDA miktarları

##### 4.2. Element Analizleri

###### 4.2.1. Potasyum (K)

Kök ve Gövde dokularında K üzerine genotipin ve  $\text{NaHCO}_3$  dozunun etkisi çok önemli ( $p<0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.6). Kök dokusunda  $\text{NaHCO}_3$  dozunun ortalamasına göre genotiplerin K miktarı 8134,53 ile 8663,32 mmol/kg arasında değişmiştir. Aytın-98, Çetinel-2000 arasındaki fark önemsiz iken Tir genotipi arasındaki farklılıklar önemli olmuştur. En yüksek K miktarı Tir genotipinde 8663,37 mmol/kg olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 8186,29 ve 8134,53 mmol/kg ile Aytın-98 ve Çetinel-2000 genotipleri izlemiştir. Gövde dokusunda ise  $\text{NaHCO}_3$  dozunun ortalamasına göre genotiplerin K miktarı 11255,39 ile 12356,30 mmol/kg arasında değişim göstermektedir. Gövde dokusunda en yüksek K, Tir genotipinde (12356,30) tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla 11492,22 ve 11255,39 mmol/kg ile Çetinel-2000 ve Aytın-98 genotipleri takip etmiştir.

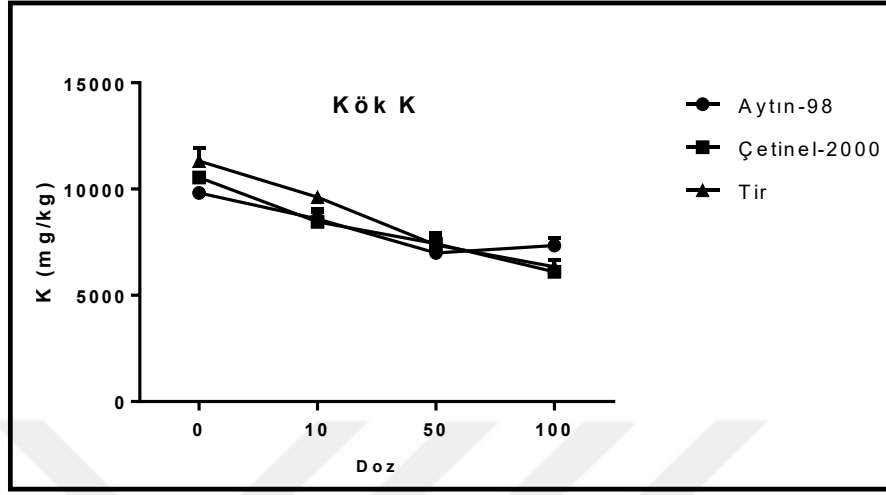
$\text{NaHCO}_3$  dozunun K miktarı üzerine etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.6) dozun K miktarına her iki doku tipinde çok önemli ( $p<0,01$ ) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre dozların K miktarı 6598,25 ile 10562,16 mmol/kg arasında değişmektedir. En düşük K miktarı (6598,25 mmol/kg) 100 Mm  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasında elde edilirken, en yüksek (10562,16 mmol/kg) 0 Mm  $\text{NaHCO}_3$ 'te elde edilmiştir. Çalışmada tüm uygulamalar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. Diğer taraftan gövde dokusunda genotiplerin ortalamasına göre  $\text{NaHCO}_3$  dozunun K miktarı 7815,14 ile 15872,75 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklar istatistiksel olarak önemli ( $p<0,05$ ) bulunmuştur (Şekil 4.11 ve 4.12).

Genotiplerin K içeriği  $\text{NaHCO}_3$  dozuna göre farklılık göstermesi kök dokusunda Genotip x Doz interaksyonunun çok önemli çıkmasına; gövde dokusunda genotiplerin önemli çıkmasına neden olmuştur

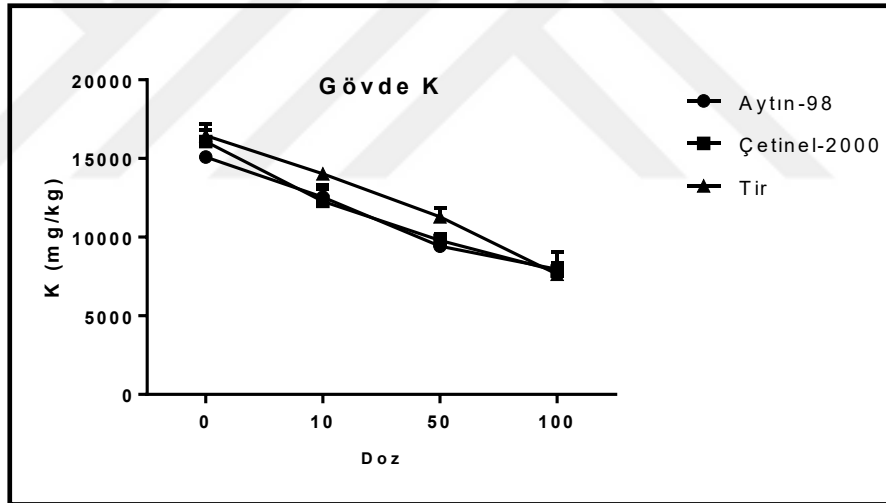
Kök dokusunda genotiplere göre  $\text{NaHCO}_3$  dozunun K miktarı üzerine etkileri incelendiğinde en düşük K miktarı Aytın-98 genotipinde 50 mM iken Tir ve Çetinel-2000 genotiplerinde 100 mM belirlenmiştir. En yüksek K miktarı ise tüm genotiplerde 0 Mm  $\text{NaHCO}_3$ 'te tespit edilmiştir. Gövde dokusunda tüm genotiplerde en düşük K

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

miktarı 100 mM NaHCO<sub>3</sub>'te elde edilirken en yüksek K miktarı da yine tüm genotiplerde 0 mM NaHCO<sub>3</sub>'te tespit edilmiştir.



Şekil 4.11 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki K miktarları



Şekil 4.12 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki K miktarları

#### 4.2.2. Sodyum (Na)

Kök ve Gövde dokularında Na üzerine genotipin NaHCO<sub>3</sub> dozunun etkisi çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur. (Çizelge 4.6). Kök dokusunda NaHCO<sub>3</sub> dozunun ortalamasına göre genotiplerin Na miktarı 2242,25 ile 2898,04 mmol/kg arasında değişmiştir. Üç genotip arasındaki farklılıklar önemli ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur. En yüksek Na miktarı Çetinel-2000 genotipinde 2898,04 mmol/kg olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 2331,36 ve 2242,25 mmol/kg ile Aytın-98 ve Tir genotipleri izlemiştir. Gövde

dokusunda ise  $\text{NaHCO}_3$  dozunun ortalamasına göre genotiplerin Na miktarı 1849,85 ile 2662,77 mmol/kg arasında değişim göstermektedir. Gövde dokusunda en yüksek Na miktarı kök dokusunda olduğu gibi Çetinel-2000 genotipinde (2662,77) tespit edilmiştir. Bunu yine sırasıyla 2039,40 ve 1849,85 mmol/kg ile Aytın-98 ve Tir genotipleri takip etmiştir.

$\text{NaHCO}_3$  dozunun Na miktarı üzerine ana etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.6) dozun ana etkisi her iki doku tipinde çok önemli ( $p<0,01$ ) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre dozların Na miktarı 844,33 ile 3456,95 mmol/kg arasında değişmektedir. En düşük Na miktarı (844,33 mmol/kg ) 0 Mm  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasında elde edilirken, en yüksek (3456,95 mmol/kg) 100 Mm  $\text{NaHCO}_3$  'te elde edilmiştir. Çalışmada tüm uygulamalar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. Diğer taraftan gövde dokusunda genotiplerin ortalamasına göre  $\text{NaHCO}_3$  dozunun Na miktarı 663,00 ile 3546,13 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklar istatistiksel olarak önemli ( $p<0,05$ ) bulunmuştur (Şekil 4.13 ve 4.14).

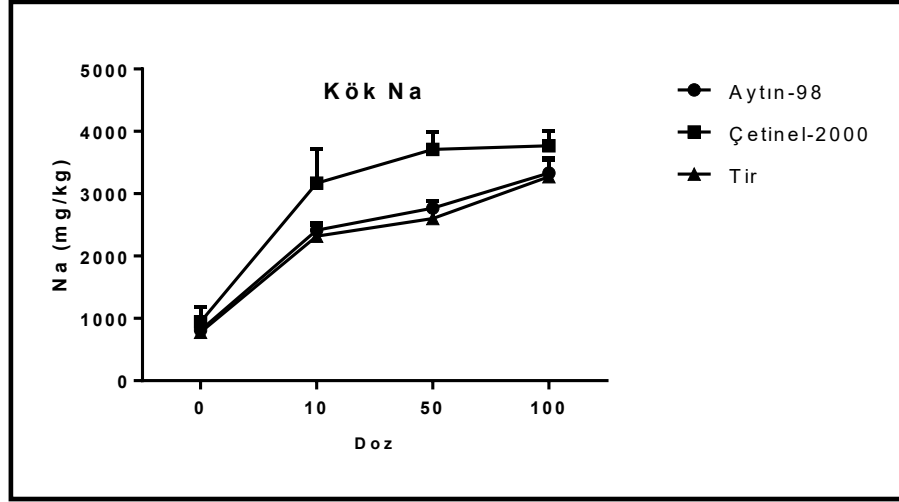
Her iki doku tipinde de genotiplerin Na içeriği  $\text{NaHCO}_3$  dozuna göre farklılık olmaması Genotip x Doz interaksyonunun önemsiz çıkmasına neden olmuştur( $p<0,05$ ). Kök dokusunda genotiplere göre  $\text{NaHCO}_3$  dozunun Na miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük Na miktarı 0 mM  $\text{NaHCO}_3$  'te elde edilirken aynı şekilde en yüksek Na miktarı da tüm genotiplerde 100 Mm belirlenmiştir. Gövde dokusunda kök dokusunda olduğu gibi en düşük Na miktarı 0 mM  $\text{NaHCO}_3$  'te elde edilirken en yüksek Na miktarı da tüm genotiplerde 100 Mm  $\text{NaHCO}_3$  'te tespit edilmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

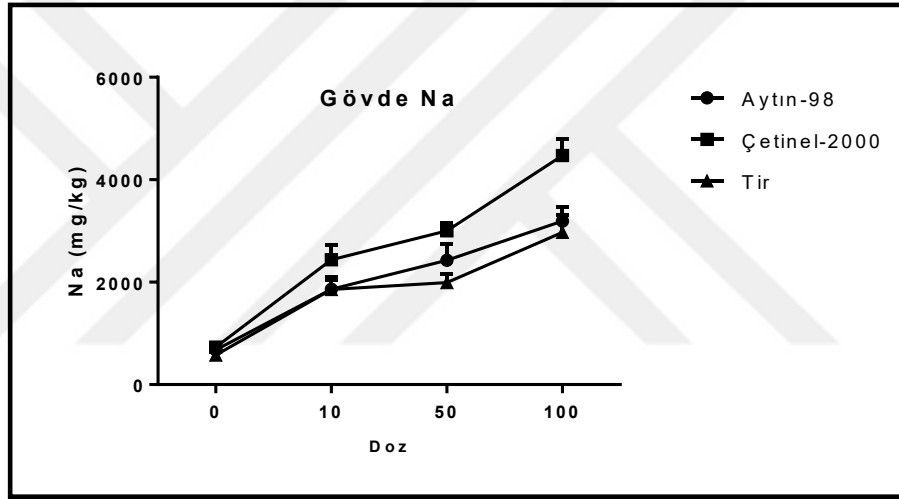
Çizelge 4.6 Kök ve gövde dokularındaki K, Na, Na/K üzerine genotipin ve NaHCO<sub>3</sub> dozunun etkisi

Genotip	Doz	KÖK			GÖVDE		
		K	Na	Na/K	K	Na	Na/K
Aytın-98	0	9820,27	812,00	0,08	15097,97	677,00	0,04
	10	8593,75	2414,07	0,28	12547,92	1860,37	0,15
	50	6988,71	2769,81	0,40	9417,37	2429,72	0,26
	100	7342,43	3329,55	0,45	7958,29	3190,52	0,41
	<i>Ortalama</i>	<i>8186,29</i>	<i>2331,36</i>	<i>0,30</i>	<i>11255,39</i>	<i>2039,40</i>	<i>0,22</i>
Çetinel-2000	0	10546,62	945,00	0,09	16067,57	734,00	0,05
	10	8451,88	3167,03	0,37	12271,04	2438,57	0,20
	50	7435,72	3710,37	0,50	9792,98	3004,25	0,31
	100	6103,89	3769,73	0,62	7837,28	4474,25	0,57
	<i>Ortalama</i>	<i>8134,53</i>	<i>2898,04</i>	<i>0,40</i>	<i>11492,22</i>	<i>2662,77</i>	<i>0,28</i>
Tır	0	11319,59	776,00	0,07	16452,70	578,00	0,04
	10	9620,21	2320,15	0,24	14028,96	1855,47	0,13
	50	7365,04	2601,27	0,35	11293,68	1992,33	0,18
	100	6348,44	3271,57	0,51	7649,85	2973,61	0,39
	<i>Ortalama</i>	<i>8663,32</i>	<i>2242,25</i>	<i>0,29</i>	<i>12356,30</i>	<i>1849,85</i>	<i>0,18</i>
Genotiplerin Ortalaması	0	10562,16	844,33	0,08	15872,75	663,00	0,04
	10	8888,61	2633,75	0,30	12949,31	2051,47	0,16
	50	7263,16	3027,15	0,42	10168,01	2475,44	0,25
	100	6598,25	3456,95	0,53	7815,14	3546,13	0,46
<b>Genel Ortalama</b>		<b>8328,05</b>	<b>2490,55</b>	<b>0,33</b>	<b>11701,30</b>	<b>2184,01</b>	<b>0,23</b>
F Değeri (Genotip) (G)		5,883**	23,699**	45,771**	9,85**	267,142**	2,561**
F Değeri (Doz) (D)		163,241**	185,087**	404,966**	41,08**	242,477**	5,874**
F Değeri (GxD)		6,443**	2,322 <sup>öd</sup>	5,991**	28,23*	260,719**	5,386**
LSD <sub>(0,05)</sub> G		350,80	213,26	0,02	538,79	193,70	0,03
LSD <sub>(0,05)</sub> D		405,06	246,26	0,03	622,15	223,66	0,03
LSD(GxD)		426,53	286,42	0,02	1077,59	158,15	0,03
VK (%)		5,00	10,16	8,63	5,46	10,52	14,32

\*\* : Çok önemli (p<0,01), \* : Önemli (p<0,05), <sup>öd</sup> : önemsiz (p>0,05).



Şekil 4.13 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki Na miktarları



Şekil 4.14 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki Na miktarları

#### 4.2.3. Na/K Oranı

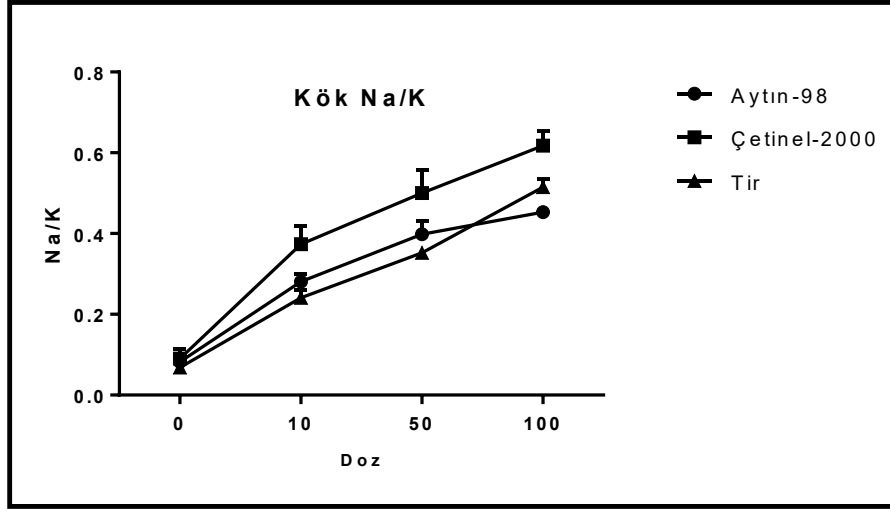
Kök ve Gövde dokularında Na/K üzerine genotipin  $\text{NaHCO}_3$  dozunun etkisi çok önemli ( $p < 0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.6). Kök dokusunda  $\text{NaHCO}_3$  dozunun ortalamasına göre genotiplerin Na/K miktarı 0,29 ile 0,40 mmol/kg arasında değişmiştir. Üç genotip arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. En yüksek Na/K miktarı Çetinel-2000 genotipinde 0,40 mmol/kg olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 0,30 ve 0,29 mmol/kg ile Aytın-98 ve Tir genotipleri izlemiştir. Gövde dokusunda ise  $\text{NaHCO}_3$  dozunun ortalamasına göre genotiplerin Na/K miktarı 0,18 ile 0,28 mmol/kg arasında değişim göstermektedir. Gövde dokusunda en yüksek Na/K miktarı kök dokusunda olduğu gibi

Çetinel-2000 genotipinde (0,28) tespit edilmiştir. Bunu yine sırasıyla 0,22 ve 0,18 mmol/kg ile Aytın-98 ve Tir genotipleri takip etmiştir.

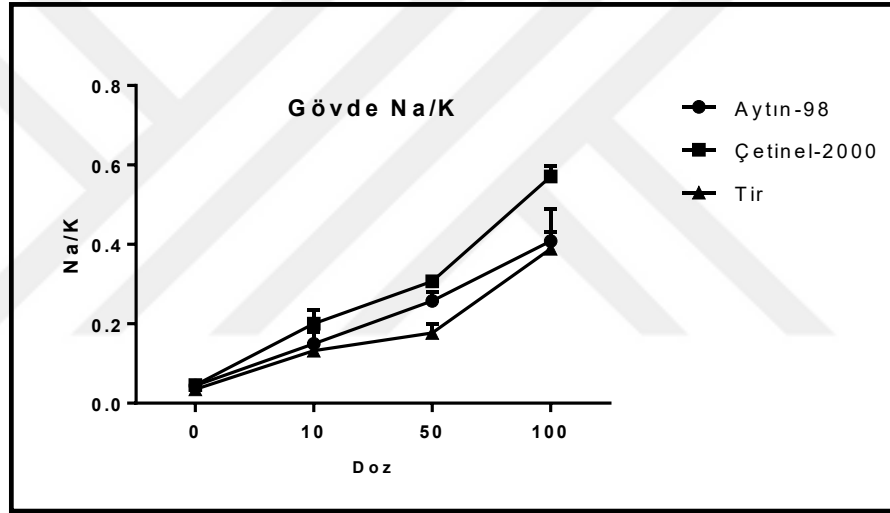
NaHCO<sub>3</sub> dozunun Na/K miktarı üzerine ana etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.6) dozun ana etkisi her iki doku tipinde çok önemli (p<0,01) olmuştur. Kök dokusunda genotiplerin ortalamasına göre dozların Na/K miktarı 0,08 ile 0,53 mmol/kg arasında değişmektedir. En düşük Na/K miktarı (0,08) 0 mM NaHCO<sub>3</sub> dozundan elde edilirken, en yüksek (0,53 mmol/kg) 100 mM NaHCO<sub>3</sub>'da elde edilmiştir. Çalışmada tüm dozlar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur. Diğer taraftan gövde dokusunda genotiplerin ortalamasına göre NaHCO<sub>3</sub> dozunun Na/K miktarı 0,04 ile 0,46 mmol/kg arasında değişim göstermiş ve aralarındaki farklar istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur (Şekil 4.15 ve 4.16).

Her iki doku tipinde de genotiplerin Na/K içeriği NaHCO<sub>3</sub> dozuna göre farklılık göstermesi Genotip x Doz interaksiyonunun çok önemli çıkmasına neden olmuştur (p<0,01). Kök dokusunda genotiplere göre NaHCO<sub>3</sub> dozunun Na/K miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm genotiplerde en düşük Na/K miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub>'te elde edilirken aynı şekilde en yüksek Na/K miktarı da tüm genotiplerde 100 mM NaHCO<sub>3</sub> belirlenmiştir. Gövde dokusunda kök dokusunda olduğu gibi en düşük Na/K miktarı 0 mM NaHCO<sub>3</sub>'te elde edilirken en yüksek Na/K miktarı da tüm genotiplerde 100 mM olarak tespit edilmiştir.





Şekil 4.15 Uygulama dozlarına göre genotiplerin kök dokusundaki Na/K miktarları



Şekil 4.16 Uygulama dozlarına göre genotiplerin gövde dokusundaki Na/K miktarları

#### 4.2.4. Na elementinin diğer elementler ile ilişkisi

Kök dokusunda Na ile Ca ( $r = -0,806$ ), Mg ( $r = -0,548$ ), K ( $r = -0,475$ ) ve P ( $r = -0,355$ ) arasındaki ilişki çok önemli ve olumsuz olurken, Na/K ( $r = 0,938$ ), B ( $r = 0,745$ ), Mn ( $r = 0,724$ ), Cu ( $r = 0,671$ ), Ni ( $r = 0,623$ ), Cd ( $r = 0,571$ ), Pb ( $r = 0,539$ ) ve Zn ( $r = 0,511$ ) ile olan ilişki ise çok önemli ve olumlu yönde olmuştur (Çizelge 4.7).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çizelge 4.7 Kök dokusunda Na elementi ve besin elementleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) (n = 27)

	Na	Na/K	P	Ca	Mg	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Cl	Cd	Pb	Ni
K	-0,475**	-0,678**	0,694**	0,338**	0,267*	-0,219*	-0,354**	-0,404**	-0,160	-0,462**	-0,237*	-0,338**	-0,368**	-0,355**
Na		0,938**	-0,355**	-0,806**	-0,548**	0,173	0,671**	0,724**	0,511**	0,745**	0,139	0,571**	0,539**	0,623**
Na/K			-0,512**	-0,715**	-0,495**	0,196	0,627**	0,721**	0,428**	0,750**	0,249*	0,537**	0,547**	0,578**
Ca					0,696**	-0,209*	-0,853**	-0,710**	-0,648**	-0,734**	0,089	-0,791**	-0,592**	-0,810**
Mg						-0,646**	-0,755**	-0,301**	-0,222*	-0,815**	-0,072	-0,869**	-0,257*	-0,862**

\*\* ve \* korelasyonlar sırasıyla 0.01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir.

Gövde dokusunda Na ile K (r = -0,843), Cl (r = -0,748), Cd (r = -0,443), Pb (r = -0,428) ve B (r = -0,326) arasındaki ilişki çok önemli ve olumsuz olurken, Na/K (r = 0,961), Cl (r = 0,745), Pb (r = 0,624), Cd (r = 0,391), B (r = 0,357) ve Mn (r = 0,310) ile olan ilişki ise çok önemli ve olumlu yönde olmuştur (Çizelge 4.8). Bu sonuçlara göre Na'nın kök dokusunda Ca ile gövde dokusunda ise K ve Cl ile negatif ilişkide olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Ni, Cu, Mn, Cd, Pb ve Zn gibi ağır metallere olumlu ilişkide olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.8 Gövde dokusunda Na elementi ve besin elementleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) (n = 27)

	Na	Na/K	P	Ca	Mg	Fe	Cu	Mn	Zn	B	Cl	Cd	Pb	Ni
K	-0,843**	-0,895**	0,897**	0,612**	0,336**	0,179	0,186	-0,213*	0,022	-0,326**	-0,748**	-0,443**	-0,428**	-0,058
Na		0,961**	-0,825**	-0,466**	-0,189	-0,403**	-0,310**	0,188	0,357**	0,745**	0,391**	0,624**	-0,080	
Na/K			-0,875**	-0,525**	-0,253*	-0,350**	-0,298**	0,269*	0,113	0,348**	0,778**	0,406**	0,584**	-0,083
Ca					0,022	-0,084	-0,136	-0,280**	0,139	0,155	-0,406**	-0,151	-0,141	0,016
Mg						-0,084	0,271**	0,184	0,216*	-0,433**	-0,401**	-0,603**	0,085	-0,583**

\*\* ve \* korelasyonlar sırasıyla 0.01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir.

### 4.3. Moleküler Analiz

#### 4.3.1. ISSR Primerlerinin Değerlendirilmesi ve Analizi

Çetinel-2000, Tir ve Aytın-98 ekmeklik buğday genotiplerinde NaHCO<sub>3</sub> ile oluşturulan alkali stres uygulamasının genom üzerindeki genetiksel etkilerini belirlemek için GKS değerleri hesaplanmıştır. Toplam 10 iSSR primeri denenerek bu primerler arasından en iyi polimorizm veren 5 primer (UBC-809, -811, -812, -825 ve -826) seçilerek incelenmiştir. TotalLab TL120 programı aracılığıyla elde edilen verilere dayanarak (Çizelge 4.9) GKS oranında alkali stresinin şiddetine bağlı olarak bir azalış belirlenmiştir.

Kontrolle karşılaştırıldığında Aytın-98 genotipinin gövde dokusunda alkali stresinde  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasının etkisiyle oluşan yeni bantların moleküler ağırlığı 768 bp ile 2086 bp arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 875 bp ile 3424 bp arasında değişmektedir. Kontrole göre kök dokusunda alkali stresinde  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasının etkisiyle oluşan yeni bantların moleküler ağırlığı 700 bp ile 1635 bp arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 748 bp ile 1451 bp arasında değişiklik göstermektedir. Aytın-98 genotipinin gövde dokusunda primerlerin alkali stresi ve  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasına göre kaybolan ve yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı kontrolle karşılaştırıldığında UBC-809 primerinde 1071 bp (yeni oluşan bant) ile 3424 bp (kaybolan bant); UBC-811 primerinde 768 bp (yeni oluşan bant) ile 1480 bp (kaybolan bant); UBC-812 primerinde yeni oluşan bantlar 903 bp ile 2086 bp arasında iken kaybolan bantlar 1273 bp ile 1855 bp arasında değişiklik göstermiştir. UBC-825 primerinde yeni bant oluşan bant 1144 bp iken kaybolan bant 1743 bp ve UBC-826 primerinde yeni bant oluşan bant 937 bp iken kaybolan bant 875 bp olarak belirlenmiştir. Aytın-98 genotipinin kök dokusunda primerlerin alkali stresi ve  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasına göre kaybolan ve yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı kontrolle karşılaştırıldığında UBC-809 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken yeni oluşan bantlar 1380 bp ile 1500 bp; UBC-811 primerinde yeni oluşan bant 1100 bp iken kaybolan bantlar 748 bp ile 1338 bp yeni bant oluşan bant 1144 bp iken kaybolan bant 1743 bp; UBC-812 primerinde 923 bp (yeni oluşan bant)-1519 bp (kaybolan bant); UBC-825 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken oluşan yeni bantlar 700 bp ile 1635 bp arasında ve UBC-826 primerinde yeni oluşan bant gözlemlenmezken kaybolan bantlar 1079 bp ile 1451 bp arasında değişiklik göstermektedir (Çizelge 4.10).

Kontrolle göre Aytın-98 genotipinin kök dokusunda en düşük GKS değeri %71,46 (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) en yüksek GKS değeri %81,1 (10 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) olarak tespit edilmiştir ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise GKS değeri %78,14' dür. Kontrole göre Aytın-98 genotipinin gövde dokusunda en düşük GKS değeri %70,72 (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) en yüksek GKS değeri %76,9 (10 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) olarak tespit edilmiştir ve ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise GKS değeri %73,6' dır. Aytın-98 genotipinin kök dokusunda polimorfizm oranları en düşük %18,9 ile 10 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda, en yüksek %28,54 ile 100 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda belirlenmiştir ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise polimorfizm değeri %21,86' dır. Aytın-98 genotipinin gövde dokusunda

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

polimorfizm oranları ise en düşük %23,1 ile 10 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda, en yüksek %29,78 ile 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir ve 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda ise polimorfizm değeri %26,4'dür.

Diğer NaHCO<sub>3</sub> uygulamalarına kıyasla Aydın-98 genotipinin kök dokusunda en yüksek polimorfizm 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda UBC-811 primerinde %50 olarak belirlenmiştir. Aydın-98 genotipinin gövde dokusunda en yüksek polimorfizm 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda UBC-811 primerinde %50 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.9 Aydın-98 genotipinin kök ve gövde dokularında genomik kalıp stabilite ve polimorfizm oranları

AYTIN-98								
Primer	KÖK				Gövde			
	Doz (mM)				Doz (mM)			
	0	10	50	100	0	10	50	100
UBC-809	100	80	80	80	100	75	58,33	75
UBC-811	100	100	83,4	50	100	83,4	66,67	50
UBC-812	100	71,4	85,7	85,7	100	57,1	71,4	57,1
UBC-825	100	66,6	66,6	66,6	100	85,7	71,4	85,7
UBC-826	100	87,5	75	75	100	83,3	100	83,3
GKS%	100	81,1	78,14	71,46	100	76,9	73,6	70,22
POL%	0	18,9	21,86	28,54	0	23,1	26,4	29,78

Çizelge 4.10 Aytın-98 genotipinde ISSR moleküler markörüyle NaHCO<sub>3</sub> dozlarında kontrole göre meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları

ISSR Primerleri	( +/- )	KÖK				GÖVDE			
		0 mM	10 mM	50 mM	100 mM	0 mM	10 mM	50 mM	100 mM
UBC-809	(+)	5	1500	1500	1380		1071; 1190		1071
	(-)					12	1648; 2000; 2112; 2310; 2541; 2806; 3424	1723; 2000; 2112; 2310; 2541; 2806; 3424	1648; 1723; 2000; 2112; 2310; 2541; 2806; 3424
UBC-811	(+)				1110				768
	(-)	6		748	748; 1338	6	1480	1442; 1480	1442; 1480
UBC-812	(+)		923; 1163		942		1519; 2086	1163	903; 1607
	(-)	7		1519		7	1855	1273	1273
UBC-825	(+)	9	960; 1163; 1279	740; 840; 1000; 1163; 1259; 1362	700; 800; 1000; 1181; 1299; 1635	7		1144	
	(-)						1743	1743	1743
UBC-826	(+)						937		
	(-)	8	1079	1079; 1301	1207; 1451	6			875

(+/-): yeni/kaybolan bantlar

TotalLab TL120 programı aracılığıyla elde edilen verilere dayanarak (Çizelge 4.11) GKS oranında alkali stresinin şiddetine bağlı olarak bir azalış belirlenmiştir.

Kontrolle karşılaştırıldığında Çetinel 2000 genotipinin gövde dokusunda alkali stresinde  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasının etkisiyle oluşan yeni bantların moleküler ağırlığı 695 bp ile 4169 bp arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 365 bp ile 2807 bp arasında değişmektedir. Kontrole göre kök dokusunda alkali stresinde  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasının etkisiyle oluşan yeni bantların moleküler ağırlığı 456 bp ile 2086 bp arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 782 bp ile 1583 bp arasında değişiklik göstermektedir. Çetinel 2000 genotipinin gövde dokusunda primerlerin alkali stresi ve  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasına göre kaybolan ve yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı kontrolle karşılaştırıldığında UBC-809 primerinde yeni bant oluşumu gözlemlenmezken kaybolan bantlar 1357 bp- 1671 bp; UBC-811 primerinde 695 bp (yeni oluşan bant)-2807 bp (kaybolan bant); UBC-812 primerinde 2000 bp (kaybolan bant)-4169 bp (yeni oluşan bant); UBC-825 primerinde yeni bant oluşumu gözlemlenmezken kaybolan bantlar 920 bp ile 1341 bp ve UBC-826 primerinde 804 bp yeni bant oluşumu tespit edilirken kaybolan bantlar 565 bp-1479 bp arasında değişiklik göstermiştir. Çetinel-2000 genotipinin kök dokusunda primerlerin alkali stresi ve  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasına göre kaybolan ve yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı kontrolle karşılaştırıldığında UBC-809 primerinde 976 bp (kaybolan bant)- 1593 bp (yeni oluşan bant); UBC-811 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken oluşan yeni bantlar 596 bp ile 2000 bp; UBC-812 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken oluşan yeni bantlar 1352 bp ile 2086 bp; UBC-825 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken oluşan yeni bantlar 780 bp ile 2000 bp ve UBC-826 primerinde 456 bp (yeni oluşan bant)-1583 bp (kaybolan bant) arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4.12).

Kontrolle göre Çetinel 2000 genotipinin kök dokusunda en düşük GKS değeri %42,32 (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) en yüksek GKS değeri %60,94 (10 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) olarak tespit edilmiştir ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise GKS değeri %58,32' dir. Kontrole göre Çetinel 2000 genotipinin gövde dokusunda en düşük GKS değeri %66,16 (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) en yüksek GKS değeri %78 (10 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) olarak tespit edilmiştir ve ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise GKS değeri %73,46' dir. Çetinel 2000 genotipinin kök

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

dokusunda polimorfizm oranları en düşük %39,06 ile 10 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda, en yüksek %57,68 ile 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir ve 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda ise polimorfizm değeri %41,68' dir. Çetinel 2000 genotipinin gövde dokusunda polimorfizm oranları ise en düşük %22 ile 10 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda, en yüksek %33,84 ile 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda belirlenmiştir ve 50 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda ise polimorfizm değeri %26,54'tür.

Diğer NaHCO<sub>3</sub> uygulamalarına kıyasla Çetinel-2000 genotipinin kök dokusunda en yüksek polimorfizm 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda UBC-811 ve 825 primerlerinde %80 olarak belirlenmiştir. Çetinel-2000 genotipinin gövde dokusunda en yüksek polimorfizm 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda UBC-825 primerinde %57,1 olarak belirlenmiştir.

Kontrolle karşılaştırıldığında Tir genotipinin gövde dokusunda alkali stresinde NaHCO<sub>3</sub> uygulamasının etkisiyle oluşan yeni bantların moleküler ağırlığı 229 bp ile 1567 bp arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 479 bp ile 2807 bp arasında değişmektedir. Kontrole göre kök dokusunda alkali stresinde NaHCO<sub>3</sub> uygulamasının etkisiyle oluşan yeni bantların moleküler ağırlığı 515 bp ile 2000 bp arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 250 bp ile 2000 bp arasında değişiklik göstermektedir.

Çizelge 4.11 Çetinel-2000 genotipinin kök ve gövde dokularında genomik kalıp stabilite ve polimorfizm oranları

ÇETİNEL-2000								
Primer	KÖK				Gövde			
	Doz (mM)				Doz (mM)			
	0	10	50	100	0	10	50	100
UBC-809	100	33,3	50	50	100	83,3	83,3	83,3
UBC-811	100	60	40	20	100	75	66,6	66,6
UBC-812	100	80	60	40	100	100	85,7	71,4
UBC-825	100	60	60	20	100	42,9	42,9	42,9
UBC-826	100	71,4	81,6	81,6	100	88,8	88,8	66,6
GKS%	100	60,94	58,32	42,32	100	78	73,46	66,16
POL%	0	39,06	41,68	57,68	0	22	26,54	33,84

Çizelge 4.12 Çetinel-2000 genotipinde ISSR moleküler markörüyle NaHCO<sub>3</sub> dozlarında kontrole göre meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları

ISSR Primerleri	(±)	KÖK				GÖVDE			
		0 mM	10 mM	50 mM	100 mM	0 mM	10 mM	50 mM	100 mM
UBC-809	(+)	6	1522; 1593	1357; 1578	1380; 1564	6			
	(-)		976; 1047	976	976		1357	1509	1671
UBC-811	(+)	5	939; 1459; 1465; 2000	911; 1459; 2000	596; 858; 1459; 1867	12	695		
	(-)						1465; 1867; 2807	1465; 1867; 2807	1205; 1544; 2324; 2807
UBC-812	(+)	4	1370; 1540; 2086	1529; 1855	1352; 1923	5	3000	3167	2850; 4169
	(-)						2000	2000	
UBC-825	(+)	5	1475; 1883	1452; 2000	780; 920; 1071; 1239	7			
	(-)						920; 1000; 1279; 1341	920; 1000; 1279; 1341	920; 1000; 1279; 1341
UBC-826	(+)	7	456; 1022	1067	1112	9			804
	(-)			782; 1583	1418; 1583		739	739	565; 1479

(±): yeni/kaybolan bantlar



TotalLab TL120 programı aracılığıyla elde edilen verilere dayanarak (Çizelge 4.13) GKS oranında alkali stresinin şiddetine bağlı olarak bir azalış belirlenmiştir.

Tir genotipinin gövde dokusunda primerlerin alkali stresi ve  $\text{NaHCO}_3$  dozlarına göre kaybolan ve yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı kontrolle karşılaştırıldığında UBC-809 primerinde 939 bp (yeni oluşan bant) ile 1442 bp (kaybolan bant); UBC-811 primerinde 695 bp (yeni oluşan bant) ile 2807 bp (kaybolan bant); UBC-812 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken yeni oluşan bantlar 730 bp ile 1567 bp; UBC- 825 primerinde kaybolan bant gözlemlenmezken yeni oluşan bantlar 913 bp ile 1397 bp arasında değişiklik göstermiştir ve UBC-826 primerinde yeni bantlar 229 bp ve 870 bp iken kaybolan bantlar 479 bp ve 662 bp olarak belirlenmiştir. Tir genotipinin kök dokusunda primerlerin alkali stresi ve  $\text{NaHCO}_3$  uygulamasına göre kaybolan ve yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı kontrolle karşılaştırıldığında UBC- 809 primerinde kaybolan bantlar 730 ile 1338 bp iken yeni oluşan bant ise 1100 bp olarak belirlenirken; UBC-811 primerinde kaybolan bantlar 748 ve 1338 bp iken yeni oluşan bant ise 1100 bp; UBC-812 primerinde yeni oluşan bant 1205 bp iken kaybolan bantlar 730 bp ile 2000 bp; UBC- 825 primerinde 515 bp (yeni oluşan bant) ile 1196 bp (kaybolan bant) ve UBC-826 primerinde yeni bant oluşumu gözlemlenmezken kaybolan bantlar 250 bp ile 785 bp arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.14).

Kontrole göre Tir genotipinin kök dokusunda en düşük GKS değeri %59,72 (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) en yüksek GKS değeri %84,58 (10 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) olarak tespit edilmiştir ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise GKS değeri %75,96' dır. Kontrole göre Tir genotipinin gövde dokusunda en düşük GKS değeri %60,66 (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) en yüksek GKS değeri %72,64 (10 mM  $\text{NaHCO}_3$ ) olarak tespit edilmiştir ve ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise GKS değeri %63,98' dir. Tir genotipinin kök dokusunda polimorfizm oranları en düşük %15,42 ile 10 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda, en yüksek %40,28 ile 100 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda belirlenmiştir ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise polimorfizm değeri %24,04'dür. Tir genotipinin gövde dokusunda polimorfizm oranları ise en düşük %27,36 ile 10 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda, en yüksek %39,34 ile 100 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda belirlenmiştir ve 50 mM  $\text{NaHCO}_3$  dozunda ise polimorfizm değeri %36,02'tür.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Diğer NaHCO<sub>3</sub> uygulamalarına kıyasla Tir genotipinin kök dokusunda en yüksek polimorfizm 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda UBC-825 primerinde %80 olarak belirlenmiştir. Tir genotipinin gövde dokusunda en yüksek polimorfizm 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda UBC-825 primerinde %66,7 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.13 Tir genotipinin kök ve gövde dokularında genomik kalıp stabilite ve polimorfizm oranları

Primer	TİR							
	KÖK				Gövde			
	Doz (mM)				Doz (mM)			
	0	10	50	100	0	10	50	100
UBC-809	100	100	83,3	50	100	83,3	66,6	50
UBC-811	100	100	25	100	100	70	80	70
UBC-812	100	71,5	71,5	71,5	100	60	40	100
UBC-825	100	80	100	20	100	66,6	33,3	33,3
UBC-826	100	71,4	100	57,1	100	83,3	100	50
GKS%	100	84,58	75,96	59,72	100	72,64	63,98	60,66
POL%	0	15,42	24,04	40,28	0	27,36	36,02	39,34

Çizelge 4.14 Tir genotipinde ISSR moleküler markörüyle NaHCO<sub>3</sub> dozlarında kontrole göre meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları

ISSR Primerleri	(+/-)	KÖK				GÖVDE			
		0 mM	10 Mm	50 Mm	100 Mm	0 mM	10 Mm	50 Mm	100 Mm
UBC-809	(+)				1100				939
	(-)	6		748	748; 1338	6	1408	1408; 1442	1442; 1480
UBC-811	(+)	4	1066; 1459; 1465; 2000	911; 1459; 2000	596; 858; 1459; 1867	10	695		
	(-)						1867; 1807	1867; 2807	1205; 2324; 2807
UBC-812	(+)	7			1205	5	1360; 1567	923; 1397; 1532	730; 884; 942; 1360; 1549
	(-)		730; 2000	1500; 2000	2000				
UBC-825	(+)	5	1500		515; 641	3	1397	913; 1135	934; 1333
	(-)				1000; 1196				
UBC-826	(+)	7				6			229; 870
	(-)		250; 621		375; 682; 785		479		662

(+/-): yeni/kaybolan bantlar

Reaktif oksijen türleri başlangıçta aerobik metabolizmanın ürünleriyle toksik olarak tanımlanmıştır. ROS bitkilerde sinyal molekülü olarak önemli bir rol oynar. ROS sinyalleme büyüme, gelişme ve özellikle biyotik ve abiyotik stres etmenlerine yanıt gibi pek çok işlevi düzenler. ROS üyeleri  $H_2O_2$  ve  $^1O_2$  gibi radikal olmayanlar,  $O_2^-$  ve  $OH^\bullet$  gibi serbest radikallerdir (Tanotra 2017). Alkali toleransı mekanizması üzerine yapılan çalışmalar sadece osmotik ve iyon dengesine odaklanmıştır (Yang et al. 2008; Li et al. 2011). Antioksidan enzimler üzerine yapılan çalışmalar ise oldukça nadirdir. Yapılan bu çalışmada kontrole göre kök ve gövde dokularında  $H_2O_2$  miktarı Çetinel-2000 çeşidinde artan  $NaHCO_3$  dozlarında artarken, Aytın-98 ve Tir genotiplerinde ise kontrol örneklerinden itibaren artan  $NaHCO_3$  dozlarında azalış olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada alkali stresinin  $30 \text{ mmol L}^{-1}$ 'den fazla olması durumunda  $H_2O_2$  miktarında önemli artışların olduğu bildirilmiştir (Zhang and Mu 2009).

Süperoksit dismutaz,  $O_2^{\bullet-}$ 'yi  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'ye dönüştürür ve bitki hücrelerini korumada önemli bir rolü bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada her üç genotipin kök dokularında SOD miktarı  $NaHCO_3$ 'ün artan dozlarında arttığı, buna karşın gövde dokularında Çetinel-2000 ve Aytın-98 genotiplerinde yine arttığı Tir genotipinde ise  $100 \text{ mM}$  dozunda önemli bir azalış meydana gelmiştir. POD ise Kalvin Döngüsünü engelleyen  $H_2O_2$ 'yi uzaklaştırır. POD enzim aktivesi SOD'ta olduğu gibi kök ve gövde dokularında Çetinel-2000 genotipinde  $NaHCO_3$ 'ün artan dozuna bağlı olarak artmıştır. Diğer taraftan Tir genotipinin kontrolüne göre  $10 \text{ mM}$   $NaHCO_3$  dozunda azalış meydana gelse de  $50 \text{ mM}$ 'lik dozda tekrar artmış ve  $100 \text{ mM}$ 'de ise önemli bir azalış meydana gelmiştir. Aytın-98 genotipinde ise kontrole göre  $50 \text{ mM}$ 'lik doza kadar lineer bir artış varken  $100 \text{ mM}$ 'de Tir genotipine benzer olarak önemli bir azalış göstermiştir. Literatür çalışmalarında ise SOD ve POD enzim aktivitesinin pozitif korelasyona sahip olduğu bildirilmiştir (Bai et al 2013). Çetinel-2000 genotipinin kök ve gövde dokularında bu korelasyon SOD ve POD benzer olmuştur. Bu ise literatürü destekler bir sonuçtur. Katalaz enzim aktivitesi kök dokularında yapılan incelemede  $NaHCO_3$ 'ün dozlarına bağlı olarak artış göstermiştir. Diğer taraftan Aytın-98 ve Tir genotiplerinde kontrole göre  $50 \text{ mM}$ 'lik  $NaHCO_3$  dozuna kadar artışlar olmuş, ancak  $100 \text{ mM}$ 'lik  $NaHCO_3$  dozunda azalmalar gerçekleşmiştir. Gövde dokularında ise yine Çetinel-2000 genotipinde katalaz aktivitesi kullanılan dozlara bağlı olarak artış göstermiş, diğer genotiplerde ise uygulama dozlarında artışlar ve azalışlar meydana gelmiştir. Diğer

tarafından çalışmamızdaki bulgulardan farklı olarak Adriano et al. (2005)'e göre çeşitli çevresel stres koşulları altında toleranslı genotiplerdeki antioksidan enzim aktivitesinin hassas genotiplerdekinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu farklılığın muhtemel nedeni antioksidanların yüksek düzeylerine sahip bitkiler oksidatif hasara daha dayanıklı oldukları rapor edilmiştir. Bazı araştırmalarda strese yanıt mekanizmasında aynı türün çeşitleri arasında farklılıklar olabileceği bildirilmiştir. Strese bitkilerin yanıtları çeşitli olmakla beraber stresin uygulandığı bitkinin gelişme dönemi, bitkinin yaşı, stresin süresi ve bitkinin genotipine bağlıdır (Kusvuran et al. 2016).

MDA, ROS'ların neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. MDA çevresel streslerin neden olduğu oksidatif lipid yaralanmasının yaygın kullanılan bir markörüdür (Kong et al 2016). Aynı zamanda MDA, stres şartları altında bitkileri stres toleransını belirlemede önemli bir kriterdir (Yu et al. 2015). Kök dokusunda yapılan incelemelerde alkali stresi uygulanan Aytın-98, Çetinel-2000 ve Tir genotiplerinde kontrolle karşılaştırıldığında MDA içeriğinde başlangıçta artışlar olduğu tespit edilmiştir. Tüm dozlarda sadece Çetinel-2000 genotipinde artışlar devamlı olmuştur. Aytın-98 ve Tir genotiplerinde ise 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda azalış meydana gelmiştir. Gövde dokusunda ise kök dokusuna benzer şekilde Çetinel-2000 genotipinde MDA düzeyinde artış meydana gelmiş diğer iki genotipte ise 100 mM NaHCO<sub>3</sub> dozunda azalış tespit edilmiştir. Bai et al. (2013) yaptıkları çalışmalarında alkali koşullara dayanıklı Vao-9 ve hassas olan Baiyan 5 genotiplerini kullanmıştır. Bu çalışmada her iki genotip arasındaki farkın önemli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Vao-9'daki MDA içeriği Baiyan 5'in MDA içeriğinden daha düşük olmuştur. Aytın-98 ve Tir genotiplerinin ROS'ların zararını azaltmak için benzer potansiyellere sahip olduklarını göstermektedir. Bu ise MDA seviyesinin strese dayanıklılıkta bir gösterge olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde Zhao et al (2013) yaptıkları çalışmalarında alkali stresine maruz bırakılan sorgum bitkisinde kontrole göre stresli bitkilerde MDA içeriğinin arttığı bildirilmiştir. Zhang and Mu (2009) *Lathyrus quinquenervius* tuz ve alkali stresinin çimlenme, büyüme, fotosentez, iyon dengesi ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada alkali stresinin artan dozlarından MDA içeriğinin de arttığı bildirilmiştir. Transgenik bitkilerle yapılan çalışmalarda ise Arabidopsis bitkisinde aşırı ifade ettirilen MaPIP1 geni kuralık ve tuz koşulları altında azalan bir MDA içeriği göstermiştir. Benzer olarak aşırı ifade ettirilen TaAQP7 (PIP2

alt grubu aquaporin geni) ve TaAQP8 (PIP1 alt grubu aquaporin geni) transgenik tütün bitkileri tuz stresi altında yabancı tip bitkilerden daha düşük MDA seviyelerine sahip olmuşlardır. Aşırı ifade ettirilen MusaPIP2;6 içeren transgenik muz bitkisinde tuz stresi şartları altında transgenik olmayan bitkiye göre MDA seviyeleri daha düşük olmuştur (Yu et al. 2015). Verilen bu literatür çalışmalarında stres koşulları altında transgenik bitkilerde MDA içeriğinde azalma olduğu ve bu bitkilerin hassas olduğu gösterilmiştir.

Yapılan element analizlerinde Na, K ve Na/K oranları tespit edilmiştir. Potasyum oranları hem kök hem de gövde dokularında uygulanan dozlara bağlı olarak azalışlar göstermiştir. Potasyumun azalan oranlarının tersine Na oranları hem kök hem de gövde dokularında önemli artışlar göstermiştir. Na/K oranları ise Na'ya benzer olarak her iki doku tipinde de  $\text{NaHCO}_3$  dozlarında artışlar göstermiş olup bulunan bu sonuçlar literatürle benzerlik göstermektedir. Zhang and Mu (2009)'ya göre 8 haftalık süreyle yetiştirilen *L. quinquenervius* fideleri 10 günlük alkali stresine maruz kaldıktan sonra sürgünlerden alınan örneklerde artan alkali oranına bağlı olarak Ca, Fe ve Na miktarlarında artış gözlemlenirken, K ve Mg elementlerinde azalışlar tespit edilmiştir. Na/K oranı ise LSD testine göre önemli bulunmuştur.

Çalışmamızda elde ettiğimiz GKS oranlarındaki düşüş  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dozlarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dozu arttıkça GKS değeri azalmıştır. Oluşan bu azalmanın nedeni strese bağlı olarak DNA zinciri üzerinde meydana gelen hasarlardan ya da DNA onarım mekanizmasındaki aksaklıklardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Çalışmamıza benzer olarak Atienzar et al (1999) DNA hasar seviyelerinin GKS'ye yansiyebileceği belirtmişlerdir. Saleh (2016) ise tuz stresi altında pamuktaki DNA değişimleri ile ilgili yaptığı çalışmada, bant kaybının, genomik düzenlemelere veya oligonükleotit hazırlama bölgelerindeki değişikliklere neden olan mutasyonların kaynak olabileceğini belirtmiştir. Yeni bantların ortaya çıkmasının ise yapısal değişikliklerden (DNA mutasyonu, silme veya homolog rekombinasyon) sonra oligonükleotit primerlerine erişilebilen oligonükleotit hazırlama bölgelerinin varlığı ile ilgili olabileceğini göstermiştir. Ayrıca Dojan et al (2012), pamukta NaCl stresi altında GKS ile diğer parametreler (kök ve yaprak büyümesi ve kök uzunluğu) arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmiştir. Aly (2012) ise mısır, yonca ve Sudan çimeni

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

---

fidelerinde kadmiyum (Cd) konsantrasyonundaki artışla GKS değerlerinin belirgin Şekilde azaldığını bildirmiştir.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde Aytın-98, Çetinel-2000 ve Tir genotiplerinde alkali stresine karşı farklı derecelerde dayanıklılık düzeylerinin olduğu tespit edilmiştir. Özellikle yapılan MDA analizine göre Çetinel-2000 genotipinin  $\text{NaHCO}_3$  ile yapay olarak oluşturulan alkali koşulların tüm dozlarına karşı hassas olduğu diğer taraftan Aytın-98 ve Tir genotiplerinin ise alkali koşullara karşı Çetinel-2000'ne göre daha dayanıklı oldukları anlaşılmıştır. Buğday genotiplerinin alkali koşullara karşı tepkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi için transkriptom analizlerinin yapılması gen/genler düzeyinde bu çalışmadaki bulguları destekler nitelikte olacaktır.





## KAYNAKLAR

- Abreu, I. A., Cabelli, D. E. 2010. Superoxide dismutases a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(2), 263-274.
- AbuQamar, S., Luo, H., Laluk, K., Mickelbart, M. V., Mengiste, T. 2009. Crosstalk between biotic and abiotic stress responses in tomato is mediated by the AIM1 transcription factor. *The Plant Journal*, 58(2), 347-360.
- Aly, A. A. 2012. Application of DNA (RAPD) and ultrastructure to detect the effect of cadmium stress in Egyptian clover and Sudan grass plantlets. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8(1), 241-257.
- Andreasson, E., Ellis, B. 2010. Convergence and specificity in the Arabidopsis MAPK nexus. *Trends in plant science*, 15(2), 106-113.
- Anonymous, 2019. [http://www.unikonstanz.de/FuF/pflanzenphysbiochem/AG\\_Funk/research.html](http://www.unikonstanz.de/FuF/pflanzenphysbiochem/AG_Funk/research.html) Erişim Tarihi: 10.01.2019.
- Ashraf, M. F. M. R., Foolad, M. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.
- Asselbergh, B. O. B., Achuo, A. E., Höfte, M., Van Gijsegem, F. 2008. Abscisic acid deficiency leads to rapid activation of tomato defence responses upon infection with *Erwinia chrysanthemi*. *Molecular Plant Pathology*, 9(1), 11-24.
- Atienzar, F. A., Conradi, M., Evenden, A. J., Jha, A. N., Depledge, M. H. 1999. Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo [a] pyrene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(10), 2275-2282.
- Atkinson, N. J., Urwin, P. E. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of experimental botany*, 63(10), 3523-3543.
- Avciođlu, R., Demirođlu, G., Khalvati, M. A., ve Geren, H., 2003. Ozmotik basıncın bazı kùltür bitkilerinin erken gelişme dönemindeki etkileri II. Prolin, Klorofil Birikimi ve Zar Dayanıklılığı. *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakùltesi Dergisi*, 40(2):9-16.
- Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S., 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
- Bai, J. H., Liu, J. H., Zhang, N., Yang, J. H., SA, R. L., Lan, W. U. 2013. Effect of alkali stress on soluble sugar, antioxidant enzymes and yield of oat. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(8), 1441-1449.

- Becana, M., Aparicio-Tejo, P., Irigoyen, J. J., Sanchez-Diaz, M. 1986. Some enzymes of hydrogen peroxide metabolism in leaves and root nodules of *Medicago sativa*. *Plant Physiology*, 82(4), 1169-1171.
- Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Curr Sci* 89(7), 1113–1121.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- Britt, A. B. 1999. Molecular genetics of DNA repair in higher plants. *Trends in plant science*, 4(1), 20-25.
- Brown, J. K., Hovmøller, M. S. 2002. Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science*, 297(5581), 537-541.
- Budak, M., 2012. Tuzlu alkali toprakların oluşumu, sınıflandırılması ve klasik toprak etüd ve jeostatistik yöntemlerle haritalanması. Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, 254, Tokat.
- Büyük, İ., Soydam Aydın, S., Aras, S. 2012. Molecular responses of plants to stress conditions. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 69(2), 97-110.
- Castillo, F. J., Penel, C., Greppin, H. 1984. Peroxidase release induced by ozone in *Sedum album* leaves: involvement of  $Ca^{2+}$ . *Plant physiology*, 74(4), 846-851.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., Margis-Pinheiro, M. 2012. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1011-1019.
- Chinnusamy, V., Schumaker, K., Zhu, J. K. 2004. Molecular genetic perspectives on cross talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *Journal of experimental botany*, 55(395), 225-236.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., Lunec, J. 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17(10), 1195-1214.
- Das K and Roychoudhury A 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front Environ Sci* 2: 53.
- Dat, J., Vandenberghe, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D., & Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57(5), 779-795.
- del Río, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M., Gómez, M., Barroso, J. B. 2002. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1255-1272.

- Deliboran, A., Savran, Ş., 2015. Toprak Tuzluluğu ve Tuzluluğa Bitkilerin Dayanım Mekanizmaları. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, (1), 57-61.
- Doğan, İ., Kekeç, G., Özyiğit, İ. İ., Sakçalı, M. S. 2012. Salinity induced changes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Pak J Bot, 44, pp. 21-25
- Eltayeb, A. E., Kawano, N., Badawi, G. H., Kaminaka, H., Sanekata, T., Shibahara, T., Tanaka, K. 2007. Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses. *Planta*, 225(5), 1255-1264.
- Fatma E, El-Quesni M, El-Aziz A, Nahed G and Kandil M M 2009. Some studies on the effect of ascorbic acid and tocopherol on the growth and some chemical composition of *Hibiscus rosasineses* L. at Nubaria, Ozean. *J Appl Sci* 2: 159-67.
- Fidan, A. 2007. Bazı pestisidlerin turuncgillerin fizyolojik ve anatomik özellikleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Foyer, C. H., Noctor, G. 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*, 17(7), 1866-1875.
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. 2006. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current opinion in plant biology*, 9(4), 436-442.
- Gill, S. S., Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gratão, P. L., Polle, A., Lea, P. J., Azevedo, R. A. 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional plant biology*, 32(6), 481-494.
- Guo, R., Shi, L., Yang, Y. 2009. Germination, growth, osmotic adjustment and ionic balance of wheat in response to saline and alkali stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55(5), 667-679.
- Hari Prasath, C.N., Sudarshan, A. 2014. Effect of Soil Sodicity on Seed Germination of Different Tree Species. *International Journal of Science and Research*, 3 (11): 3027 – 3029.
- Hasanuzzaman, M., Fujita, M. 2011. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research*, 143(3), 1758-1776.
- Heath, R. L., Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1), 189-198.

- Heil, M., Bostock, R. M. 2002. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. *Annals of botany*, 89(5), 503-512.
- Hoagland, D. R., Arnon, D. I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347(2nd edit).
- 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(4), 604-611.
- Hu, L., Zhang, P., Jiang, Y., Fu, J. 2015. Metabolomic analysis revealed differential adaptation to salinity and alkali ity stress in Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*). *Plant molecular biology reporter*, 33(1), 56-68.
- Huang, C., He, W., Guo, J., Chang, X., Su, P., Zhang, L. 2005. Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant. *Journal of Experimental Botany*, 56(422), 3041-3049.
- İlhan, E., 2013. Domates *fw2.2* Verim Geninin Buğday Ortologlarının Klonlanması ve Önemli Buğday Çeşitlerinin Genomik ve Fonksiyonel Genomik Bazında *fw2.2* Buğday Ortologu ile Taranması, Doktora Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Jubany-Marí, T., Munné-Bosch, S., López-Carbonell, M., Alegre, L. 2008. Hydrogen peroxide is involved in the acclimation of the Mediterranean shrub, *Cistus albidus* L., to summer drought. *Journal of experimental botany*, 60(1), 107-120.
- Koç E., 2010 *Phytophthora capsici* Leon. 'un farklı İnokulum Konsantrasyonlarının Biberde (*Capsicum annuum* L.) Antioksidanlara Etkisi, Doktora Tezi Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, , Ankara.
- Kong, W., Liu, F., Zhang, C., Zhang, J., Feng, H. 2016. Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. *Scientific reports*, 6, 35393.
- Koyro, H. W., Ahmad, P., Geissler, N. 2012. Abiotic stress responses in plants: an overview. In *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change* Springer,(pp. 1-28).
- Kusvuran, S., Kiran, S., Ellialtıoglu, S.S., 2016. Antioxidant Enzyme Activities and Abiotic Stress Tolerance Relationship in Vegetable Crops. In: Shanker, Arun K., Shanker, Chitra (Eds.), *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives*. Intech, pp. 481–506 (Chapter).
- Li, X., Liu, J., Zhang, Y., Lin, J., Mu, C. 2009. Physiological responses and adaptive strategies of wheat seedlings to salt and alkali stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55(5), 680-684.
- Lunde, C., Baumann, U., Shirley, N. J., Drew, D. P., Fincher, G. B. 2006. Gene structure and expression pattern analysis of three monodehydroascorbate

reductase (Mdhar) genes in *Physcomitrella patens*: implications for the evolution of the MDHAR family in plants. *Plant molecular biology*, 60(2), 259-275.

Lunde, C., Drew, D. P., Jacobs, A. K., Tester, M. 2007. Exclusion of Na<sup>+</sup> via sodium ATPase (PpENA1) ensures normal growth of *Physcomitrella patens* under moderate salt stress. *Plant physiology*, 144(4), 1786-1796.

Ma, H., Yang, H., Lü, X., Pan, Y., Wu, H., Liang, Z., Ooi, M. K. 2015. Does high pH give a reliable assessment of the effect of alkali soil on seed germination? A case study with *Leymus chinensis* (Poaceae). *Plant and soil*, 394(1-2), 35-43.

Maron, J. L., Kauffman, M. J. 2006. Habitat specific impacts of multiple consumers on plant population dynamics. *Ecology*, 87(1), 113-124.

Massad, T. J., Dyer, L. A., Vega, G. 2012. Costs of defense and a test of the carbon-nutrient balance and growth-differentiation balance hypotheses for two co-occurring classes of plant defense. *PLoS One*, 7(10), e47554.

Mertens, D. 2005a. AOAC official method 931.01: Phosphorus in plants. *Official methods of analysis*, 21-22.

Mertens, D. 2005b. AOAC official method 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and GW Latimer, (Eds), 3-4.

Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., Noctor, G. 2010. Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*, 61(15), 4197-4220.

Mullineaux, P. M., Baker, N. R. 2010. Oxidative stress: antagonistic signaling for acclimation or cell death?. *Plant physiology*, 154(2), 521-525.

Murray, M. G., Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids research*, 8(19), 4321-4326.

Öncel İ., Keleş Y., 2002 Tuz Stresi Altındaki Buğday Genotiplerinde Büyüme, Pigment İçeriği ve Çözünür Madde Kompozisyonunda Değişmeler C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi Cilt 23 Sayı 2

Öztürk, L., Demir, Y. 2002. In vivo and in vitro protective role of proline. *Plant Growth Regulation*, 38(3), 259-264.

Pinto, E., Sigaud-kutner, T. C., Leitao, M. A., Okamoto, O. K., Morse, D., Colepicolo, P. 2003. Heavy metal-induced oxidative stress in algae 1. *Journal of phycology*, 39(6), 1008-1018.

Puntarulo, S., Sánchez, R. A., Boveris, A. 1988. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. *Plant Physiology*, 86(2), 626-630.

- Puntarulo, S., Sánchez, R. A., Boveris, A. 1988. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. *Plant Physiology*, 86(2), 626-630.
- Qin, F., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2011. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance. *Plant and Cell Physiology*, 52(9), 1569-1582.
- Rao, A. C., Reddy, A. R. 2008. Glutathione reductase: a putative redox regulatory system in plant cells. In *Sulfur assimilation and abiotic stress in plants*. Springer ,(pp. 111-147).
- Rao, K. M., Raghavendra, A. S., Reddy, K. J. (Eds.). 2006. *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Business Media Springer, 286, India
- Rasmussen, S., Barah, P., Suarez-Rodriguez, M. C., Bressendorff, S., Friis, P., Costantino, P., Mundy, J. 2013. Transcriptome responses to combinations of stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant physiology*, 161, 1783-1794.
- Rejeb, I. B., Pastor, V., Mauch-Mani, B. 2014. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants*, 3(4), 458-475.
- Romero-Puertas, M. C., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Leterrier, M., Rodríguez-Serrano, M., Del Río, L. A., Palma, J. M. 2006. Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New phytologist*, 170(1), 43-52.
- Saleh, B. 2016. DNA changes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under salt stress as revealed by RAPD marker. *Advances in Horticultural Science*, 30(1), 13-21.
- Saradhi, P. P. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology*, 138(5), 554-558.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., Zhao, C. X. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologiques*, 331(3), 215-225.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012.
- Shi, D.C., Yin, L.J. 1993: Difference between salt (NaCl) and alkali e (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb.) Scribn et Merr. plants. *Acta Bot. Sin.*, 3, 144–149.
- Smirnoff, N., Cumbes, Q. J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060.
- Sofa, A., Tuzio, A. C., Dichio, B., Xiloyannis, C. 2005. Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate–glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. *Plant Science*, 169(2), 403-412.

- Sorrentino, M. C., Capozzi, F., Giordano, S., Spagnuolo, V. 2017. Genotoxic effect of Pb and Cd on in vitro cultures of *Sphagnum palustre*: An evaluation by ISSR markers. *Chemosphere*, 181, 208-215.
- Şahin, Ö. 2009. Farklı Asma Anaçları Üzerine Aşılı Sultani Çekirdeksiz (*Vitis vinifera* L) Üzüm Çeşidinin Bor Ve Tuz Stresine Tolerans Mekanizmalarının Stresle İlgili Fizyolojik Parametreler ve Antioksidan Enzimlerle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı, Ankara.
- Taban, S., Güneş, A., Alpaslan, M., Özcan, H., 1999. Değişik Mısır (*Zea mays* L. cvs ) Çeşitlerinin Tuz Stresine Duyarlılıkları. *Tr. J. Of Agriculture and Forestry*, 23 (3):625 633.
- Tanotra, S., 2017. Nitric Oxide Or Hydrogen Peroxide As Regulators Of Antioxidant Response under ABA and Water Stress in Wheat Cultivars. Master Thesis, Punjab Agricultural University, Department of Biochemistry, Ludhiana.
- Torbaghan, M. E., Lakzian, A., Astarai, A. R., Fotovat, A., Besharati, H. 2017. Salt and alkali stresses reduction in wheat by plant growth promoting haloalkaliphilic bacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(4), 1058-1087.
- Trovato, M., Mattioli, R., Costantino, P. 2008. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei*, 19(4), 325-346.
- Tuteja, N., Ahmad, P., Panda, B. B., Tuteja, R. 2009. Genotoxic stress in plants: shedding light on DNA damage, repair and DNA repair helicases. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681(2-3), 134-149.
- 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(1), 59-66.
- Verbruggen, N., Hermans, C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino acids*, 35(4), 753-759.
- Vijayan, K. 2005. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in mulberry genome analysis. *Int. J. Indust. Entomol*, 10(2), 79-86.
- Vranová, E., Atichartpongkul, S., Villarroel, R., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Camp, W. 2002. Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotiana tabacum* leaves acclimated to oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16), 10870-10875.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.
- Yang, C., Chong, J., Li, C., Kim, C., Shi, D., Wang, D. 2007. Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions. *Plant and soil*, 294(1-2), 263-276.

- Yang, C., Shi, D., Wang, D. 2008. Comparative effects of salt and alkali stresses on growth, osmotic adjustment and ionic balance of an alkali-resistant halophyte *Suaeda glauca* (Bge.). *Plant Growth Regulation*, 56(2), 179.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B., Wang, J. 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(4), 433-440.
- Zhang Y, Li Z, Peng Y, Wang X, Peng D, Li Y, He X, Zhang X, Ma X, Huang L and Yan Y 2015 Clones of FeSOD, MDHAR, DHAR Genes from white clover and gene expression analysis of ROS-scavenging enzymes during abiotic stress and hormone treatments. *Molecules* 20(11): 20939-54.
- Zhang, J. T., Mu, C. S. 2009. Effects of saline and alkali stresses on the germination, growth, photosynthesis, ionic balance and anti-oxidant system in an alkali-tolerant leguminous forage *Lathyrus quinquenervius*. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55(5), 685-697.
- Zhang, K. X., Wen, T., Dong, J., Ma, F. W., Bai, T. H., Wang, K., LI, C. Y. 2016. Comprehensive evaluation of tolerance to alkali stress by 17 genotypes of apple rootstocks. *Journal of integrative agriculture*, 15(7), 1499-1509.
- Zhanwu, G. A. O., Jiayu, H. A. N., Chunsheng, M. U., Jixiang, L. I. N., Xiaoyu, L. I., Lidong, L. I. N., Shengnan, S. U. N. 2014. Effects of saline and alkali stresses on growth and physiological changes in oat (*Avena sativa* L.) seedlings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 357-362.
- Zhao, Y., Lu, Z., He, L. 2014. Effects of saline-alkali stress on seed germination and seedling growth of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(7), 1680-1691.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı	:	Damla Durular
Uyruğu	:	T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri	:	12.04.1993 - Erzurum
Medeni Hali	:	Bekâr
Telefon	:	+90534 225 84 30
e-mail	:	Damla.durular69@erzurum.edu.tr

### Eğitim

Derece	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	-
Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	2016
Lise	Erzurum Lisesi	2011

### Uluslararası Kongre Sunum

2018 İĞDIR ULUSLARARASI MULTİDİSİPLİNER ÇALIŞMALARI KONGRESİ  
(Katılımcı)