



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBERDE TOHUM MELATONİN İÇERİĞİ İLE  
ÜŞÜME STRESİ KOŞULLARI ALTINDA  
ÇİMLENME VE ÇIKIŞ PERFORMANSI ARASINDA  
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ELİF DÜVER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2019**

T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBERDE TOHUM MELATONİN İÇERİĞİ İLE  
ÜŞÜME STRESİ KOŞULLARI ALTINDA  
ÇİMLENME VE ÇIKIŞ PERFORMANSI ARASINDA  
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ELİF DÜVER**

**Bu tez,  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS  
derecesi için hazırlanmıştır.**

**KAHRAMANMARAŞ 2019**

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi ELİF DÜVER tarafından hazırlanan ‘BİBERDE TOHUM MELATONİN İÇERİĞİ İLE ÜŞÜME STRESİ KOŞULLARI ALTINDA ÇİMLENME VE ÇIKIŞ PERFORMANSI ARASINDA İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI’ adlı bu tez, jürimiz tarafından 27/06/2019 tarihinde oy birliği ile Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet KORKMAZ (DANIŞMAN) .....

Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Sermin AKINCI (ÜYE) .....

Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi. Gökçen YAKUPOĞLU (ÜYE) .....

Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı  
Yozgat Bozok Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI .....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Elif DÜVER



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2018/2-16 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**BİBERDE TOHUM MELATONİN İÇERİĞİ İLE ÜŞÜME STRESİ KOŞULLARI  
ALTINDA ÇİMLENME VE ÇIKIŞ PERFORMANSI ARASINDA İLİŞKİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**ÖZET**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**Elif DÜVER**

Melatonin (MEL)'in varlığı insan ve hayvanlarda uzun yıllardır bilindiği halde bitkilerdeki keşfi son yıllarda olmuştur. Bitkilerde ve hayvanlarda MEL, fotoperiyodik ve günlük ritim düzenleyici olarak görev almakta ayrıca geniş spektrumlu bir antioksidan olarak stres faktörlerine karşı toleransı arttırdığı bilinmektedir. Strese tolerant bitkilerde belirlenen içsel MEL seviyelerinin, aynı türün strese tolerant olmayan bireylerine kıyasla çok daha yüksek olduğu ve strese maruz kalan bitkilerde içsel MEL seviyesinin yükseldiği bilinmektedir. Ancak, içsel MEL seviyelerinin abiyotik stres faktörlerine karşı tolerant genotiplerin seçiminde kullanılmasına yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple yürütülen bu çalışmada tohum MEL içerikleri belirlenen 27 tane sivri biber genotipinin üşüme stresi koşulları altındaki (15 °C) tohum çimlenmesi ve fide çıkış performansları incelenerek tohum MEL içeriği ile üşüme stresi altında çimlenme ve çıkış performansları arasındaki ilişkinin varlığı araştırılmıştır. MEL analizi sonrası genotiplerin tohumlarının MEL içeriklerinin 0.64 ng g<sup>-1</sup> ile 5.03 ng g<sup>-1</sup> gibi geniş bir varyasyona sahip olduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda tohumlarında yüksek MEL bulunan genotiplerin düşük sıcaklıkta daha yüksek çimlenme ve çıkış performansı sergilediği; buna karşılık düşük MEL seviyesine sahip genotiplerin de çimlenme ve fide çıkış performanslarının daha düşük olduğu görülmüştür. Tohum MEL içeriği 2 ng g<sup>-1</sup>'in altında olan genotiplerin stres koşulları altında çimlenme ve çıkış yüzdelerinin daha düşük olduğu ve bu genotiplerden elde edilen fidelerinde belirlenen MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> değerlerinin yüksek fakat antioksidan enzim aktivitelerinin ise daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, içsel MEL seviyelerinin üşüme stresi koşullarına tolerant çeşit geliştirme çalışmalarında bir ön eleme kriteri olarak kullanılabileceği göstermiştir. Böylece, özellikle MEL içeriği düşük olan genotiplerin strese tolerant genotip geliştirme çalışmalarına dahil edilmemesinin, ıslah çalışmalarında zaman, para ve işgücü tasarrufu sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** melatonin, biber, üşüme stresi, çimlenme, fizyolojik işaretleyici

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Haziran / 2019

Danışman: Prof. Dr. Ahmet KORKMAZ

Sayfa sayısı: 82



**INVESTIGATION OF RELATIONSHIP BETWEEN SEED MELATONIN  
CONTENT AND GERMINATION AND EMERGENCE PERFORMANCE UNDER  
CHILLING STRESS IN PEPPER**

**ABSTRACT**

**(M.Sc. THESIS)**

**Elif DÜVER**

Although the presence of melatonin (MEL) has been known for many years in humans and animals, its discovery in plants has been in recent years. It is known that MEL acts as photoperiodic and daily rhythm regulator in plants and animals and also increases tolerance to stress factors as a wide spectrum antioxidant. Genotypes that are tolerant to abiotic stress factors have generally higher MEL content than those that are not tolerant, and exposure to stressful conditions is known to increase endogenous MEL levels. However, to date, endogenous MEL levels have never been used in studies conducted to select tolerant genotypes to abiotic stress factors. Thus, in this study, the existence of possible relationship between seed MEL levels of 27 pepper genotypes and their germination and emergence performance under chilling conditions (15 °C) was investigated. The results indicated that genotypes having higher seed MEL content had better seed germination and seedling emergence performance at chilling temperatures, whereas those with lower seed MEL content demonstrated poorer germination and emergence performance. Genotypes having less than 2 ng g<sup>-1</sup> MEL in their seeds exhibited significantly lower germination and emergence percentages under chilling stress conditions and the seedlings of these genotypes had elevated levels of MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contents but lower antioxidant enzyme activities. Therefore, these results demonstrated that endogenous MEL levels could be used as a pre-elimination criterion in selecting stress tolerant varieties. It is thought that excluding genotypes especially with lower MEL content from breeding programs that aim to develop new stress tolerant genotypes will save considerable time, money and labor.

**Key Words:** melatonin, pepper, chilling stress, germination, physiological marker

Kahramanmaraş Sütçü İmam University  
Institute for Graduate Studies in Science and Technology  
Department of Bahçe Bitkileri June / 2019

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet KORKMAZ

Page number: 82





## TEŞEKKÜR

‘Biberde tohum melatonin içeriği ile uşüme stresi koşulları altında çimlenme ve çıkış performansı arasında ilişkinin araştırılması’ adlı bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’ nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Yüksek lisans tez çalışmalarımın her aşamasında gerek bilgisi gerek maddi ve manevi desteğini ve katkılarını esirgemeyen fikir ve yardımlarından faydalandığım sayın danışman hocam Prof. Dr. Ahmet KORKMAZ’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın tüm aşamalarında bilgilerini, fikirlerini, maddi ve manevi tüm desteklerini esirgemeyen hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökçen YAKUPOĞLU, Sayın Zir. Yük. Müh. Şebnem KÖKLÜ, Sayın Zir. Yük. Müh. Aygöl KARACA ve çalışma arkadaşlarım Zir. Yük. Müh. Asima KLICİC, Zir. Müh. Abdullah HAVAN, ve Zir. Müh. Muhammet Ömür ARSLAN’a ayrıca laboratuvar çalışmalarında yanımda olan Bahçe Bitkileri Bölümü öğrencilerine ve verdiği finansal destekten dolayı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (BAP)’ne teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan annem Nuray DÜVER, babam Muharrem DÜVER, abim Av. Hüseyin DÜVER’ e ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	II
ABSTRACT .....	IV
TEŞEKKÜR .....	VI
İÇİNDEKİLER .....	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	XI
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	8
2.1. MEL'in keşfi ve tanımı .....	8
2.2. Bitkilerde MEL'in keşfi .....	8
2.3. MEL biyosentezi .....	9
2.4. Bitkilerde MEL içeriği .....	10
2.5. İnsanlarda MEL'in görevleri ve fizyolojik etkileri .....	15
2.6. Bitkilerde MEL'in fizyolojik görevleri .....	17
2.6.1. Günlük ve yıllık ritim düzenleme ve fotoperiyodik tepki .....	17
2.6.2. Büyüme ve gelişme üzerine etkileri .....	18
2.6.3. Stres altındaki bitkilerde içsel MEL'in değişimi ve MEL'in antioksidan etkisi .....	20
2.6.4. Dışardan yapılan MEL uygulamaları ve stres toleransı .....	24
2.6.5. Genetik modifikasyon yolu ile MEL içeriği yüksek genotiplerin eldesi .....	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	32
3.1. Materyal .....	32
3.2. Yöntem .....	34
3.2.1. Tohumlarda yapılan testler ve biyokimyasal analizler .....	34
3.2.1.1. MEL içeriğinin belirlenmesi .....	34
3.2.1.1.1. Ekstraksiyon .....	34
3.2.1.1.2. HPLC'de MEL analizi .....	34
3.2.1.2. Çimlenme testi .....	36
3.2.1.3. Kökçük ölçümü .....	37
3.2.1.4. Membran sızıntı (EC) testi .....	38
3.2.2. Fide çıkış testi ve fidede yapılan biyokimyasal analizler .....	38
3.2.2.1. Malondialdehid (MDA) içeriği .....	38

3.2.2.2. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) içeriği.....	39
3.2.2.3. Antioksidan enzim aktiviteleri .....	39
3.2.2.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesi.....	40
3.2.2.5. Peroksidaz (POX) enzim aktivitesi.....	40
3.3. Sonuçların değerlendirilmesi.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Tohumlarda yapılan testler ve biyokimyasal analizler .....	41
4.1.1. Tohumların MEL içeriği.....	41
4.1.2. Çimlenme testi .....	43
4.1.3. Membran sızıntı (EC) testi .....	48
4.2. Fide ıkış testi ve fidede yapılan biyokimyasal analizler .....	50
4.2.1. MDA ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> içeriği .....	53
4.2.2. Katalaz (CAT) ve Peroksidaz (POX) enzim aktiviteleri.....	55
4.3. Biber genotiplerinin uşıme stresi (15 �C) koşullarında çimlenme yuzdesi ile tohumların MEL içeriği arasındaki ilişki .....	57
4.4. Biber genotiplerinin uşıme stresi (15 �C) koşullarında çıkış yuzdesi ile tohumların MEL içeriği arasındaki ilişki .....	58
5. TARTIşMA.....	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	65
7. KAYNAKLAR .....	67
�ZGEMİş.....	82

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 2017 yılı dünya biber üretimi.....	5
Çizelge 1.2. Ülkemizde son 10 yılda biber üretimi .....	5
Çizelge 1.3. 2018 yılı ülkemiz biber tipleri üretimi.....	6
Çizelge 2.1. Bazı tıbbi aromatik bitkilerin MEL içeriği .....	13
Çizelge 2.2. Bazı meyvelerin farklı organlarında bulunan MEL içeriği.....	14
Çizelge 2.3. Bazı sebzelerin farklı organlarında bulunan MEL içeriği .....	15
Çizelge 2.4. MEL'in hasat sonrası ürün üzerindeki etkileri.....	27
Çizelge 3.1. Araştırmada materyal olarak kullanılan biber genotiplerine ait bilgiler.....	33
Çizelge 4.1. Biber genotiplerinin tohumlarının MEL içerikleri.....	42
Çizelge 4.2. Optimum (25 °C) koşullarda çimlenme testi sonuçları .....	44
Çizelge 4.3. Üşüme stresi (15 °C) koşullarında çimlenme testi sonuçları .....	46
Çizelge 4.4. Genotiplerin tohumlarının membran sızıntı (EC) değerleri.....	49
Çizelge 4.5. Çeşitlerin üşüme stresi (15 °C) koşullarında fide çıkış testi sonuçları .....	51
Çizelge 4.6. Fidelerin MDA ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> değerleri.....	54
Çizelge 4.7. Fidelerin CAT ve POX değerleri .....	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. MEL'in kimyasal yapısı .....	8
Şekil 2.2. MEL'in bitkilerde ve hayvanlarda biyosentez yolları.....	10
Şekil 2.3. İçsel MEL içeriğinde görülen yükselişler.....	21
Şekil 3.1. MEL standart eğrisi ve denklemi .....	35
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonda (10, 25 ve 50 ppb) MEL standart kromotogramı .....	36
Şekil 3.3. Gerçek örnek ve standart kromotogramı .....	36
Şekil 3.4. Çimlendirme esnasında tohumların petriyelerdeki görüntüsü.....	37
Şekil 4.1. 15 °C'de çimlenme testi sonrası kökçüklerin görünümü .....	48
Şekil 4.2. Üşüme stresine tabi tutulmuş genotiplerin çıkış testi sonrası görünümü. ....	52
Şekil 4.3. Biber genotiplerinin tohum MEL içeriği ile üşüme stresi koşullarında çimlenme yüzdesi arasındaki ilişki.....	58
Şekil 4.4. Biber genotiplerinin tohum MEL içeriği ile üşüme stresi koşullarında fide çıkış yüzdesi arasındaki ilişki.....	59

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AANAT</b>	: Arilalkilamine N-asetil transferaz
<b>ABA</b>	: Absisik asit
<b>ANOVA</b>	: Varyans analizi
<b>ASMT</b>	: Asetil seratonin metil transferaz
<b>ASDAC</b>	: N-asetilserotonin deaketilez
<b>APX</b>	: Askorbat peroksidaz
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CPA</b>	: Chlorophenyl alanine
<b>DAB</b>	: 3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate
<b>DTT</b>	: Dithiothreitol
<b>EC1</b>	: İlk elektriksel iletkenlik
<b>EC2</b>	: Son elektriksel iletkenlik
<b>EDTA</b>	: Ethylenediamintetra asetik asit
<b>g</b>	: Gram
<b>GA<sub>3</sub></b>	: Giberellik asit
<b>ha</b>	: Hektar
<b>HIOMT</b>	: Hidroksiindol-O-metiltransferaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>IAA</b>	: Indol asetik asit
<b>IAA<sub>1d</sub></b>	: Indol-3-asetaldehit
<b>KI</b>	: Potasyum iyodür
<b>LSD</b>	: Asgari önemli fark
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MEL</b>	: Melatonin
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mM</b>	: Milimol
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>NAS</b>	: N-asetilseratonin
<b>Na-P</b>	: Sodyum- fosfat
<b>ng g<sup>-1</sup></b>	: Nanogram/gram

<b>pg g<sup>-1</sup></b>	: Pikogram/gram
<b>PMSF</b>	: Phenylmethanesulfonyl flüoride
<b>POD</b>	: Peroksidaz
<b>ppb</b>	: part per billion=milyarda bir kısım
<b>ppm</b>	: part per million=milyonda bir kısım
<b>PSI</b>	: Fotosistem I
<b>PSII</b>	: Fotosistem II
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SER</b>	: Seratonin
<b>SNAT</b>	: Seratonin N-asetil transferaz
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>TA</b>	: Taze ağırlık
<b>TBA</b>	: Thiobarbütrik asit
<b>TCA</b>	: Trikloroasetik asit
<b>TDC</b>	: Triptofan dekarboksilaz
<b>T5H</b>	: Triptamin 5-hidroksilaz
<b>µmol</b>	: mikromol
<b>5MT</b>	: 5 methoksi triptamin
<b>µg g<sup>-1</sup></b>	: mikrogram/gram

## 1. GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde insan nüfusu giderek artmakta ve artan insan nüfusu beraberinde beslenme için kullanılan gıdaların tüketim miktarının artmasına sebep olmaktadır. Bu gıdaların özellikle büyük çoğunluğunun bitkisel kökenli olması ayrıca tarım alanlarının da artan nüfusla beraber giderek azalması sonucunda çok yakında insanlığın kıtlıkla mücadele edeceği gerçeği yapılan araştırmalar sonucu ortaya konmuştur. Şu anda dünyanın çeşitli bölgelerinde görülen kıtlık sorunu ve bu sorunun giderek büyüme olasılığı tarımsal çalışmalara hız kazandırmıştır. Yürütülen çalışmaların büyük bir kısmını, bitkisel üretim alanları ve bunların tahribatı sonucu oluşan sorunları çözmeye yönelik çalışmalar oluşturmuştur. Tarım alanlarının azalmasındaki başlıca sebepler çevresel ve antropojenik kökenlidir. Bu faktörler bitkileri doğrudan etkilemekte ve strese neden olmaktadır. Bitkiler ve doğadaki diğer canlılar hem yaşam mücadelesi verirken hem de bu stres faktörleri ile başa çıkmaya çalışmaktadır.

Stresi bitki doğal yaşam alanı içinde metabolik iç dengenin seyrini değiştiren veya bozan ve bitkinin büyüme ve gelişmesinde değişiklik meydana getiren bir etmen olarak tanımlamak mümkündür (Shulaeva vd., 2008). Stres faktörleri abiyotik (düşük ve yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, ışık, su baskını, rüzgâr, radyasyon (UV), ağır metal, pestisit vb) ve biyotik (hayvanlar, parazit bitkiler, patojenler vb) olmak üzere ikiye ayrılır. Bu faktörler, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), tüm bitkinin veya organlarının ölümüne yol açabilmektedir. Bundan dolayı bitkiler sahip oldukları ve geliştirdikleri savunma mekanizmalarıyla stres etmenlerinin etkisini önlemeye çalışarak yaşantılarını sürdürmeye devam ederler.

Bitkilerin karşılaştıkları bir stres faktörüne karşı oluşturduğu savunma mekanizması iki ana başlık altında toplanabilir (Stewart, 1991).

1. Sakınma: Stres etmenlerinin bitki dokularına girişinin engellenmesi veya azaltılmasını ifade eden bu mekanizma iki yolla gerçekleşir.

a) Bitkinin çevre ile etkileşimde bulunan kısımların morfolojik ve kimyasal yapısında gerçekleşen değişiklikler: Yaprak ayasının alanı ve kalınlığı, stomaların büyüklüğü ve sıklığı, kütikulanın kalınlığı ve kimyasal yapısı, yaprak ve kök salgılarında toksik ve engelleyici bileşenlerin oluşmasıdır.



b) Ontogenetik değişmeler: Bitkinin stres faktörüne karşı dayanıklılığını daha iyi hale getirmek için stresin başlamasından önce dormant ontogenetik faza geçiş sağlanmaktadır.

2. Tolerans: Bitkinin stres faktörlerinin etkisine karşı savunma, etkiyi azaltma veya tamir etme mekanizmalarını devreye sokmasıdır. Bu tepki tipi, doku, hücre ve moleküler seviyedeki değişiklikleri kapsamaktadır.

Abiyotik stres faktörlerinden birisi olan düşük sıcaklıklar, bitkilerin yaşam kalitelerini ve gelişimlerini olumsuz yönde etkileyen ana stres etmenlerinden biridir. Düşük sıcaklık stresi; 0-15 °C aralığında oluştuğu zaman üşüme stresi, 0 °C ve altındaki sıcaklıklarda oluştuğu zaman don stresi olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Üşüme stresi, genelde tropik ve subtropik orjinli bitkilerde zararlı olan ve bitkileri gelişmeleri boyunca etkileyen bir stres türüdür (Lyons, 1973; Posmyk vd., 2001). Üşüme stresinin bitkiler üzerindeki en olumsuz etkisi hücre zarlarında neden olduğu zararlar olup genellikle dehidrasyon sonucu meydana gelmektedir. Bitki hücre zarının yapısında yüksek miktarda fosfolipid, sterol ve serebrosid bulunur. Bu bileşenlerin konsantrasyonları ve oranları, soğuğa olan hassasiyette ve toleransta büyük önem arz etmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Üşüme stresi, hücre membranlarının ve membranlarda bulunan lipidlerin fiziksel özelliklerini değiştirir ve sonrasında hücre membranlarının bütünlüğü bozularak, elastikiyeti azaltıp, geçirgenliği arttırarak hücre içi maddelerin hücrelerarası boşluklara sızmasına neden olur. Membran akıcılığındaki azalmaya paralel olarak membranda bulunan ve faaliyet gösteren enzim aktiviteleri de bozulur (Mahajan ve Tuteja, 2005). Membranlarda gerçekleşen bu bozulma ilk olarak kendini bitkinin yapraklarında solgunluk ve turgor kaybı şeklinde gösterir. İlerleyen aşamalarda kloroplastların yapısının etkilenmesi ve mitokondri zarında gerçekleşen bozulmalar nedeniyle bitkinin solunum ve fotosentez reaksiyonları olumsuz etkilenir. Solunum ve fotosentezin olumsuz etkilenmesi sonucu bitkilerde büyüme yavaşlar, hücresel yaşlanma artar, yapraklarda klorofil bozulması sonucu sararmalar ve nekrozlar meydana gelir (Saltveit ve Morris, 1990).

Düşük sıcaklıklardan en fazla etkilenen organlar çiçek tomurcuklarıdır. Çiçek tomurcukları özellikle açmaya başladıkları dönemde düşük sıcaklıklara karşı çok duyarlıdır (Küden vd., 1998). Üşüme stresi tozlanma aşamasında polenlerin çimlenme performansını düşürmekte, meyve tutumu ve verimi de olumsuz etkilemektedir (Clarke ve Siddique, 2004). Ayrıca çiçeklenmeden sonraki meyveye yatma döneminde olan geç ilkbahar soğukları çiçeğe göre içerdii su miktarı fazla olan küçük meyvelerde büyük hasara yol açarak ürün verimini ve kalitesini doğrudan düşürmektedir. Ayrıca, tohum

çimlenmesi esnasında gerçekleşen düşük sıcaklıklar nedeniyle hücre zarlarında oluşan peroksidasyonlar sonucu tohum çimlenmesi ve fide çıkışı olumsuz etkilenmektedir (Posmyk vd., 2008).

Üşüme stresi bitkiler üzerinde büyük zararlara yol açtığı gibi üreticileri de zarara uğratmakta ve ekonomik açıdan büyük kayba uğratmaktadır. Üşüme stresi bitkiler üzerinde genelde erken ekim ve dikim (turfanda) veya sera yetiştiriciliğinde, ani ilkbahar ve sonbahar donları sonucu etkili olmaktadır. Ülkemizin az bir bölümü Akdeniz iklim kuşağında olmasına rağmen büyük bir bölümü karasal iklim kuşağına yer almaktadır. Özellikle deniz etkisinin az olduğu iç bölgelerde geceleri sıcaklıklar düşmekte ve bitkiler gerek üşüme gerekse don zararına uğramaktadır. Bu zararlar yüzünden tarla tarımı, turfanda ve sera üretimi yapan üreticiler zor durumda kalmakta ve üretim bu zararlar yüzünden neredeyse yapılamamaktadır. Serada üretim yapmaya çalışan üreticiler ise serayı ısıtmak zorunda kalmakta ve ekonomik kayba uğramaktadır. Bunun dışında azalan sıcaklıkların etkisiyle aşırı artan nemin oluşturduğu mantari hastalıklara karşı kullanılan kimyasallar sonucunda meyve üzerinde pestisit kalıntısı birikmekte ve bu durum insan sağlığını tehdit etmektedir (Engindeniz vd., 2010).

Biber (*Capsicum annuum* L.), *Solanaceae* familyasından bir bitki olup *Capsicum* cinsine ait önemli bir türdür. Dünya'nın hemen hemen bütün bölgelerine yayılış gösteren biber farklı bölgelerde farklı miktarlarda üretilmektedir. Biber ılıman iklim bölgelerinde tek yıllık yetiştirilirken, tropik iklim bölgelerinde ise çok yıllık olarak yetiştirilmektedir (Şalk vd., 2008).

Biberin anavatanı Güney Amerika'dır ve Dünya'ya buradan yayılış göstermiştir. Güney Amerika'da özellikle Brezilya'da çok çeşitli biber tür ve formları bulunmaktadır. Yapılan bir araştırmada, biberin Orta Amerika'dan Portekizlilerce önce Portekiz'e ve yine onlar aracılığıyla da Hindistan'a getirildiği ve buradan da Arap Yarımadası'na geldiği belirtilmektedir. Biberin daha sonra Bağdat ve Antakya üzerinden İstanbul'a getirildiği ve yine buradan da (1515-1662 tarihleri arasında) Rusya, Venedik ve Orta Avrupa'ya yayıldığı bildirilmektedir (Andrews, 1999). Başka bir araştırmaya göre ise biber Amerika'dan 1493 yılında İspanya'ya ve buradan da 1548 yılında İngiltere'ye getirilmiş olup, 1578 yılında orta ve diğer Avrupa ülkelerine yayılmıştır. Osmanlı İmparatorluğu ile Avrupa ülkeleri arasında kurulan sıkı ilişkiler sırasında 16. yüzyılda İstanbul'a getirilmiş ve daha sonra da diğer bölgelere yayıldığı belirtilmiştir (Vural vd., 2000).

Biber ile ilgili birçok bilim adamı değişik sınıflandırmalar yapmıştır. Heiser ve Smith (1953)'e göre 4 önemli biber türü mevcut olup, bunlar *Capsicum annuum*, *Capsicum*

*frutescens*, *Capsicum pendulum* ve *Capsicum pubescens*'tir. Kùltürü yapılan biberler genelde *Capsicum annuum* L. türü içerisinde yer almaktadır.

Biber sağlıklı yaşam için önemli diyet sebzelerinden birisi olup, kalp ve damar hastalıklarına karşı mutlaka tüketilmesi tavsiye edilmektedir. Meyvelerinde bulunan kapsaisin (capsaicin) alkaloidi, A, B, C ve E vitaminleri ve renk maddeleri ile biber iyi bir antioksidan özelliğe sahiptir (şalk vd., 2008). Tek başına veya diğer tatlandırıcı ürünlerle beraber kullanılarak taze (kızartılarak, taze olarak, etli ve zeytinyağlı yemekleri yapılarak) ya da salamura, turşu, acı sos, salça, pul biber, toz biber, közleme ve kurutma gibi çok değişik şekillerde işlenerek tüketilirler. Bunlara ek olarak acı biberlerden elde edilen biber suyu sanayide geniş bir alanda ve özellikle de boya yapımında kullanılmaktadır (Vural, 1998, Vural vd., 2000; Eşiyok, 2012).

Biberler içerdiği kapsaisin ( $C_{18}H_{27}NO_3$ ) alkaloidinin miktarına göre tatlı ve acı olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Tatlı biberler, büyük meyveli biberler, uzun meyveli biberler, kızartmalık tip, ucu sivri tip ve konik-silindirik tip olarak sınıflandırılırken, acı biberler ise büyük meyveli, küçük meyveli ve kırmızı salkımlı biberler olarak sınıflandırılabilir. Bibere acılığı veren antibiyotik özelliği olan kapsaisin romatizma, göğüs zarı iltihaplanması, kanser riskini azaltma, doğal yatıştırıcı, dezenfekte özelliği, boğaz ağrısı, mide ağrısı, kalın bağırsak iltihabı ve saç dökülmesine karşı özelliklere sahip olmasından dolayı ilaç sanayinde de kullanılır (Hoppe, 1981). Biberi insan beslenmesinde önemli kılan etkenlerden bir diğerisi ise C vitamini içeriği bakımından zengin olmasıdır. Biberde değişik kaynaklara göre 160-240 mg 100 g<sup>-1</sup> arasında C vitamini bulunduğu rapor edilmektedir (Sevgican, 1999).

Ülkemizde farklı iklim bölgelerinin bulunması birçok ticari ürünün yetiştirilmesine olanak sağlamaktadır ve sebzeler de bu ürünler içerisinde önemli bir paya sahiptir. Biberin hem ülkemizde hem de dünya çapında üretimi oldukça fazladır. Çizelge 1.1'de görüldüğu gibi Türkiye, taze biber üretimi bakımından dünyada Çin ve Meksika'dan sonra 3. sırada yer almaktadır (Anonim, 2017).

Çizelge 1.1. 2017 yılı dünya biber üretimi (Anonim, 2017)

Ülkeler	Üretilen alan (ha)	Üretim miktarı (ton)
Çin	761.284	17.821.238
Meksika	160.438	3.296.875
Türkiye	80.516	2.608.172
Endonezya	310.147	2.359.441
İspanya	20.498	1.277.908
ABD	26.082	962.679
Dünya	1.987.059	36.092.631

Ülkemizde yıllara göre biber üretiminde görülen değişimlere bakıldığında son 10 yıla ait veriler Çizelge 1.2’de sunulmuştur. Biber üretimi ve üretim alanları yıllara göre nispeten artmıştır.

Çizelge 1.2. Ülkemizde son 10 yılda biber üretimi (Anonim, 2018)

Yıllar	Üretilen alan (ha)	Üretim miktarı (ton)
2008	76.214	1.796.177
2009	75.491	1.837.003
2010	81.161	1.986.700
2011	76.553	1.975.269
2012	78.707	2.042.360
2013	78.758	2.159.348
2014	78.973	2.127.944
2015	79.261	2.191.888
2016	81.563	2.457.822
2017	80.516	2.608.172
2018	78.652	2.554.974

Ülkemizde büyük miktarlarda biber üretimi yapılan illerimiz Bursa, Antalya, Samsun, Kahramanmaraş ve Gaziantep olup, yetiştirilen önemli biber tiplerine ait 2017 yılı verileri Çizelge 1.3’de verilmiştir.

Çizelge 1.3. 2018 yılı ülkemiz biber tipleri üretimi (Anonim, 2018)

Çeşitler	Kapya	Dolmalık	Sivri	Çarliston	Toplam
Üretim (ton)	1.128.060	397.175	930.349	99.390	2.554.974
Alan (ha)	34.624	13.135	29.088	1.804	78.652

Ülkemizde biber üretimi her ne kadar yüksek olsa da, gerek iklim şartları gerekse de hastalık ve zararlılar yüzünden yıllar içerisinde dalgalanma göstermektedir. Çizelge 1.2’de de bu dalgalanma gözle görülür biçimde ortaya konulmuştur. Üretimde ortaya çıkan bu aksamalardan biri olan üşüme stresinden yukarıda bahsedilmiştir.

Biber tohumları için optimum çimlenme sıcaklığı 25-30 °C olup minimum çimlenme sıcaklığı 13-15 °C arasındadır ve çimlenme sıcaklığı düştükçe çimlenme süresi uzamaktadır (Lorenz ve Maynard, 1988). Örneğin, çimlenme için gerekli minimum sıcaklık olan 15 °C’de toprak çıkışı 25 günde gerçekleşirken, 20 °C’de 13 günde ve 25 °C’de ise 8-9 günde gerçekleşebilmektedir. Yöremizde biber tohumlarının açık alanlarda ekilme zamanı olan Şubat sonu ve Mart ayı başlarında (Akıncı ve Akıncı, 1999) toprak sıcaklıkları 10 ile 20 °C arasında seyretmekte bu da tohum çimlenme ve fide çıkışını olumsuz etkilemektedir (Korkmaz, 2005). Artan çimlenme süresi nedeni ile kaymak tabakası oluşma riski ve *Pythium* ve *Rhizoctonia* gibi fide çökerten etmenlerinin çimlenmekte olan tohum ve fideciklere zarar verme olasılığı artmaktadır. Ayrıca, uzayan çimlenme ve çıkış süresi nedeni ile bitki yetiştirme dönemi de uzamakta ve bu da ekonomik kayıplara ve hasadın yağışlı sonbahar aylarına kaymasına neden olmaktadır. Yine Şubat ve Mart aylarında sıcaklıkların 10 °C ve altında seyretmesi dolayısı ile yeni çimlenmiş biber fideleri üşüme stresine maruz kalmakta ve gelişmeleri olumsuz etkilenmekte hatta ölmektedirler.

Biber bitkisi strese maruz kaldığı zaman kendi bünyesinde barındırdığı antioksidanlarla strese karşı bir savunma mekanizması oluşturmaktadır. Bu mekanizmayı oluşturan ve bir bitki büyüme düzenleyici olan melatoninin (MEL) stres faktörlerine karşı antioksidan savunma sistemini harekete geçirdiği yapılan bilimsel çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar ile MEL’in neredeyse bütün canlı organizmalarda bulunduğu ortaya konmuştur. MEL’in hem hayvanlarda hem de insanlarda gün içerisinde genelde karanlıkta ve yıl içerisinde ise kış aylarında sentezi artmaktadır. MEL’in insanlarda ve hayvanlarda serbest radikalleri bertaraf etmede aktif rol üstlenmesinden dolayı geniş spektrumlu antioksidan olarak kabul edilmesi, birçok

araştırıcıda bu maddenin bitkilerde de benzer şekilde roller üstlendiği fikrinin doğmasına neden olmuştur. Ayrıca, düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık, tuzluluk ve toprak kirliliği gibi olumsuz çevre koşulları altında yaşayan bitkilerde MEL iğeriğinin normale göre daha fazla olduğu da araştırıcılar tarafından belirtilmiştir (Tan vd., 2007a,b).

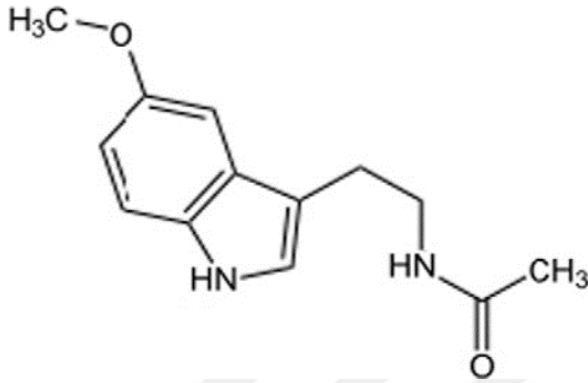
MEL'in bir antioksidan olarak kabul edilmesi, membranlardaki yağ asitlerini, proteinleri ve nükleik asitleri serbest radikallerin oksidatif hasarına karşı korumasından kaynaklanmaktadır. MEL'in antioksidan özelliği ise biręok yolla fonksiyon göstermektedir. MEL, serbest radikallerin oluşumunu önleyerek glutatyon (GSH) sentezini teşvik etmekte ve antioksidan enzimlerin sentezini arttırmaktadır. Antioksidan enzimleri oksidatif hasarlara karşı korumakta ve mitokondrideki elektron taşıma zincirindeki etkinliği arttırarak elektron sızıntılarını azaltmaktadır (Posmyk ve Janas, 2009; Arnao ve Hernández -Ruiz, 2014).

Yapılan ęalıřmalar sonucu elde edilen veriler göz önünde bulundurulduğunda, strese maruz kalan bitkilerde içsel MEL iğeriğinin yükselmesi, stres faktörlerine karşı tolerant genotiplerin geliştirilmesinde MEL iğeriği yüksek genotiplerin kullanılabilereği fikrini doğurmuştur. Bu nedenle de son yıllarda bilim adamları moleküler yöntemleri kullanarak daha fazla MEL üreten genotiplerin geliştirilmesi yoluna gitmişlerdir. Fakat içsel MEL seviyesi bir türe ait gen havuzunda spesifik bir stres faktörüne karşı tolerant genotiplerin seçilmesinde kriter olarak kullanılmamıştır. Bu nedenlerden dolayı bu araştırmada antioksidan olarak fonksiyon göstererek bitkilerin biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı toleransını arttırdığı kanıtlanmış olan MEL'in, strese tolerant ęeřit geliştirme ęalıřmalarında tolerant genotiplerin ön elemesinde bir kriter olarak kullanılma olanaklarının araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaca yönelik olarak piyasada satılmakta olan 27 adet sivri biber genotipine ait tohumlarda MEL iğeriği belirlenmiş ve tohumların MEL iğeriği ile düşük sıcaklıklarda tohum ęimlenme ve fide ęıkıř performansları arasında var olan muhtemel ilişkinin varlığı ve boyutu araştırılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. MEL'in keşfi ve tanımı

Günümüzde varlığı hemen hemen tüm canlı organizmalarda kanıtlanmış olan MEL (N-acetyl-5-methoksitriptamin), 1950'lerin sonlarına doğru sığır beyin üstü bezi (epifiz) dokusundan izole edilen bir nörohormondur (Lerner vd., 1958). MEL'in kimyasal yapısı Şekil 2.1'de görülmekte olup, molekül formülü  $C_{13}H_{16}N_2O_2$ , molekül ağırlığı ise  $232.28 \text{ g mol}^{-1}$ 'dür (Anonim, 2015).



Şekil 2.1. MEL'in kimyasal yapısı (Anonim, 2015)

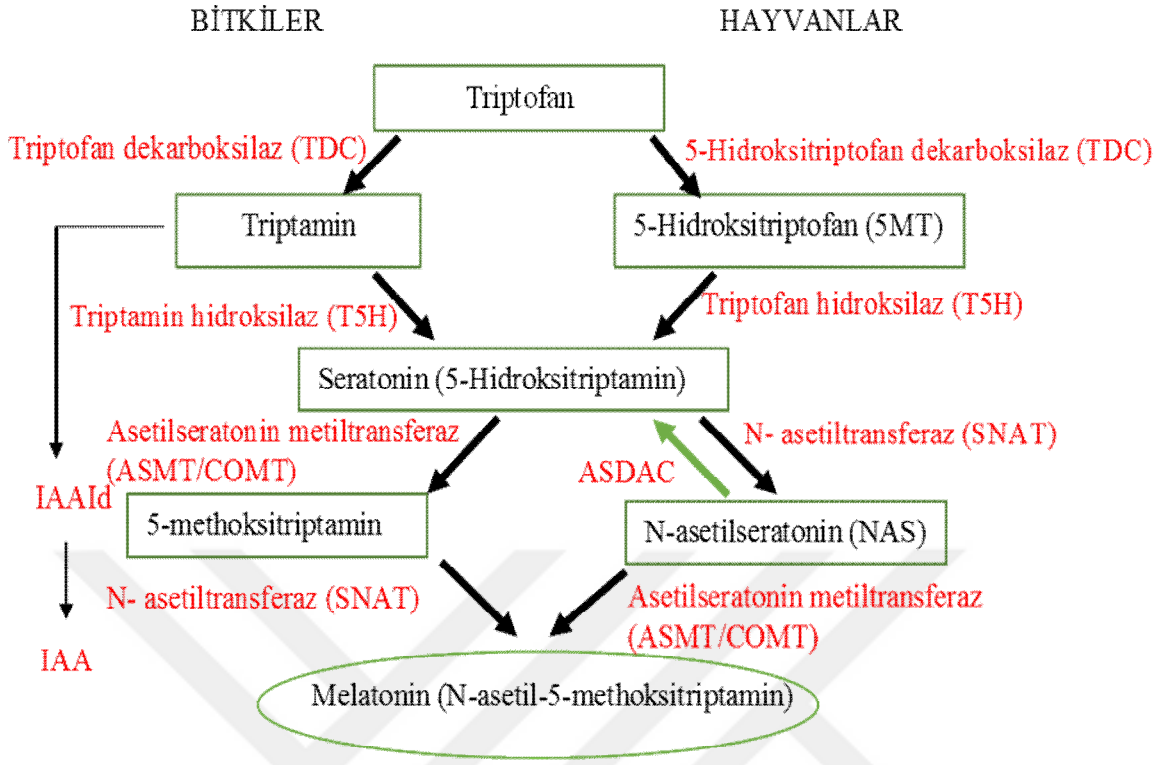
### 2.2. Bitkilerde MEL'in keşfi

MEL'in keşfi, bilim dünyasında büyük bir yankı uyandırmış ve bilimsel çalışmalara farklı bir boyut kazandırmıştır. MEL ilk olarak alglerde keşfedilmiş (Poeggeler ve Hardeland, 1994) ve sonrasında yapılan çalışmalarda bakterilerde, omurgalı ve omurgasız hayvan türlerinin birçoğunda varlığı kanıtlanmıştır (Posmyk ve Janas, 2009). MEL'in bitkilerdeki ilk keşfi 1995 yılında birbirinden habersiz olarak çalışan iki çalışma grubunun yaptığı çalışmalar sonucunda gerçekleşmiştir (Dubbels vd., 1995; Hattori vd., 1995). Bu çalışmaların ardından MEL'in pek çok bitki türünün tohumları, meyveleri, yaprakları ve köklerinde oldukça değişken miktarlarda var olduğu saptanmıştır (Reiter 1999; Tettamanti vd., 2000; Reiter vd., 2007). MEL'in keşfinden sonra sayıları her geçen gün giderek artan çalışmalarla çok çeşitli sebze, meyve, tohum, tahıl, tıbbi aromatik bitkiler, süs ve yabani bitki türlerinde varlığı ispatlanmıştır (Paredes vd., 2009; Arnao, 2014; Feng vd., 2014).

### 2.3. MEL biyosentezi

Bitkiler, hayvanlar, algler ve bakteriler de dahil olmak üzere hemen hemen tüm canlılarda MEL bir amino asit olan triptofan (Trp)'dan sentezlenir (Şekil 2.2). Trp sadece MEL'in değil, tüm bitki ve hayvanlarda bulunan bir bileşik olan serotonin (SER) ve yine bir bitkisel hormon olan indol-3-asetik asitin (IAA) de öncü maddesidir. Her ne kadar MEL, Trp'den farklı yollardan sentezlense de son zamanlarda sentezlendiği kabul edilen yol  $\text{Trp} \longrightarrow \text{Triptamin} \longrightarrow \text{Ser} \longrightarrow \text{5-methoksitriptamin} \longrightarrow \text{MEL}$  şeklindedir ve bu sentez sırasında çeşitli enzimler görev alır (Zhao vd., 2019). MEL sentezi ardışık dört enzimatik basamak izleyerek gerçekleşmektedir. İlk aşamada triptofan dekarboksilaz (TDC) enziminin katalize etmesi sonucu Trp triptamine dönüşür. Triptaminden SER'e dönüşümü gerçekleştirerek biyosentez izyolunun ikinci basamağını düzenleyen ve yapılan çalışmalarla çeltik bitkisinde varlığı kanıtlanmış olan triptamin 5-hidroksilaz (T5H) enzimidir (Kang vd., 2007). Hayvanlarda SER, SNAT enzimi ile N-asetilserotonin (NAS)'a ve ardından asetilserotonin metiltransferaz (ASMT/COMT) enzimi ile MEL (N-asetil-5-methoksitriptamin)'e dönüşür. Bitkilerde ise SER, asetilserotonin metiltransferaz (ASMT/COMT) enzimi ile bir triptamin türevi olan 5-methoksitriptamin'e dönüşür. Sentez izyolunun son aşamasında ise 5-methoksitriptamin N-asetiltransferaz (SNAT) enzimi ile MEL'e dönüşür. MEL'in hayvanlarda ve bitkilerde biyosentez yolları ve bu aşamada görev alan enzimler Şekil 2.2'de gösterilmektedir.





Şekil 2.2. MEL'in bitkilerde ve hayvanlarda biyosentez yolları (Zhao vd., 2019)

#### 2.4. Bitkilerde MEL içeriği

Yukarıda belirtildiği gibi ilk olarak alglerde keşfedilmesiyle başlayan MEL'in keşif yolculuğu, 1995 yılında iki araştırmacı gurubunun birbirinden habersiz olarak bitkilerde özellikle tahıllarda, meyvelerde ve sebzelerde var olduğunu ortaya koymalarıyla dönüm noktasına ulaşmıştır. Daha sonra yürütülen çok sayıda araştırma, çok çeşitli bitki türünün farklı organlarında (tohum, meyve, yaprak ve kök gibi) oldukça yüksek miktarlarda MEL bulunduğunu ortaya koymuştur (Reiter, 1999; Tettamanti vd., 2000; Reiter vd., 2007). Ayrıca MEL'in antioksidan özelliği, tıp ve ilaç sanayinde kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerin öneminin artmasına da sebep olmuştur (Paredes vd., 2009; Arnao, 2014; Feng vd., 2014) çünkü Çin kökenli tıbbi bitkilerin bir çoğunun çok yüksek seviyelerde ( $>1000 \text{ ng g}^{-1}$ ) MEL içerdiği bildirilmiştir (Chen vd., 2003). Bu bitkilerin arasında yer alan ve tıbbi ve aromatik bir bitki olan sarı kantaronun (*Hypericum perforatum* L.) normalde yüksek olan MEL seviyesinden ( $1.8 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ) hareketle çok daha yüksek miktarlarda MEL içeren ( $23.1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ) kantaron hatları mutasyon yöntemi kullanılarak geliştirilmiştir (Murch vd., 1997).

MEL'in, tohumlarda yüksek miktarlarda bulunmasının nedeninin aşırı sıcaklık, kuraklık, UV ve çevresel toksinler gibi olumsuz çevre koşullarında oluşan oksidatif stres zararlarından tohumu ve üreme dokularını korumak için olduğu düşünülmektedir (Manchester vd., 2000; Burkhardt vd., 2001). Örneğin, Reiter vd. (2005), ceviz (*Juglans regia* L.) tohumunda bulunan yüksek miktarda MEL'in yağ asitlerinin oksidasyonunu engelleyerek tohumun canlılığını uzun süre muhafaza etmesi ve sonraki yıllarda başarılı bir çimlenme göstermesinde aktif rol oynadığını belirtmiştir. Ayrıca, MEL'in, hem suda hem de yağda eriyebilen bir madde olması, yüksek oranda yağ içeren tohumların MEL içeriğinin daha fazla olduğu ve bu özelliği ile de tohumları dormansi veya kurumuş halde antioksidan enzimlerin eksikliğinde veya yokluğunda koruyarak yüksek oranda çimlenme göstermelerine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Hardeland vd., 2007).

Bitkilerde tespit edilen MEL seviyelerinin sadece türden türe farklılık göstermekle kalmadığı, aynı zamanda aynı türün içerisindeki genotipler veya çeşitler arasında ya da aynı türe ait bitkilerde yıl içerisinde de farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Bitki organları arasında MEL içeriğinin genç ve üretken organlarda daha yüksek olduğu (Posmyk ve Janas, 2009) ve MEL'in özellikle kurumuş ve olgun tohumlardaki varlığının antioksidan savunma mekanizmasında görev yapmasından kaynaklandığı öne sürülmektedir (Paredes vd., 2009). Okazaki ve Ezura (2009), farklı büyüme evrelerindeki domates bitkisinin yapraklarındaki MEL içeriğinin azaldığını buna karşılık olgunlaşan meyvelerde ve tohumlarda ise MEL'in olgunlaşmanın ilerlemesine paralel olarak arttığını bildirmişlerdir. Yine Riga vd. (2014), farklı biber ve domates çeşitlerinin meyvelerindeki MEL içeriğinin farklı ışık koşulları altındaki değişimini incelemişler ve biber çeşitlerinde MEL içeriğinin 31-93 ng g<sup>-1</sup> arasında, domates çeşitlerinde ise 7.5-250 ng g<sup>-1</sup> arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca meyvelerin gölgede yetiştirildiği durumlarda birçok domates çeşidinde MEL miktarının %135'e varan oranlarda arttığını buna karşılık birçok biber çeşidinde ise %64 azaldığını belirlemişlerdir. Tüm bu sonuçlar MEL içeriğinin sadece bitki türleri arasında farklılık göstermeyip, aynı türün içerisinde genotipler veya çeşitler arasında veya aynı genotipteki bireylerin farklı büyüme evreleri içinde de farklılık gösterdiği ortaya koymuştur (Dubbels vd., 1995; Hattori vd., 1995; Posmyk ve Janas 2009). Benzer şekilde biber ve patlıcan bitkilerinin farklı organlarında (yaprak, kök, meyve ve tohum) ve farklı büyüme aşamalarında (çimlenme, fide, çiçeklenme ve hasat) MEL değişiminin ortaya konduğu çalışmalarda, kotiledon aşamasındaki fidelerde yüksek seviyelerde seyreden MEL içeriğinin bitkilerin olgunlaşmasıyla birlikte yaprak ve köklerde azaldığı fakat meyve ve tohumlarda ise artış gösterdiği belirtilmiştir (Korkmaz vd., 2014;

2017). Araştışıcılar bu artışın sebebi olarak MEL'in bitkilerde farklı gelişim sũreçlerini kontrol etmesi olarak ileri sũrmũřlerdir.

Benzer bir araştışmada yeşil ve kırmızı olum evresindeki domates meyvelerinin MEL iğeriği araştırılmış ve yeşil olum safhasındaki meyvelerde MEL iğeriğinin daha dũřuk, buna karşılık kırmızı olum safhasındaki meyvelerde ise daha yũksek olduğu bildirilmiştir (Van Tassel vd., 2001). Aynı araştışmada gũndũz sefası bitkisinin (*Pharbitis nil*) fidelerinde MEL seviyesinin bitki bũyũmeye devam ettikçe artarak 6 katına kadar ęıktıęını belirtilmiştir.

Vitalini vd. (2011), Malbec ęeřidi ũzũmũn (*Vitis vinifera*) meyve kabuğunda, tohum ve etli kısmında olgunlaşma ũncesi ve sonrası MEL iğeriğini gũzlemlemiř, ũzũmũn meyve kabuğunda olgunlaşma ũncesi saptanan MEL miktarının, olgunlaşma sonrasında azaldığını; tohumda ise olgunlaşma sonrası tespit edilen MEL miktarının, olgunlaşma ũncesi tespit edilen miktardan neredeyse 3 kat daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Simopoulos vd. (2005), semizotunun (*Portulaca oleracea*) MEL iğeriğini tespit etmiş ve MEL miktarını  $19.000 \text{ pg g}^{-1}$  olarak bulmuşlardır. Araştışıcılar MEL'in, doğrudan serbest radikal sũpũrũcũ etkisinin olmasının yanı sıra dolaylı olarak antioksidan etki gũsterdięi için semizotunda bulunan diğer antioksidanlarla etkileşime girerek bunların antioksidan etkilerini arttırdığını bildirmişlerdir. İspanya'da ũretilen rafine ve sızma zeytinyağlarının MEL iğeriğinin araştırıldığı bir diğer ęalıřmada, sızma zeytinyağı ũrneklerinin MEL iğeriğinin rafine zeytinyağı ũrneklerine kıyasla yũksek ęıktıęı saptanmıştır (De la Puerta vd., 2007). Robusta (*Coffea canephora* Pierr.) ve arabica (*Coffea arabica*) kahve ęekirdeklerinin yeşil ve kavrulmuş ũrneklerinin MEL içeriklerinin kıyaslandığı bir ęalıřmada, kavrulmuş ęekirdeklerin daha yũksek miktarlarda MEL iğerdiği bildirilmiştir (Ramakrishna vd., 2012).

Tũm bu ęalıřmalara ek olarak şu ana kadar tespit edilen bazı tıbbi ve aromatik bitkiler ile bazı meyvelerin ve sebzelerin farklı organlarının MEL içerikleri ęizelge 2.1, 2.2 ve 2.3'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Bazı tıbbi aromatik bitkilerin MEL içeriği (Posmyk ve Janas, 2009; Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2015a; Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2018a,b)

Yaygın ismi	Bilimsel adı	MEL (ng g <sup>-1</sup> )
Dağlama	<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	416.8
Kakule	<i>Elletteria cardamomum</i> L.	15
Kasia tora	<i>Senna tora</i>	10.5
Sinek kuşu ağacı	<i>Sesbania glandiflora</i> L.	43.70
Çin takkesi	<i>Scutellaria baicalensis</i> L.	2000-7000
Çin raventi	<i>Rheum palmatum</i> L.	1078
Defne	<i>Laurus nobilis</i> L.	0.004
Çin meyan kökü	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	34.000
Adaçayı	<i>Salvia officinalis</i> L.	29.000
Zerdeçal	<i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.	120
Kel beybunik	<i>Triplourespermum disciforme</i>	3073
Kedi pençesi	<i>Uncaria rhynchophylla</i> Miq.	2460
Tokyo menekşe	<i>Viola philipica</i> Cav.	2360
Gümüş düğme	<i>Tanacetum parthenium</i> L.	1700
Karabiber	<i>Piper nigrum</i> L.	1092
Zencefil	<i>Zingibar officinale</i> L.	0.583
Sarısabır	<i>Aloe vera</i> L.	516
Karanfil	<i>Syzygium aromaticum</i> L.	446
Civan perçemi	<i>Achillea millefolium</i> L.	340
Sıraca otu	<i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl	342
Kore nanesi	<i>Agastache rugosa</i> Kuntz	300
Hünnap	<i>Ziziphus jujube</i> Lam.	256
Mavi kaside otu	<i>Scutellaria amoena</i> C.H. Wright	178
Japon hanımeli	<i>Lonicea japonica</i> Thunb	140
Keşiş külahlı	<i>Epimedium brevicornum</i> M.	1105
Kongo kahve çekirdeği	<i>Coffea canephora</i> Pierr.	5800
Arap kahve çekirdeği	<i>Coffea arabica</i> L.	6800
Adaçayı yaprağı	<i>Salvia officinalis</i> L.	0.28-0.40
Çemen otu tohumu	<i>Trigonella foenum- graecum</i> L.	43
Haşhaş tohumu	<i>Papaver somniferum</i> L.	6
Tütün yaprağı	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	0.05

Çizelge 2.2. Bazı meyvelerin farklı organlarında bulunan MEL içeriği (Posmyk ve Janas, 2009; Arnao, 2014; Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2015a; Nawaz, 2016)

Yaygın ismi	Bilimsel adı	MEL (ng g <sup>-1</sup> )	Organ
Muz	<i>Musa paradisiaca</i>	0.002	Meyve
Asma	<i>Vitis vinifera</i> L.	0.005-0.965	Meyve
Asma	<i>Vitis vinifera</i> L.	0.965	Yaprak
Tatlı kiraz	<i>Prunus avium</i> L.	0.006-0.224	Meyve
Çilek	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	0.012	Meyve
Kivi	<i>Actinidia deliciosa</i> liang-Ferg.	0.024	Meyve
Ananas	<i>Ananas comosus</i> L.	0.302	Meyve
Nar	<i>Punica granatum</i> L.	0.54-5.5	Meyve
Vişne	<i>Prunus cerasus</i> L.	1-19.5	Meyve
Mango	<i>Mangifera indica</i> L.	0.7	Meyve
Papaya	<i>Carica papaya</i> L.	0.24	Meyve
Zeytin	<i>Olea europaea</i> L.	0.050-0.119	Zeytinyağı
Zeytin	<i>Olea europaea</i> L.	0.004	Yaprak
Zeytin	<i>Olea europaea</i> L.	0.532	Meyve
Mandalina	<i>Citrus reticulata</i> L.	0.15	Meyve
Portakal	<i>Citrus sinensis</i> L.	0.150	Meyve suyu
Beyaz dut	<i>Morus alba</i> M.	0.151	Meyve
İncir	<i>Ficus carica</i> L.	0.013	Yaprak
İncir	<i>Ficus carica</i> L.	0.004	Meyve
Ceviz	<i>Juglans regia</i> L.	3.5	Tohum
Badem	<i>Prunus amygdalus</i> Batsch.	39	Tohum
Hurma ağacı	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	0.469	Yaprak
Mersin	<i>Myrtus communis</i> L.	0.291	Yaprak

Çizelge 2.3. Bazı sebzelerin farklı organlarında bulunan MEL içeriği (Posmyk ve Janas, 2009; Arnao, 2014; Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2015a; Nawaz 2016)

Yaygın ismi	Bilimsel adı	MEL (ng g <sup>-1</sup> )	Organ
Havuç	<i>Daucus carota</i> Hoffm.	0.055	Meyve
Domates	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	0.02-0.016	Meyve
Domates	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	0.032	Meyve
Hıyar	<i>Cucumis sativus</i> L.	0.025	Meyve
Hıyar	<i>Cucumis sativus</i> L.	11-80	Tohum
Yeşil biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	0.521	Tohum
Turuncu biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	0.581	Tohum
Kırmızı biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	0.18	Kök
Anason	<i>Pimpinella anisum</i> L.	7	Tohum
Kereviz	<i>Apium graveolens</i> L.	7	Tohum
Kişniş	<i>Coriandrum sativum</i> L.	7	Tohum
Kekik	<i>Thymus vulgaris</i> L.	38.000	Tüm bitki
Semizotu	<i>Portulaca oleracea</i>	19	Tüm bitki
Rezene	<i>Foeniculum vulgare</i> Gilib.	28	Tohum
Siyah hardal	<i>Brassica nigra</i> L.	129	Tohum
Beyaz hardal	<i>Sinapsis alba</i> L.	189	Tohum
Lahana	<i>Brassica oleracea</i> L.	0.107	Yaprak
Çin lahanası	<i>Brassica chiensis</i> Juslen.	0.112	Yaprak
Yabani kuşkonmaz	<i>Asparagus horridus</i> L.	0.142	Yaprak
Kuşkonmaz	<i>Asparagus officinalis</i> L.	0.01	Sürgün
Kazayağı	<i>Chenopodium rubrum</i> L.	0.2	Sürgün
Pancar	<i>Beta vulgaris</i> L.	0.002	Kök
Maş fasulyesi	<i>Vigna radiata</i> L.	0.24	Kök
Kırmızı turp	<i>Raphanus sativus</i> L.	0.6	Kök
Nane	<i>Mentha piperita</i>	19.500	Yaprak
Gölevez	<i>Colocasia esculenta</i> L.	0.055	Sürgün
Soğan	<i>Allium cepa</i> L.	0.032	Soğan
Barbunya filizi	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	529	Hipokotil
Sarımsak	<i>Allium sativum</i> L.	0.58	Soğan

## 2.5. İnsanlarda MEL'in görevleri ve fizyolojik etkileri

İnsanlarda MEL'in varlığı keşfedildikten sonra yapılan çalışmalar ve araştırmalar neticesinde insan bünyesine dışardan hazır alınan bir amino asitten (Triptofan) sentezlendiği kanıtlanmış, insanların olmazsa olmaz beslenme ihtiyacına bağlı olarak

gelişen bu sistemde MEL'in insan vücudunda bir çok rol üstlendiği ortaya konmuştur (Rahman vd., 1982).

Karanlığın hormonu olarak da bilinen MEL'in insanlarda ve hayvanlarda gece salınımı artarak saat 23.00-05.00 aralarında pik yaptığı buna karşılık aydınlıkta ise kandaki seviyesinin çok düşük düzeylerde seyrettiği bildirilmiştir (Cardinali ve Pevet, 1998) Geceleri insanların kan serumundaki MEL içeriği yüksek iken SER içeriğinin düşük seyretmesinin sebebinin SER'in MEL'e dönüştürülmesinden kaynaklandığı ispatlanmıştır (Özcelik vd., 2013). Bu nedenle kandaki miktar değişimleri, dokuların ve hücrelerin gün içerisindeki veya yıl içerisindeki zamanın algılanmasına yardımcı olduğu ve dışarıdan yapılan MEL uygulamalarının karanlık uygulamasını taklit ettiği için MEL'in hayvanlarda ve insanlarda fotoperiyodik veya 24 saatlik ritim (circadian rhytm, sirkadiyal ritim) düzenleyici olarak görev yaptığı bildirilmiştir (Reiter, 1991). MEL sadece gün içerisinde değil, aynı zamanda yıl içerisinde de zamanın algılanmasında önemli bir role sahiptir; kış aylarında MEL seviyeleri pik yaparken yaz aylarında ise oldukça düşük miktarlarda seyretmektedir (Cardinali ve Pevet, 1998).

Yeni doğan bebeklerin kanlarında oldukça düşük miktarlarda bulunan MEL, ilerleyen aylarda hızla artarak 3-5 yaş aralığında en yüksek seviyeye ulaşır ve sonrasında ise gittikçe azalan bir seyir izler. MEL'in büyüme ile birlikte olgunlaşma ve cinsel olgunluğa erişme gibi farklı büyüme aşamalarını da kontrol ettiği ve ilerleyen yaşla birlikte giderek kandaki miktarının azaldığı bildirilmiştir. Yaşlanma ile görülen bu azalma vücutta oksidatif stresin artmasına, özellikle 55 yaş üstü insanlarda uykusuzluk problemleri görülmesine ve metabolik değişikliklerin oluşmasına neden olmaktadır (Folkard vd., 1993, Palaoğlu ve Beşkonaklı, 1998; Ölmez vd., 2000; Atasoy ve Erbaş, 2017; Favero vd., 2017).

Bu özelliklerinin yanında MEL insan vücudunda stres sonucu oluşan serbest radikalleri de süpürme özelliğine sahiptir. MEL'in dışardan alınmasıyla bir antioksidan olarak metabolizmayı koruduğu ve kanser ile ilgili yapılan çalışmalarda hem tümör gelişimini durdurduğu hem de hücre büyümesindeki kontrol bozukluklarını düzenlediği görülmüştür (Frenkel vd., 2013; Seely vd., 2012; Wang vd., 2012). MEL'in psikolojik rahatsızlıklar üzerine de etkisi olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Kan serumunda düşük miktarlarda MEL'e rastlanan insanlarda psikolojik rahatsızlıkların görülmesi, MEL'in insan psikolojisi ile bir bağlantısının olduğu görüşünü ortaya çıkarmıştır. Bu amaçla psikolojik tedavide kullanılan birçok antidepressan özellikli ilaçlar yine SER ve epinefrin içermekte ve bu maddeler de doğal olarak insan bünyesinde MEL

sentezini arttırmaktadır (Çam ve Edoğan, 2003; Özgüner vd., 1995; Macchi ve Bruce, 2004).

## **2.6. Bitkilerde MEL'in fizyolojik görevleri**

### **2.6.1. Günlük ve yıllık ritim düzenleme ve fotoperyodik tepki**

Genellikle biyolojik saat olarak bilinen sirkadiyen ritim ya da sirkadiyen saat, Dünya'nın kendi etrafında bir defa dönme süresine bağlı olarak yaklaşık 24 saatlik döngülerde bakteri ve mantarlardan bitki ve hayvanlara kadar çok çeşitli organizmaların fizyolojik, davranışsal ve metabolik fonksiyonlarını düzenlemektedir. Sirkadiyen kelimesi Latince kökenli olup 'yaklaşık bir gün' anlamına gelmektedir (Challet vd., 2005). Hücreler ve organizmalar kendi içerisindeki saate göre günün vakitlerine tepki vermekte ve bu sayede hücre yenilenmesi ve hormonların salgılanması gerçekleşmekte, bitkilerde fotosentez ve çiçeklenme gibi olaylar üzerinde kontrol sağlanmaktadır.

Hayvanlarda ve insanlarda MEL'in günlük ve yıllık ritmi düzenlediği, zamanın algılanmasına sebep olduğu, dışardan alımında uykuyu düzenlediği ve kandaki miktarının özellikle gece veya karanlıkta arttığı ispatlanmıştır (Cardinali ve Pevet 1998, Retier 1991). Bitkilerde de hayvanlardakine benzer bir döngü olabileceği düşüncesinden hareketle MEL'in sirkadiyen ritim düzenlemesi üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Yirmi dört saatlik zaman dilimi içerisinde MEL değişiminin ortaya konduğu ilk çalışmada kısa gün bitkisi olan *Chenopodium rubrum* L. fideleri 12 saat aydınlık - 12 saat karanlıkta yetiştirilmiş ve fidelerin aydınlıkta MEL içeriği azalırken, karanlık periyodun ortalarına doğru MEL konsantrasyonunun pik yaptığı görülmüştür (Kolář vd., 1997).

Bu çalışmanın ardından MEL'in bitkilerde de 24 saatlik ritim düzenleyici olarak görev aldığı, bitkilerde daimi olarak bulunduğu ancak seviyesinin gün içinde değiştiği ve genelde sentez miktarının karanlıkta arttığı; ayrıca gün batımından hemen önce sentez miktarının artarak en yüksek seviyeye ulaştığı fikri ortaya atılmıştır (Wolf vd., 2001; Tan vd., 2007b; Paredes vd., 2009). Malbec üzüm çeşidinin danelerinin kabuklarında yapılan bir çalışmada 24 saatlik zaman dilimi içerisinde MEL seviyelerindeki değişimler ortaya konmuş ve en yüksek MEL seviyesi güneş doğarken tespit edilmiş ve ilerleyen saatlerde ise MEL seviyesi düşüş göstermiştir. Bu sonuçtan hareketle MEL seviyelerinin sirkadiyen ritim tarafından kontrol edildiği ve aydınlık periyod döneminde MEL'deki azalmaya gün ışığından kaynaklanan solar radyasyonun neden olduğu strese karşı antioksidan sistemin



devreye girmesinden kaynaklanan aşırı MEL tüketiminin olabileceği bildirilmiştir (Boccolandro vd., 2011).

Doğal koşullarda yetişen su sümbülü (*Eichornia crassipes*) bitkilerinde gün içerisindeki MEL seviyesinin değişiminin hayvanlarda tespit edilen ritimden farklı olarak aydınlık zamanın sonlarına doğru bir artış gösterdiği ve bunun sebebinin fotosentez ve ışıktan korunma süreçleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Tan vd., 2007b). Benzer şekilde 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ışık rejimi altında yetiştirilen çeşitli kiraz çeşitlerinin meyvelerinin MEL içeriği belirlenmiş ve gün içerisinde aşağıda belirtilen elma çalışmasına benzer şekilde artan MDA içeriğine paralel olarak MEL seviyesinin sabah ve öğleden sonra olmak üzere iki defa yükseldiği bildirilmiştir (Zhao vd., 2012).

Elma yapraklarında MEL seviyesinin gün içerisinde iki kez (saat 05:30 ve 14:30'da) pik yaptığı ve öğleden sonra belirlenen yüksek MEL seviyesinin artan yüksek sıcaklık stresi sonucu dokularda biriken yüksek MDA seviyesinin artmasının hemen ardından gerçekleştiği bildirilmiştir (Zuo vd., 2014). Yine arpa (*Hordeum vulgare*) ve acı bakla (*Lupinus albus*) kök dokularındaki MEL seviyesinin gün içerisinde iki kez yüksek seviyeye ulaştığı görülmüş ve elmada yapılan araştırmaya benzer sonuçlar bildirilmiştir. Acı baklada MEL seviyesi saat 08:00 ve 16:00'da pik yaparken arpa bitkisinde ise saat 08:00 ve 20:00'de pik yaptığı belirlenmiştir. Bitkilerden alınan dokuların alınış saatlerinin farklı ve MEL seviyelerinin farklı zamanlarda pik yapmasına rağmen her iki bitkide de sirkadiyen ritmin bulunduğu tespit edilmiştir (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2015b). Yine 12 saat karanlık - 12 saat aydınlık ışıklandırma rejimi altında yetişen *Arabidopsis* bitkisinde, gün içerisinde MEL seviyesinin önemli bir değişim göstermediği görülmüş fakat suni ışık altında yetiştirdikleri *Arabidopsis* bitkilerinin MEL içeriğine kıyasla doğal koşullar altında yetiştirdikleri bitkilerdeki MEL içeriğinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Hernández vd., 2015).

## 2.6.2. Büyüme ve gelişme üzerine etkileri

MEL'in fizyolojik görevlerinden biri de büyüme gelişme üzerine olan etkileridir. Yapılan birçok bilimsel çalışma ile MEL'in oksine benzer etkilere sahip olduğu ortaya konulmuştur (Hernández-Ruiz vd., 2004; Arnao ve Hernández-Ruiz, 2007). Çünkü kimyasal yapıları bakımından hemen hemen birbirine benzeyen IAA ve MEL'in tek farkı, MEL'in yan zincirinin asidik olmamasıdır. IAA'nın ise en iyi bilinen özelliği kök oluşumunu ve gelişmesini uyarmasıdır. Bu sebeple, yapılan ilk çalışmalar kök gelişimi ve

MEL arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelik olmuştur. Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) bitkisinde MEL'in bitki büyüme ve gelişmesindeki rolünü ortaya koymak için SER, MEL ve IAA engelleyici (CPA-chlorophenyl alanine) kullanılarak yürütülen bir çalışmada, yüksek içsel MEL konsantrasyonunun kök gelişimini teşvik ettiği, buna karşılık MEL'in öncü maddesi olan SER konsantrasyonundaki artışların ise gövde gelişimini teşvik ettiği bulunmuştur (Murch vd., 1997).

MEL'in bitki büyümesi ve gelişmesi üzerindeki teşvik edici rolünün olduğu bildirilmiş ve bu etki birçok bitki türünün kök sisteminde kanıtlanmıştır. MEL'in farklı bitki dokularında tıpkı IAA'de olduğu gibi farklı konsantrasyon dağılımlarına sahip olduğu ve genelde meristem dokuları gibi büyüme noktalarının yüksek miktarlarda MEL içerdiği bildirilmiştir (Murch ve Saxena, 2002; Hernández-Ruiz vd., 2004; Hernández-Ruiz ve Arnao, 2008; Sarropoulou vd., 2012) Bunun yanı sıra, kırmızı lahana ve hıyar bitkilerinin tohumlarında çimlenme ile artan MEL miktarının fide ve kök sisteminde büyümeyi hızlandırarak tohum çimlenmesini teşvik ettiği bildirilmiştir (Posmyk vd., 2008; 2009).

MEL'in ışık stresine (etiyolet olmuş) maruz kalmış acı bakla (*Lupinus albus* L.) hipokotillerinde IAA benzeri bir etki göstererek hipokotil uzamasını destekleyerek vejetatif gelişimi teşvik ettiği bildirilmiştir (Hernández-Ruiz vd., 2004). Araştırmacılar, MEL konsantrasyonunun acı bakla dokularında IAA konsantrasyonuna yakın seviyelerde seyrettiğini, MEL'in yüksek konsantrasyonlarda bir büyüme engelleyici olarak görev yaptığını ve vejetatif gelişimi engellediğini; buna karşılık düşük konsantrasyonlarda ise büyümeyi teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Vejetatif gelişimin teşvik edilmesi için gerekli olan optimum MEL konsantrasyonunun 10 µM civarında olduğu bildirilmiştir. MEL'in sentezini teşvik eden enzim ortadan kaldırıldığında bitkilerin minimum gelişme gösterdiği, buna karşılık dışarıdan MEL ve IAA uygulandığında bitkilerin gelişiminin tekrar teşvik edildiği görülmüştür. Acı bakla fideleri haricinde MEL'in, buğday, arpa ve yulaf gibi bitkilerde vejetatif gelişmeyi ve büyümeyi teşvik edici benzer etkilere sahip olduğu ortaya konmuş ancak bu türlerdeki teşvik edici etkisi IAA ile kıyaslandığında %10-55 arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Hernández-Ruiz vd., 2005).

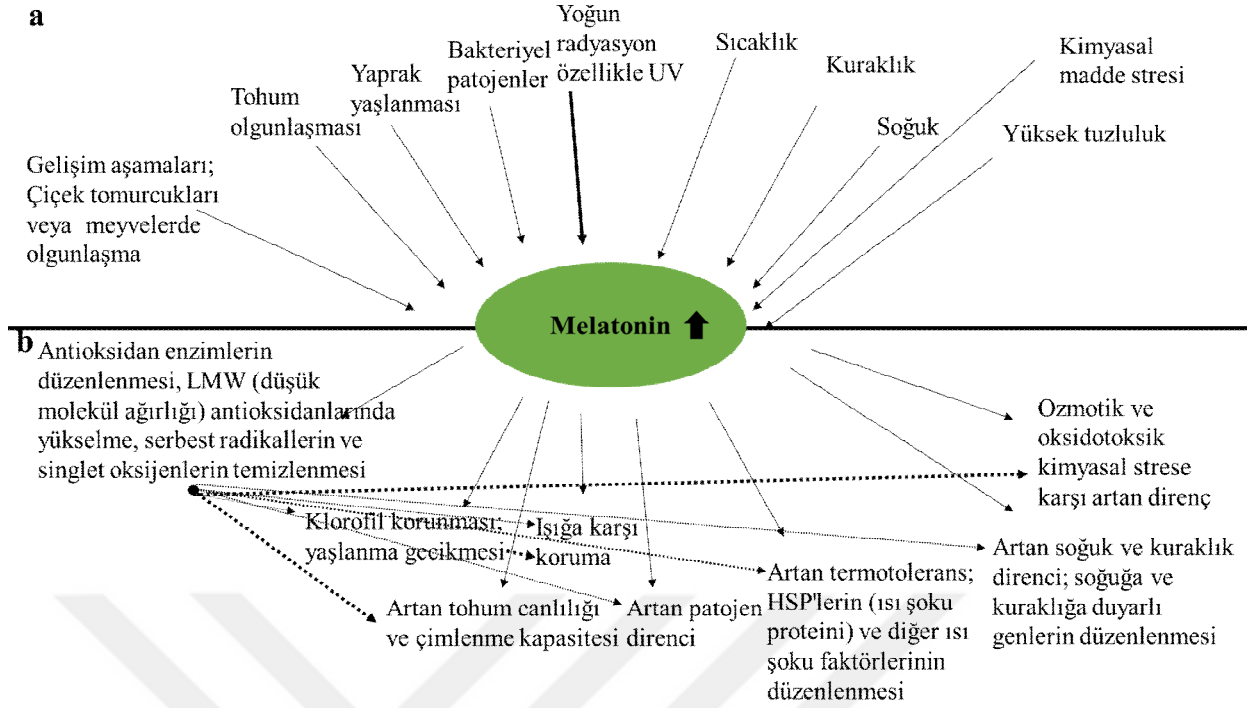
Büyüme ve gelişme ile artan içsel MEL konsantrasyonu arasındaki ilişkinin araştırıldığı farklı bir çalışmada, bir tıbbi bitki olan *Glycyrrhiza uralensis* Fischer'in içsel MEL miktarının bitki yaşlandıkça arttığı ve bitkinin vejetatif gelişimini olumlu etkilediği gözlemlenmiştir (Afreen vd., 2006). Araştırmacılar bitki içerisindeki içsel MEL miktarını üç aylık ve altı aylık fidelerde kıyaslamışlar ve altı aylık fidelerde içsel MEL düzeyinin üç aylık bitkilere kıyasla 4 kat daha fazla olduğunu bulmuşlardır.

MEL'in farklı konsantrasyonlarda dışardan uygulandığı diğer bir araştırmada ise Chen vd. (2008), yabancı hardal bitkisinin (*Brassica juncea* L.) köklerine uyguladıkları 0.1 µM MEL uygulamasının kök gelişimini teşvik ettiğini ve 100 µM MEL uygulamasının ise kök gelişimini durdurduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca teşvik edici etkinin ise sadece genç bitkilerde görüldüğünü ve içsel IAA konsantrasyonunun düşük MEL konsantrasyonunda arttığını buna karşılık yüksek MEL konsantrasyonunda IAA seviyesinin yükselmediğini ve kök gelişiminin engellendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bu sonuçlar ışığında kök gelişimi üzerinde MEL'in engelleyici etkisinin IAA ile ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır. *Arabidopsis* bitkisine farklı konsantrasyonlarda dışarıdan MEL uygulaması yapıldığında düşük konsantrasyonlarda bitki bünyesinde büyüme düzenleyici olarak görev yaparken konsantrasyon arttıkça kök uzunluğuna olan etkisinin azaldığı bildirilmiştir (Hernández vd., 2015). Yine kuraklık stresine tabi tutulmuş kivi bitkilerinin köklerine dışardan 0-200 µM aralığında MEL uygulanması sonucu en iyi kök büyümesi ve gelişmesi 100 µM MEL konsantrasyonunda gerçekleşmiş, 200 µM MEL konsantarsyonunda ise kök büyümesinde azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Liang vd., 2019).

### **2.6.3. Stres altındaki bitkilerde içsel MEL'in değişimi ve MEL'in antioksidan etkisi**

Hem biyotik hem de abiyotik stres faktörlerinin bitkilerde MEL sentezini teşvik ettiği fikri bitkilerde MEL'in var olduğunun belirlenmesiyle ortaya atılmıştır. İnsanlarda ve hayvanlarda MEL'in serbest radikalleri bertaraf etmede aktif rol üstlenmesinden dolayı geniş spektrumlu antioksidan olarak kabul edilmesi, birçok araştırmacıda bu maddenin bitkilerde de benzer şekilde roller üstlenebileceği fikrinin doğmasına neden olmuştur.

Yapılan birçok araştırma sonucunda MEL'in bitki içindeki değişim ve işlevleri sonucunda oluşan tepkiler Şekil 2.3'de özetlenmiştir.



Şekil 2.3. İçsel MEL içeriğinde görülen yükselişler (a) ve sonrasında artan stres toleransı (b) (Hardeland, 2016)

Bitkilerde içsel MEL'in stres etmenlerine karşı verdiği tepkiler incelenecek olursa MEL'in varlığını ilk ortaya koyan araştırma grubu olan Dubbels vd. (1995), yabancı domatesin (*L. pimpinellifolium*) MEL içeriğini kültür domatesleri (*L. lycopersicum*) ile kıyaslamışlar ve kültür domateslerinin 5 kat daha fazla MEL içerdiğini ve bunun da sonucu olarak kültür domates varyetelerinin yüksek ozon seviyelerine karşı daha tolerant olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı grup yüksek ozona karşı toleransı yüksek olan tütün varyetelerinde MEL içeriğinin yüksek olduğunu ve yüksek MEL konsantrasyonlarının stres sonucu oluşan serbest radikallerin temizlenmesinde görev aldığını bildirmişlerdir (Dubbels vd., 1995).

Alp dağlarında ve Akdeniz'in yüksek kesimlerinde şiddetli UV radyasyonu koşulları ve ani sıcaklık değişimleri altında yetişen bitkilerin, aynı türlerinin daha düşük rakımlarda ve düşük UV radyasyonu altındaki koşullarda yetişen ekotiplerine göre çok daha fazla MEL içerdiği bildirilmiştir (Tettamanti vd., 2000). Yine, düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık ve toprak kirliliği gibi abiyotik stres koşulları altında yetişen bitkilerde MEL içeriğinin normale göre daha fazla olduğu da bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Tan vd., 2007a,b).

Tuz, çinko, düşük sıcaklık ve kuraklık gibi değişik stres faktörleri altında yetişen arpa ve acı bakla bitkilerinde stres faktörünün şiddetine ve uygulama zamanına göre değişmekle birlikte içsel MEL seviyelerinde ciddi artışlar görülmüştür (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2009a,b; Arnao ve Hernández-Ruiz, 2013). Araştırmacılar, çinko stresi altındaki arpa bitkilerinde 6, acı bakla bitkilerinde 12 kat, soğuk stresi (6 °C) altındaki acı bakla bitkilerinde kontrol (24 °C) bitkilerine kıyasla 2.5 kat, kuraklık stresi altındaki acı bakla bitkilerinde ise içsel MEL seviyelerinde 4 kat artışlar olduğunu bildirmişlerdir. Tarla koşullarında yetiştirilen domateslerin yapraklarında, kontrollü koşullarda (iklim odası) yetiştirilen domateslere kıyasla MEL seviyesinin 10 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2013). Aynı şekilde *Arabidopsis* bitkisinin sera koşullarında ve iklim odasında (23 °C) yetiştirildiği bir diğer çalışmada seraya kıyasla iklim odasında yetiştirilen bitkilerde içsel MEL miktarı 6 kata yakın bir düşüş göstermiştir (Hernández vd., 2015). Benzer şekilde, tuz stresine maruz kalan ayçiçeği fidelerinin köklerinde 2 kat, kotelidonlarında ise 6 kat daha fazla MEL olduğu ve MEL sentezinde görev olan HIOMT enziminin sentezinin stres doğrultusunda teşvik edildiği bildirilmiş ve tuz stresi altındaki bitkilerde bu enzim aktivitesinde %72 artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Mukherjee vd., 2014).

MEL içeriği yüksek transgenik çeltik bitkilerine herbisit uygulayarak strese maruz bırakan bir grup araştırmacı, içsel MEL miktarının artması ile birlikte klorofil içeriğinin, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin giderek arttığını, herbisit kaynaklı klorozun azaldığını buna karşın dokularda daha düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA miktarına rastlandığını bildirmişlerdir (Park ve Back, 2012). Oksidatif stres koşulları altında yetişen çeltik fidelerinde MEL sentezinde görev alan 3 enzimin (T5H, TDC ve HIOMT) seviyelerinde önemli artışlar görülmüş ve bunun da içsel MEL konsantrasyonunda 6 kata varan artışlara neden olduğu bildirilmiştir (Park vd., 2013; Byeon vd., 2015).

Yine çeltik (*Oryza sativa* cv. Asahi) bitkilerinde yapılan bir çalışmada kontrollü yaşlandırma (10 gün) sırasında bitkileri 10 saat karanlığa ve 14 saat aydınlığa maruz bırakan araştırmacılar bitkilerin yapraklarında MEL'in sentezinin ara maddelerinin içeriğinin (Trp, Triptamin, SER gibi) aydınlık fazda daha yüksek olduğunu ve yaşlanmadan sonra 8. ve 10. günde 275 ng g<sup>-1</sup> ve 262 ng g<sup>-1</sup> MEL tespit etmişler ve ayrıca ışığın yaşlanma sürecini arttırdığını ve yaşlanmaya bağlı olarak yapraklarda içsel MEL içeriğinin arttığı gözlemlenmiştir. Karanlık fazda ise MEL içeriği 8. günde 2.1 ng g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiş ve yaşlanma hızı daha düşük çıkmıştır. Bu da MEL biyosentezi için ışığın sinyaline ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Byeon vd., 2012). *Arabidopsis*

fidelerinin yapraklarının farklı sürelerde (0, 15, 30, 60, 120 ve 180 dk) 37 °C’de sıcaklık stresine tabi tutulduğu bir çalışmada; sıcaklık stresinden önce yapraklardaki 0.6 ng g<sup>-1</sup> olan MEL içeriğinin artan sıcaklık etkisi ile hızlı bir şekilde 2 ile 5 kat arttığı bildirilmiştir (Shi vd., 2015a).

Oladi vd., (2014) antepfıstığı (*Pistachio vera*) tohumlarında ilk defa MEL tayini yapmışlar ve tohumların MEL içeriğinin diğer türlere kıyasla daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar bu durumun geniş bir yetiştirme alanına sahip olan antepfıstığının yaşadığı ortamlardaki stres faktörlerinin içsel MEL seviyelerinde artışlara neden olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yine içsel MEL’in stres etkisiyle arttığı farklı bir çalışmada ise yüksek UV radyasyonuna maruz kalan *Glycyrrhiza uralensis* köklerinde MEL içeriğinin giderek arttığı bildirilmiştir (Afreen vd., 2006).

Farklı stres faktörleri ile tetiklenen içsel MEL üretimi soğuk stresi ile de artış gösterebilmektedir. Buna örnek olarak bir grup araştırmacı boru çiçeği (*Datura metel*) bitkisinin çiçeklerinde SER ve MEL içeriğinin değişimini gözlemek amacı ile bitkinin çiçeklerini toplamış ve soğuk stresine maruz bırakmışlardır. Sonuç olarak soğuk stresine maruz kalan çiçeklerde MEL içeriğinde yüksek oranda bir artış gözlemlenmiş ve bunun nedeni olarak da MEL’in abiyotik stres faktörlerine karşı bitkinin hassas organlarını korumak amacıyla antioksidan madde olarak savunma sistemini harekete geçirerek dokuları korumaya çalışması gösterilmiştir (Murch vd., 2009).

Aynı zamanda içsel MEL’in oksidatif stres veya elverişsiz ortamlarda organizmalar tarafından sentezlenebilme özelliği, tek hücreli organizmalarda da keşfedilmiş ve bir mikroalg olan *Gonyaulax polyedra*’nın düşük sıcaklığa maruz kaldığında, toleranslarını artırmak için MEL üretimini önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Fuhrberg vd., 1997). Benzer şekilde, Tal vd. (2011) bir macroalga’nın (*Ulva*) stres faktörlerine karşı verdiği yanıtları sistematik olarak incelemişler ve MEL üretimi açısından yüksek ortam sıcaklığına veya ağır metallere maruz bırakmanın MEL seviyelerini önemli ölçüde uyardığını ve onları oksidatif hasardan koruduğunu bulmuşlardır. Organizmaların orta seviyelerdeki stres koşullarına maruz kalmaları, onları sonrasında karşılaşılabilecekleri daha şiddetli stres faktörleriyle başa çıkmaları açısından önemli bir hayatta kalma stratejisi olduğu düşünülmekte ve yapılan çalışmalara dayanarak, evrimin çok erken bir döneminde, MEL üretiminin artmasının hayatta kalma stratejisi olarak seçildiğinin öngörüldüğü belirtilmiştir. Ayrıca, MEL biyosentezinin stresli koşullar altında uyarılabilme özelliğinin, bitkiler ve hayvanlar dahil tüm organizmalarda kalıtsal olduğu düşünülmektedir (Tan vd., 2015).

#### 2.6.4. Dışardan yapılan MEL uygulamaları ve stres toleransı

Bitkiler yaşamları boyunca, yetiştikleri ortam koşullarında değişik stres faktörlerine maruz kalabilmekte ve bünyesi içerisinde biyokimyasal tepkiler ile karşılık vererek strese karşı tolerans geliştirmektedirler. Olumsuz çevre koşulları altında yaşayan ve bu koşullara karşı toleranslı olan bitkilerde bulunan yüksek MEL içeriği gerçeği, son yıllarda bu maddenin bitkilere dışarıdan uygulanması yoluyla strese tolerans kazandırılması yönündeki araştırmaları tetiklemiştir. Dışarıdan yapılan MEL uygulamaları; tohum uygulaması olarak, yapraklara sprey ya da sulama suyu vasıtasıyla köklere olmak üzere farklı yöntemlerle yapılabilmektedir. Dışarıdan MEL uygulamanın bir yöntemi olan tohum uygulamalarına bakıldığında, Zhang vd. (2013) su stresi altındaki hıyar tohumlarına MEL uygulayarak tohumların çimlenme yüzdelerinde ve saçıl kök oluşturmalarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışma grubunun yaptıkları farklı bir çalışmada tuz stresi altında hıyar tohumlarına dışardan MEL uygulandığında çimlenme sırasında GA<sub>3</sub> salgılanması artarken ABA ve ROS seviyesinin azaldığını bildirmişlerdir (Zhang vd., 2014). Tuzluluk stresi altındaki soya fasulyesi (*Glycine max*) tohumlarına dışardan MEL uygulandığında; MEL uygulanmayan kontrol grubu tohumlarına göre uygulama yapılan tohumların çimlenme, büyüme ve gelişme, fotosentez aktivitesi, yaprak alanı ve bitkinin tohum bağlaması gibi fizyolojik faaliyetlerini olumlu etkilediği bildirilmiştir (Wei vd., 2015). Yine Hernández vd. (2015) *Arabidopsis* bitkisinin tohumlarına dışardan 100, 300, 500 ve 1000 µM konsantrasyonlarında MEL uygulayarak 3 gün boyunca 35 °C sıcaklık stresine tabi tuttuklarında tohumlardaki canlılık süresini en iyi uzatan MEL konsantrasyonunun 500 µM olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalar dışında bu tezin de çalışma konusu olan düşük sıcaklık stresinin etkisine karşı MEL'in düşük sıcaklık kaynaklı fizyolojik ve biyokimyasal bozulmaları bertaraf ettiği görülmüştür. Buna örnek olarak dışarıdan tohuma yapılan MEL uygulamalarının hıyar (Posmyk vd., 2009) ve biber (Korkmaz vd., 2017) tohumlarının düşük sıcaklıkta (15 °C) çimlenme performanslarını olumlu yönde etkilediği ve bu artışın nedeni olarak da MEL'in, tohumların hücre zarlarında bulunan yağ asidi bileşiklerini peroksidasyona karşı koruması olarak gösterilmiştir. Yine MEL uygulanmış biber tohumlarının 1 yıl süreyle depolanması sırasında meydana gelen değişikliklerin izlendiği bir çalışmada, MEL'in tohumlarda antioksidan sistemi teşvik ederek yaşlanmayı yavaşlattığı ve depolanma sonrası tohumların düşük sıcaklıkta çimlenme performanslarını iyileştirdiği bulunmuştur (Köklü, 2016). Posmyk vd. (2009), dışardan MEL uygulamalarının soğuk stresine maruz kalan hıyar tohumlarının çimlenme performansını

ve antioksidan enzim aktivitesini arttırdığını saptamışlardır. Son olarak soğuk stresi altında biber tohumuna dışardan farklı konsantrasyonlarda (1-25 µM) yapılan MEL uygulamaları sonucunda, tohumların düşük sıcaklıkta çimlenme performansının olumlu etkilendiği ve elde edilen fidelerde konsantrasyonlara bağlı olarak MEL içeriklerinde artışlar olduğu belirlenmiştir (Karaca, 2013).

MEL'in tohum uygulaması haricinde değişik yöntemlerle bitkilere uygulandığı çok sayıda araştırma yürütülmüş ve stres faktörlerine karşı olumlu sonuçlar alınmıştır. Örneğin Wang vd. (2013), bir yaşındaki elma (*Malus domestica* Borkh.) fidanlarına dışarıdan yaptıkları MEL uygulamaları (100 µM) ile kuraklık stresi sonucu elma fidanlarının yapraklarında oluşan senesensin (yaşlanma) ve klorofil parçalanmasının önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. Farklı bir çalışmada ise kuraklık stresi altındaki iki elma türünün (*Malus hupehensis* ve *Malus prunifolia*) fidanlarına dışarıdan MEL uygulandığında, MEL'in yapraklarda absisik asit (ABA) sentezini azalttığı, stomalar açıkken ABA içeriğini düşürerek stomaları koruduğu ve doku içerisinde oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi parçalayan antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Li vd., 2015). Yine tuz stresi altında çeltik bitkilerine dışarıdan MEL uygulandığında bitkilerde tuza toleransının arttığı ve strese bağlı yaprak yaşlanması ve klorofil bozulması önlenmiştir (Liang vd., 2015). Birden fazla stres faktörünün beraber uygulandığı farklı bir çalışmada ise Shi vd. (2015b), dışarıdan yaptıkları MEL uygulamaları sonrasında düşük sıcaklık, kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres faktörlerine maruz kalmış Bermuda çimi (*Cynodon dactylon*) bitkilerinde, çok daha düşük miktarlarda ROS oluştuğunu ve dolayısıyla daha az hücre zararlanmasının meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar ayrıca MEL uygulanmış bitkilerde bitki ağırlığının, dokulardaki organik asitlerin, şekerlerin, aminoasitlerin miktarlarının da arttığını ortaya koymuşlardır. Kuraklık stresi üzerinde yürütülen bir diğer çalışmada ise Ye vd. (2016) susuz tarla koşullarında yetiştirilen mısır bitkisinin fidelerine yapraktan spreysel şekilde 100 µmol L<sup>-1</sup> konsantrasyonunda yapılan MEL uygulamalarının bitkilerin dokularında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA birikiminde düşümlere, bununla birlikte fotosentetik parametreler ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivitelerinde artışlara neden olduğunu bildirmişlerdir. Yine kuraklık stresinin bitkiler üzerinde etkilerini inceleyen bir diğer çalışma grubu, yulaf fidelerinde (*Avena sativa* L.) 100 µM MEL uygulayarak fidelerin strese karşı toleransını arttırmayı başarmışlardır. Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sup>-2</sup> anyonlarında azalma görülürken SOD, CAT, POD ve APX enzimlerinin aktivitelerinin arttığı görülmüştür. (Gao vd., 2018).



Abiyotik stres faktörlerinden biri olan ekstrem sıcaklıklar üzerine yapılan çalışmalarda MEL'in dışardan uygulanması sonucu olumlu sonuçlar alınmıştır. Örneğin Xu (2010), yüksek sıcaklık stresine tabi tutulmuş hıyar fidelerine dışarıdan MEL uygulamaları sonrasında bitki dokularında biriken serbest radikallerin miktarında ve doku elektrik iletkenliğinde önemli düşüşler olduğunu buna karşılık SOD, CAT ve POX gibi enzimatik ve askorbat ve glutathion gibi enzimatik olmayan antioksidanların aktivitelerinde önemli yükselişler olduğunu belirtmiştir. Yine yüksek sıcaklık stresine maruz kalmış domates bitkilerinde yürütülen bir diğer çalışmada ise domates fidelerinin yapraklarına dışardan MEL uygulayarak bitkilerin hücrelerinde sıcaklık stresi etkisi altında ısıya bağlı protein birikiminin azaldığı ortaya konmuştur (Xu vd., 2016). İçsel olarak yükselen MEL aynı zamanda dışardan da uygulandığında antioksidan etkisini göstererek bitkiyi stresten koruduğu bildirilmiştir. Martinez vd. (2018) ise dışardan MEL uygulanan domates bitkisini tuzluluk ve yüksek sıcaklık stresine maruz bırakmış ve dışardan MEL uygulanan bitki gruplarında antioksidan enzim aktivitesinin, fotosentez parametrelerinin ve büyüme ve gelişmenin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Yine *Arabidopsis* fidelerine dışarıdan yapılan 20 µM MEL uygulamasının yüksek sıcaklık stresi (45 °C, 2 saat) sonrasında hayatta kalma oranının %50'ye yükselttiğini (kontrol bitkilerinde %5) ve heat-shock (ısı şoku) protein sentezini kontrol eden *HSFs* tipi genleri uyardığı bildirilmiştir (Shi vd., 2015b).

Bu stres faktörleri dışında insan bünyesinde de kanserojen etkileri olan ve ağır metal sınıfında bulunan kadmiyum elementi üzerinde yürüttükleri çalışmalarında Tang vd. (2015), kadmiyum stresi altında yetiştirilen patlıcan bitkisinin yapraklarına 0, 25, 50, 100, 150 mol L<sup>-1</sup> konsantrasyonlarında MEL püskürterek bitkilerin fizyolojik aktivitesini incelemişler ve bitkiye uygulanan MEL konsantrasyonu arttıkça fotosentez oranının ve transpirasyon hızının arttığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada kadmiyum stresi altındaki buğday bitkilerinde MEL uygulamasının bitkinin vejetatif büyümesini arttırdığı ve bitki içinde içsel MEL miktarının arttığı bildirilmiştir (Ni vd., 2018). Yine ağır bir metal olan vanadyum elementi ile yapılan bir çalışmada karpuz bitkisinin fidelerinde oluşan strese karşı dışardan 0.1 µM MEL uygulaması sonucunda fidelerde vanadyum konsantrasyonu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği azalırken antioksidan enzim aktivitesi artmış bununla birlikte bitki büyümesi ve fotosentez aktivitesinin de arttığı bildirilmiştir (Nawaz vd., 2018).

MEL'in yaşlanma ve bozulma üzerine olan etkileri de birçok çalışmada incelenmiş ve yapılan çalışmalar sonucunda yaşlanmaya ve bozulmaya bağlı oluşan fizyolojik ve

biyokimyasal bozulmaların iyileştiği görülmüştür. Buna örnek olarak yaşlı arpa yapraklarına dışardan MEL uygulaması sonucu kontrol bitkilerine göre MEL uygulanmış yapraklarda klorofil bozulmasının ve dokulardaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ROS seviyelerinin ciddi anlamda düştüğü belirlenmiştir (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2009b). Aynı şekilde MEL'in bitkilerde hasat sonrası fizyolojik bozulmayı azaltıcı etkisini araştıran bir grup manyok bitkisinin köklerine (*Manihot esculanta*) dışardan 500 mg L<sup>-1</sup> MEL uygulamış ve köklerde hasat sonrası fizyolojik bozulma sürecinin geciktiğini, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin azaldığını buna karşılık içsel MEL miktarının ve SOD, CAT, APX ve GR enzimlerinin aktivitelerinin ise giderek arttığını bildirmişlerdir (Ma ve Ma, 2016). Bir diğer çalışmada ise erken hasat edilen domates meyvelerine dışardan yapılan 50 µM MEL uygulamasının meyvelerin olgunlaşmalarını hızlandırdığını ve MEL uygulanan domates meyvelerinde fark edilir derecede renk değişimi, olgunlaşma beraberinde yumuşama ve etilen üretimi saptamışlardır. (Sun vd., 2014). Bu çalışmalara ilave olarak hasattan sonra birçok bitkinin meyvesine yapılan MEL uygulamaları ve alınan sonuçlar Çizelge 2.4'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. MEL'in hasat sonrası ürün üzerindeki etkileri (Sharif vd., 2018)

Ürün	Stres/Durum	Konsantrasyon	İşlevsel İyileştirme
Elma	Kahverengileşme	250 mg L <sup>-1</sup>	Elma suyunun kahverengileşmesinin önlenmesi
Muz	Kalite iyileştirme	50–500 µM	Yavaşlayan olgunlaşma ve etilen üretimi, içsel MEL artışı
Brokoli	Bozulma, yaşlılık	100 µM L <sup>-1</sup>	Hasat sonrası tazeliği koruması
Şeftali	Oksidatif	0.1 mmol L <sup>-1</sup>	Azalan yaşlanma, artan antioksidan içeriği
Armut	Kalite iyileştirme	100 µM	Azalan yaşlanma süreci ve meyve sertliği kaybı
Çilek	Mantari hastalıklar, kalite iyileştirme	1000 µmol L <sup>-1</sup> 100 µmol L <sup>-1</sup>	Daha yüksek SOD ve artan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> birikimi. Azalan bozulma ve ağırlık kaybı

Bitkiler üzerinde strese yol açan bir abiyotik stres türü olan düşük sıcaklık stresine karşı da dışardan yapılan MEL uygulamaları sonucunda olumlu sonuçlar alınmıştır. Örneğin doku kültürü ortamında gelişen havuç hücrelerinin gelişimi esnasında oluşan soğuk stresine karşı dışardan hücrelere MEL uygulanmış ve uygulama yapılan hücre

kültürlerinde ciddi anlamda soğuk kaynaklı apoptozun hafiflediği görülmüş ve stres kaynaklı ortaya çıkan ROS birikiminin de azaldığı bildirilmiştir (Lei, vd. 2004). Yine 4 °C’de soğuk stresine maruz bırakılan *Arabidopsis* bitkilerine dışardan 10 µM ve 30 µM konsantrasyonunda MEL uygulamaları sonrasında MEL uygulanan bitkilerde sürgün boyu ve kök uzunluğu artarken, uygulama yapılmayan bitki grubunda büyüme ve gelişmenin gözle görülür derecede azaldığı fark edilmiştir. Böylelikle MEL’in dışardan uygulanması sonucunda soğuk stresi altındaki bitkilerde büyüme ve gelişmeyi teşvik ettiği ortaya konmuştur (Bajwa vd., 2014). Bundan yola çıkarak Türk vd., (2014) buğday bitkilerine soğuk stresi altında 12 saat boyunca 1 mM MEL uygulaması sonucunda antioksidan enzim aktivitesinin arttığını ROS miktarının ise azaldığı bildirmişlerdir. Uchendu vd. (2013) ise *Ulmus americana* L. bitkisinin sürgünlerine 0.1-0.5 µM MEL uygulayarak -196 °C’de depoladıkları çalışmada depolama sonrası büyüme koşullarına alınan MEL uygulanan sürgün uçlarının yeniden büyümeye devam ettiğini gözlemlemişlerdir. Yine patlıcan bitkilerinin köklerine topraktan yapılan 5 µM MEL uygulanmasının çiçeklenme aşamasında gerçekleşen üşüme stresine karşı toleransı arttırdığı ve erkenci hasatta ve toplam meyve veriminde önemli artışlara neden olduğu bulunmuştur (Yakupoglu, 2016).

Bermuda çiminde soğuğa hassas ve tolerant genotiplerinin kullanıldığı bir çalışmada dışardan 100 µM MEL uygulanan bitkiler 3 gün süreyle 4 °C sıcaklıkta bekletilmiş ve hem hassas hem de tolerant genotiplerde içsel MEL miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri ve fotosistem aktivitelerinin arttığı bulunmuştur (Hu vd., 2016). Aynı şekilde erken ilkbahar donlarının zararını işleyen bir grup araştırmacı soğuk stresi altında domates ve çay (*Camellia sinensis* L.) bitkilerinde yapraklara ve köklere yapılan 5, 50, 100, 150 ve 250 µM MEL uygulamaları sonrasında oksidatif zararlanmanın en az olduğu konsantrasyonun her iki bitki içinde 100 µM MEL olduğu, MEL’in PSI ve PSII’nin çalışmasını düzenlediğini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığını bildirmiştir (Yang vd., 2018; Li vd., 2018). Yine Li vd. (2017) ve Zhang vd.(2017) karpuz ve kavun fidelerinde dışardan uyguladıkları farklı konsantrasyonlardaki MEL’in soğuk stresinden kaynaklı oluşan zararlanmayı azalttığını ve bitki bünyesinde antioksidan enzim aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir.

### **2.6.5. Genetik modifikasyon yolu ile MEL içeriği yüksek genotiplerin eldesi**

Bitki biyoteknolojisinin temel amaçlarından biri de strese toleransı yüksek ve/veya besin içeriği zenginleştirilmiş ürünler elde etmektir. İnsanlarda günlük ritmi ve uykuyu

düzenlemek, antioksidan ve anti kanserojen özelliklerinden faydalanmak amacıyla yurtdışında MEL reçetesiz olarak marketlerin eczane bölümlerinde satılmakta ve geniş kitleler tarafından tüketilmektedir. İnsanlarda günlük 1 ile 300 mg MEL tüketmenin önerildiği, hatta 30 gün boyunca 1 g MEL tüketmenin herhangi bir yan etkiye neden olmadığı belirtilmiştir (Bonfont-Rousselot ve Collin, 2010). MEL'in ticari preparatlar olarak tüketilmesinden ziyade MEL içeriği yüksek bitkisel besinlerin (fonksiyonel gıda) tüketilmesi gerektiği ve bu nedenle de MEL içeriği yüksek ürünlerin ıslah edilmesinin gerekliliği son zamanlarda yapılan çalışmalarda sıkça dile getirilmektedir (Fernandez-Mar vd., 2012; Garrido vd., 2010; Arnao ve Hernández-Ruiz, 2015a). Ayrıca, genetik modifikasyon sonucu bazı bitki türlerinde yüksek miktarlarda içsel MEL üretebilen hatların elde edilebileceği ve bu bitkilerin de çeşitli stres faktörlerine karşı tolerans göstermede çok daha başarılı oldukları son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Örneğin doku kültüründe kimyasal mutajen uygulamaları sonucu seçilen bir sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) hattının diğer genotiplerle kıyaslandığında 12 kat daha fazla MEL içerdiği ve bu hattın insanlarda birçok hastalığın tedavisinde zengin bir MEL ya da antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (Murch ve Saxena, 2006). Zhang vd. (2012) AANAT ve HIOMT enzimlerini sentezleyen transgenik tütün (*Nicotiana glauca*) bitkilerini geliştirmişler ve transgenik bitkilerin transgenik olmayan bitkilere kıyasla UV-B radyasyonuna duyarlılığını tahmin etmek için izole edilmiş protoplastları kullanmışlardır. Buna göre transgenik hatlarda MEL sentezi artarken transgenik olmayan hatlarda MEL sentezi düşük bulunmuştur. Aynı zamanda yüksek MEL içeriğinin transgenik hatları DNA düzeyinde UV-B radyasyonuna karşı koruduğu ortaya atılmıştır.

Enzim sentezi yönünden yapılan çalışmalarda ise MEL biyosentezinde önemli bir rolü olan AANAT enzimini yüksek miktarlarda üreten transgenik domates bitkilerinin yapraklarında MEL içeriğinin transgenik olmayan bitkilere kıyasla 7 kat daha fazla olduğu bildirilmiş buna karşın bitkiler arasında herhangi bir fenotipik farklılık olmadığı gözlemlenmiştir (Okazaki vd., 2009). Aynı şekilde MEL sentezinde görevli son iki enzim olan AANAT ve HIOMT enzimlerini aşırı üreten transgenik domates bitkilerinin yaklaşık 5 kat daha fazla MEL ürettikleri ve dolayısıyla da kuraklık stresine karşı toleranslarının kontrol bitkilerine kıyasla çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Wang vd., 2014). Cai vd. (2017), domates bitkilerine aktarılmış *HsfA1a* geninin etkisiyle artan içsel MEL'in kadmiyum stresine karşı toleransı büyük ölçüde arttırdığını ve klorofil konsantrasyonunda ciddi artışlar meydana geldiğini bildirmişlerdir.

MEL sentezinde görev alan bir gen olan ve domateslerden izole edilen *SICOMT1*'in domates (*Solanum lycopersicum* Mill. Cv. *Ailsa Craig*) bitkilerine aşırı yüklenmesiyle oluşan transgenik hatlarının 800 mM'lık tuz stresine karşı transgenik olmayan domateslere göre daha toleranslı olduğu ve transgenik hatlarda MEL içeriğinin arttığı görülmüştür. Transgenik hatlarda prolin seviyesi artarken hidrojen peroksit ve süperoksit radikali türevlerinin azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak, *SICOMT1*'in MEL üretimi ile yakından ilgili olduğu ve bitkilerin abiyotik strese karşı direncinin iyileştirilmesinde etkili olduğu görülmektedir (Liu vd., 2019). Aynı şekilde *COMT1* geni transfer edilen domates bitkilerinin yapraklarında yüklenen genin susturulması ile birlikte içsel MEL içeriğinin düştüğü ve bitkide yüksek sıcaklık stresine karşı direncin düştüğü gözlemlenmiştir (Ahammed vd., 2019).

Domates haricinde yapılan çalışmalara bakıldığında *Arabidopsis* bitkilerine dışardan *MzASMT1* ve *TaCOMT* genlerini transfer eden iki grup araştırmacı, ürettikleri transgenik hatlarda bitkilerin yetiştirme ortamında oluşturulan kuraklık stresine karşı transgenik hatların transgenik olmayanlara göre daha tolerant olduğunu ve içsel MEL içeriğinin arttığını ve daha yüksek prolin ve düşük MDA içeriğine sahip olduklarını bildirmişlerdir (Zuo vd., 2014; Yang vd., 2019). Bunun dışında çeltik bitkisinde transgenik hatlar elde edilmesi üzerine yapılan çalışmalarda triptofan dekarboksilaz (*TDC*) genleri üzerinde araştırmalar yapılmış ve *TDC3* geninin tohumlara overekspresyonu sonucu (aşırı yüklenme) MEL içeriğinin kontrol tohumlarına (wild-type) göre 31 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Buna göre tohumlarda aşırı MEL birikimi *TDC3* transgenik hattına özel olduğu düşünülmüştür. Aynı zamanda bu tohumların yüksek MEL içeriğine ek olarak, 5-hidroksitriptofan, triptamin, SER ve N-asetilseratonin miktarlarının da arttığı tespit edilmiştir (Byeon vd., 2014; Kang vd., 2007). Yine Kang vd., (2010) aşırı miktarlarda SNAT enzimi üretebilen transgenik çeltik hatlarının 8 kat daha fazla MEL içerdiği ve 12 °C'de 8 gün süren üşüme stresi sonrasında transgenik hatların kontrol bitkilerine kıyasla yaklaşık 2.5 kat daha fazla klorofil içerdiğini ve bunun da üşüme stresine karşı toleransı arttırdığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde yedi günlük çeltik bitkilerinin 1 saat süre ile aydınlık ve karanlık fazda olmak üzere farklı sıcaklık koşullarına (25 °C, 35 °C, 45 °C, 55 °C) maruz bırakıldığı farklı bir çalışmada bitki içerisindeki MEL miktarının artan sıcaklık değerleri ile arttığı, aydınlık fazda 25 °C'de 2.95 ng g<sup>-1</sup> olan MEL içeriğinin artarak karanlık fazda 55 °C'de 4.9 ng g<sup>-1</sup>'a kadar yükseldiği bildirilmektedir. Aynı zamanda artan sıcaklık değerleri ile beraber MEL biyosentez yolunun son iki enzimi olan SNAT ve ASMT'nin de arttığı bildirilmiştir (Byeon ve Back, 2014). Son olarak Park vd. (2013)

genetik modifikasyon yoluyla yüksek miktarlarda TDC enzimi üretebilen eltik hatlarının herbisit stresi sonrası kontrol bitkilerine kıyasla yaklaşık 20 kat daha fazla MEL ürettiğini, antioksidan enzimlerin aktivitelerinin teşvik edildiğini buna karşılık dokularda üretilen serbest radikal miktarında ciddi düşüşler olduğunu bildirmişlerdir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu araştırma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Sebze ve Tohum Fizyolojisi Laboratuvarı'nda 2018 yılı Ocak - Haziran ayları arasında yürütülmüştür.

Araştırmada materyal olarak ticari firmalardan temin edilmiş sivri tipte açık tozlanan 27 adet biber genotipi kullanılmıştır. Biber genotiplerinin tohumlarının tamamı 2017 yılı üretimi olup (*Capsicum annuum* L.) türüne aittir. Araştırmada materyal olarak kullanılan biber genotiplerine ait bilgiler Çizelge 3.1'de sunulmuştur.



Çizelge 3.1. Araştırmada materyal olarak kullanılan biber genotiplerine ait bilgiler

Çeşit No	Çeşit İsmi	Menşei-Firma
1	Sivri Kıl Tatlı-016	Bursa Tohumculuk
2	*Çetinel-1	İntfa Tohum
3	*Tatlı Kıl Menderes-1	Argeto Tohumculuk
4	*Çetinel-2	Teta Tohum
5	Çorlu	Bursa Tohumculuk
6	Tatlı Sivri Çetinel	Mitofarm Tohumculuk
7	*Şahnalı -1	Balıkesir Tohum
8	Acıyol	Argeto Tohumculuk
9	Çorbacı	Getar Tohumculuk
10	Menderes Kıl Acı	Zenitt Tohumculuk
11	Kıl Tatlı	Getar Tohumculuk
12	Yalova Çorbacı 12	Asgen Tohum
13	Burkalem	Bursa Tohumculuk
14	Volkan Acı Kıl	İstanbul Tohumculuk
15	*Sera Demre 8-1	Küçük Çiftlik Tohumculuk
16	Seyrek Tatlı Kıl	Arzuman Tohum
17	Sivri Kıl Acı-016	Bursa Tohumculuk
18	Demok	Bursa Tohumculuk
19	*Tatlı Kıl Menderes-2	Mitofarm Tohumculuk
20	Ege Acı Sivri	Arzuman Tohum
21	Yalova Çarliston 341	Mitofarm Tohumculuk
22	Yalova Çorbacı	Bursa Tohumculuk
23	Ilıca- 256	Bursa Tohumculuk
24	*Sera Demre 8-2	Mitofarm Tohumculuk
25	Şahnalı-2	Altın Tohum
26	Çorbacı 12	Arzuman Tohum
27	Askıl	Asgen Tohum

\*Bulgular kısmında marka verilemeyeceğinden aynı isimde olan çeşitler numaralandırılmıştır. Verilen numaraların çeşidin ismi ile ilgisi yoktur.



## **3.2. Yöntem**

Bu çalışmada 27 farklı biber genotipinin tohumlarının içsel MEL içeriği belirlenerek tohum MEL içeriklerinin üşüme stresi koşulları altında (15 °C) çimlenme ve fidelerin çıkış performansları arasındaki ilişkinin varlığı araştırılmıştır. Bu ilişkiyi ortaya çıkarmak için aşağıda verilen ölçüm ve analizler yapılmıştır.

### **3.2.1. Tohumlarda yapılan testler ve biyokimyasal analizler**

#### **3.2.1.1. MEL içeriğinin belirlenmesi**

Tohumların MEL içeriği Korkmaz vd. (2014)'de belirtilen ekstraksiyon ve analiz yöntemleri takip edilerek belirlenmiştir. Tüm ekstraksiyon ve analiz işlemleri MEL'in ışığa olan duyarlılığı nedeniyle loş ışık altında yapılmıştır.

##### **3.2.1.1.1. Ekstraksiyon**

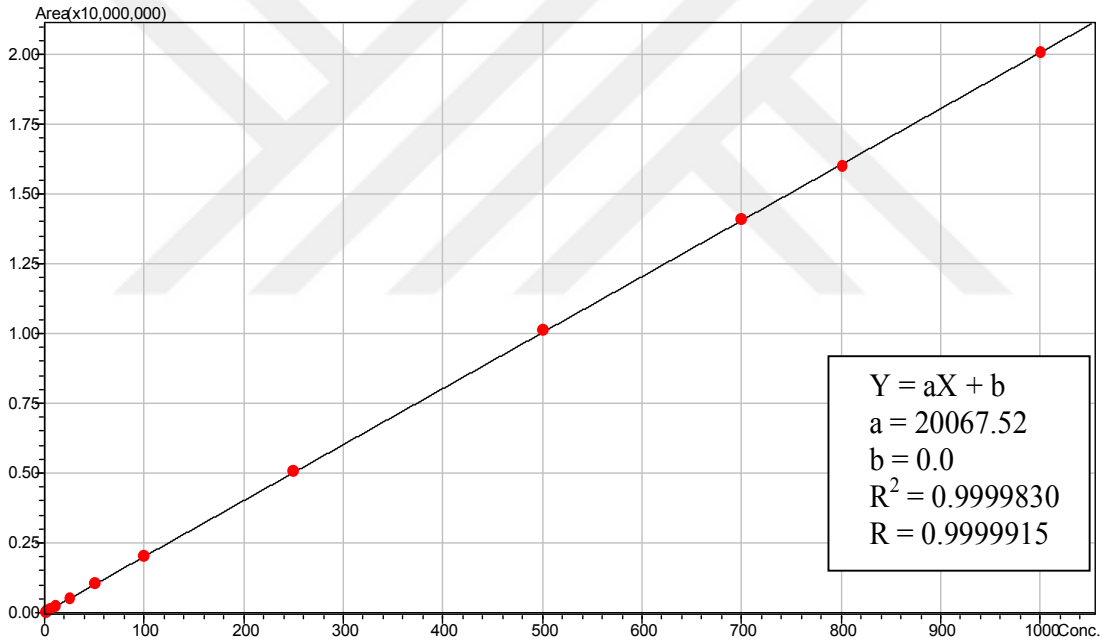
Tohumların MEL içeriklerinin belirlenmesi amacıyla 0.25 g tohum örneği porselen havan içerisinde sıvı azot ile ezildikten sonra 3 mL kloroform eklenerek bir cam tüp içerisinde karanlıkta ve 4 °C'de 150 rpm çalkalayıcı üzerinde 17 saat süre ile bekletilmiştir. Daha sonra 1 saat -20 °C'de bekletildikten sonra 4 °C'de 6000 g'de 20 dk süre ile santrifüj edilen örneklerden bir mikro pipet yardımıyla çekilen süpernatant, konsantratör tüplerine aktarılmış ve tüpün dibindeki kalıntı 0.5 mL kloroform ile yıkanarak konsantratör tüpüne eklenmiştir. Tüpler, vakumlu konsantratörde (Labconco, Centrivap model, Kansas City MO, USA) 35 °C sıcaklıkta yaklaşık 1-2 saat süre tutularak kloroform uçurulmuştur. Tüplerin diplerinde biriken tortu 0.5 mL metanolde çözüldükten sonra bir şırınga yardımıyla 0.45 µm çaplı filtreden geçirilerek amber renkli viyallere süzölmüş ve MEL analizi HPLC cihazı kullanarak yapılmıştır.

##### **3.2.1.1.2. HPLC'de MEL analizi**

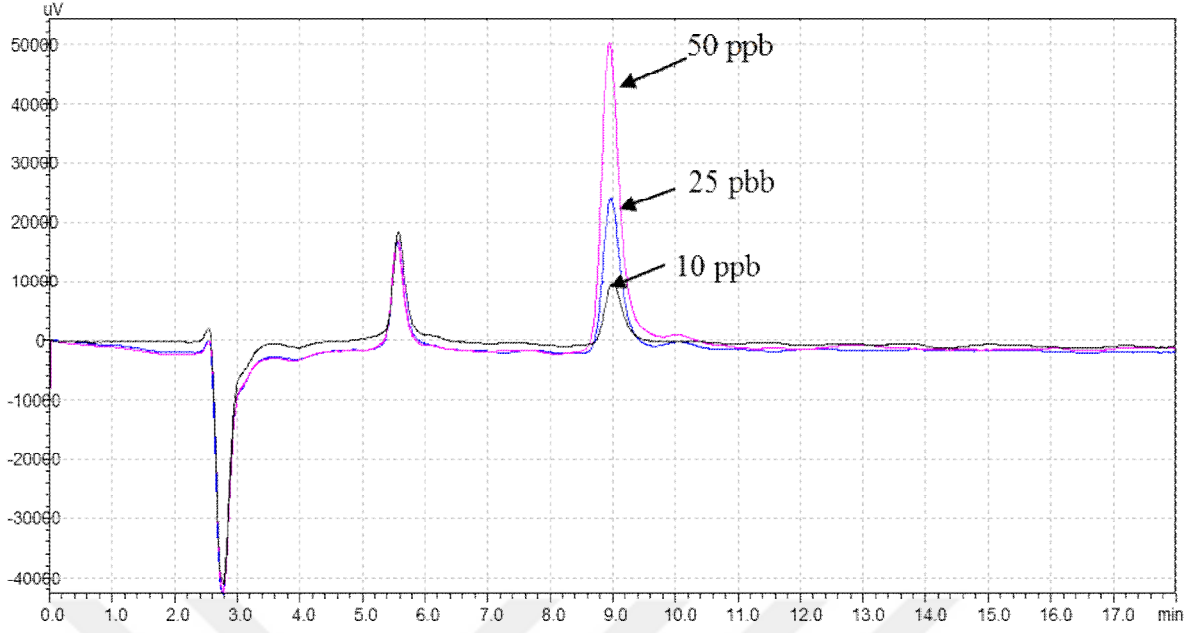
MEL analizinde floresan dedektörlü Shimadzu marka (Prominence UFLC model) HPLC cihazı ile ODS2 (150 mm x 4.6 mm) kolonu kullanılmış ve kolon fırın sıcaklığı 35 °C olarak ayarlanmıştır. Cihazın akış hızı 0.6 mL dk<sup>-1</sup> olarak ayarlanmış ve analiz sırasında 40:60 oranında metanol ve 0.1 mM sodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) tamponundan (pH: 4.5) oluşan mobil faz kullanılmıştır. Okumalar 280 nm çıkış (excitation) dalga boyunda ve 350 nm yayılma (emmission) dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen piklerin altındaki alan dikkate alınarak örneğin MEL içeriği (ng g taze ağırlık<sup>-1</sup>) LC solutions

yazılımı kullanılarak aşağıda belirlenen şekilde oluşturulan standart eğri yardımıyla  $\text{ng g}^{-1}$  olarak ( $1 \text{ ppb} = 1 \text{ ng g}^{-1}$ ) hesaplanmıştır.

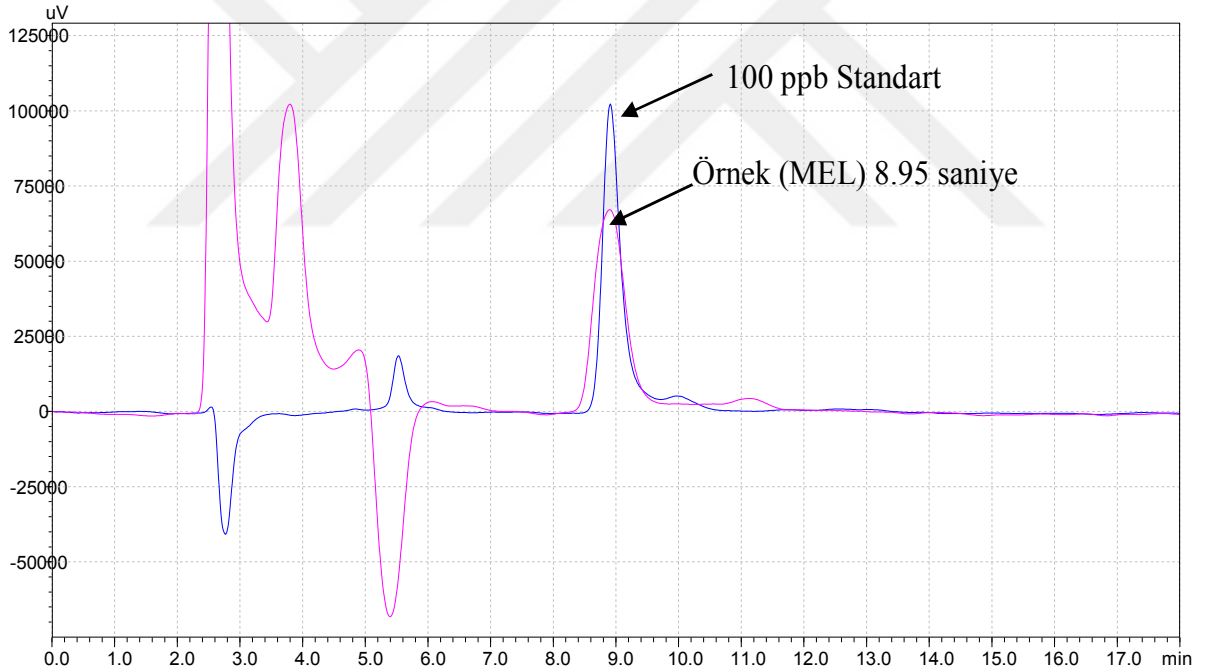
Tohumlarda bulunan MEL miktarını hesaplayabilmek için oluşturulan standart eğride kullanılmak üzere saf MEL (Sigma-Aldrich) kullanarak 1000 ppm yoğunluğunda ana stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlamak için 10 mg MEL önce birkaç damla saf etanolde çözülmüş ve daha sonra çözelti hacmi saf su eklenerek 10 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen ana stok çözeltiden seyreltmeler yapılarak 12 farklı konsantrasyonda (1, 3, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 700, 800 ve 1000 ppb) iki tekerrürlü MEL standart çözeltileri hazırlanarak Şekil 3.1.'de görülen standart eğri ve denklemi oluşturulmuştur. Standartların okunması sırasında analiz koşulları ile örnek okumalarında belirtilen koşullar aynıdır. MEL, 0.6 mL  $\text{dk}^{-1}$  akış hızında 8.95 saniyede (retention time) pik vermiştir. (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3)



Şekil 3.1. MEL standart eğrisi ve denklemi



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonda (10, 25 ve 50 ppb) MEL standart kromotogramı



Şekil 3.3. Gerçek örnek ve standart kromotogramı

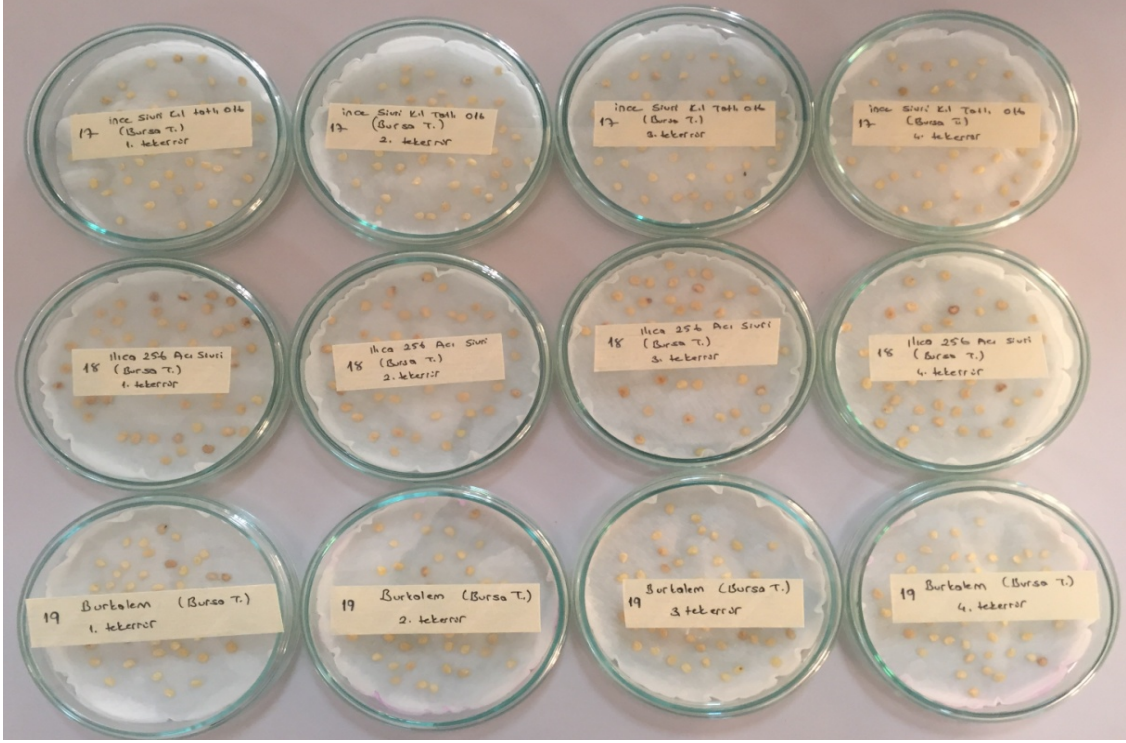
### 3.2.1.2. Çimlenme testi

Çimlenme testi tesadüf parselleri deneme desenine göre, 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 50 tohum olacak şekilde 10 cm çapında çift kat kurutma kâğıdı içeren petri kaplarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). Petri kaplarına yeterli miktarda saf su ilave edilmiş ve petriler, biberin çimlenme için gerekli uygun sıcaklık olan 25 °C ve çimlenmenin gerçekleşeceği en düşük sıcaklık (Lorenz ve Maynard, 1988) olan 15 °C'de

(üşüme stresi) karanlıkta iklim dolabına yerleştirilmiştir. Çimlenme testi 25 °C’de 14 gün, 15 °C’de ise 28 gün sürmüştür. Kökçüğün görülmesi (2 mm) çimlenme için yeterli sayılarak her gün çimlenen tohum sayısı belirlenmiş ve bu işlem çimlenen tohum sayısı sabit hale gelene kadar devam etmiştir. Çimlenme esnasında mantar bulaşmasını engellemek için petri kaplarına %0.5 oranında 1 damla Captan çözeltisi ilave edilmiştir.

Çimlenme testleri sonrasında Çimlenme Analizi 1.0 yazılımı kullanılarak aşağıdaki parametreler hesaplanmıştır.

- Çimlenme yüzdesi (ÇY, %)
- Ortalama çimlenme hızı (MGT)
- Çimlenme üniformitesi ( $G_{10-90}$ ): %10 çıkış ile %90 çıkış arasındaki süre (gün)



Şekil 3.4. Çimlendirme esnasında tohumların petrilerdeki görüntüsü

### 3.2.1.3. Kökçük ölçümü

Üşüme stresi koşulları altında (15 °C) çimlenen tohumların kökçüklerindeki vegetatif gelişmeyi belirlemek için çimlenen tohumlar petri kabının bir tarafında biriktirilmiştir. Her tekrardan rastgele seçilen 5 adet çimlenmiş tohumun kökçüğü dijital kumpas yardımı ile ölçülüp kaydedilmiştir.

#### 3.2.1.4. Membran sızıntı (EC) testi

Tohumlarda bulunan membranların yapısal bütünlüğünü ölçmek amacıyla yapılmış olan bu test için her bir çeşide ait 50 tohum 4 tekerrürlü olarak tartıldıktan sonra 50 mL saf su içeren erlenlere konulmuş ve erlenler 25 °C’de karanlıkta 24 saat tutulmuştur (Vidigal vd., 2011). Sürenin sonunda tohumlar süzülerek uzaklaştırılmış ve suyun elektriksel iletkenliği (EC) Hanna-215 model iletkenlik ölçer ile okunmuştur. Ayrıca, kullanılan saf suyun da elektriksel iletkenlik değeri okunmuş ve tohumların EC değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$EC (\mu S \text{ cm}^{-1} \text{ g}^{-1}) = (\text{tohumların elektriksel iletkenliği (EC}_2) - \text{saf suyun elektriksel iletkenliği (EC}_1)) / 50 \text{ tohum ağırlığı}$$

#### 3.2.2. Fide çıkış testi ve fidede yapılan biyokimyasal analizler

Düşük sıcaklıkta (15 °C) fide çıkış testi için her genotipe ait tohumlar tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 40 tohum olacak şekilde içlerinde 3:1 oranında torf-perlit karışımı bulunan 20x10x3 cm ebatlarındaki plastik kaplara yaklaşık 2 cm derinliğe ekilmişlerdir. Kaplar, 15 °C iklim dolaplarına yerleştirilmiş ve 14 saat gün<sup>-1</sup> süre ile ışıklandırma (ışık şiddeti= 120  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) yapılmıştır. Fide hipokotil yayının toprak yüzeyinde görünmesi fide çıkışı olarak kabul edilmiş ve her gün toprak yüzeyine çıkan fideler sayılarak kaydedilmiş ve toplam sayı belirlenmiştir. Sayım işlemi çıkan fide sayısı sabit hale gelene kadar devam etmiş ve çıkış testi 38 günde sonuçlanmıştır. Testin sonuçlanmasını takiben fidecikler toprak üzerinden kesilerek tartılarak yaş ağırlıkları (g) belirlenmiş ve analizler için paketlenerek -80 °C’de muhafaza altına alınmıştır. Günlük yapılan sayımlardan Çimlenme Analizi 1.0 yazılımı kullanılarak aşağıdaki parametreler hesaplanmıştır.

- Toplam çıkış oranı (Çıkış, %)
- Ortalama çıkış hızı (MET)
- Çıkış üniformitesi (E<sub>10-90</sub>): %10 çıkış ile %90 çıkış arasındaki süre (gün)

##### 3.2.2.1. Malondialdehid (MDA) içeriği

Stres sırasında bitki dokularında serbest radikallerin gerçekleştirdiği hasar sonucu oluşan bir bozulma ürünü olan MDA içeriği Zhang vd. (2005)’de verilen metoda göre belirlenmiştir. Bunun için 0.25 g yaprak örneği (her uygulamanın her bir tekerrüründen) sıvı azot ile ezilerek üzerine 5 mL %0.1’lik TCA ilave edilerek homojenize edilmiş ve bu karışım 25 °C’de 6000 g’de 5 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanttan 1

mL alınarak içinde %20 TCA bulunan %0.6'lik tiobarbütirik asit (TBA)'den 4 mL ilave edilmiş ve sonrasında 100 °C'de 30 dk su banyosunda kaynatıldıktan sonra -20 °C'de buz banyosunda 10 dk bekletilmiştir. Daha sonra örnek, 5 dk boyunca 6000 g'de santrifüj edilmiş ve oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Oda sıcaklığına gelen karışımdan alınan örneğin absorbanı spektrofotometrede (Optima SP3000, Tokyo, Japonya) 450, 532 ve 600 nM'lerde okunmuştur. Okuma işlemi esnasında kör numune olarak santrifüj işleminden sonra süpernant yerine 1 mL saf su konmuş ve diğer işlemler aynı şekilde tekrarlanarak elde edilen karışım kullanılmıştır. Örneklerin MDA verileri aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{MDA (nmol g}^{-1} \text{ TA)} = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$$

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

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bitki bünyesinde yine stres sonucu oluşan bir serbest radikal türevidir ve dokuH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği Özden vd. (2009)'da belirtilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için 0.25 g taze yaprak örneği (her genotipin her bir tekerrüründen alınmış) 3 mL %1'lik TCA içerisinde buz üzerinde havanda ezilerek homojenize edildikten sonra 2 mL'lik kapaklı eppendorf tüplere konulmuş ve 4 °C'de 10 dk 10.000 g'de santrifüj edilmiştir. Sonrasında örneklerden alınan 0.75 mL supernatant, bir test tüpü içerisinde 0.75 mL 10 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi (K-P buffer, pH: 7.0) ve 1.5 mL 1 M KI (potasyum iyodür) ile karıştırılmış ve 30 sn boyunca vortekste karıştırılmıştır. Daha sonra karışımın absorbanı spektrofotometrede 390 nM'de okunmuştur. Okumada kör numune için saf su kullanılmıştır. Değişik yoğunlukta (1- 1000 nmol aralığında) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren çözeltilerin yardımı ile standart eğri oluşturulmuş ve örneklerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği oluşturulan denklem yardımı ile hesaplanmıştır.

### 3.2.2.3. Antioksidan enzim aktiviteleri

Stres sonucu oluşan serbest radikal moleküllerini etkisiz hale getirmede görev yapan antioksidan enzimler katalaz (CAT) ve peroksidaz (POX) aktivitelerini belirlemek için tesadüfi olarak seçilen her bir genotipe ait bitkilerden 0.25 g yaprak örneği alınmıştır. Bitki örnekleri buz üzerindeki porselen havan içerisinde 0.75 mL 50 mM Trisma Base, 0.1 mM EDTA (ethylene diamine tetraasetik asit), 1 mM PMSF (phenylmethanesulfonyl fluoride) ve 2 mM DTT (dithiothreitol) karışımı ile ekstrakte edilmiş ve sonrasında 4 °C'de 14.000 g'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Toplam protein içeriği tayini için Bradford (1976)'da belirtilen yöntem kullanılmıştır.

#### **3.2.2.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesi**

Bergmeyer (1970)'e göre spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda maximum absorsiyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarındaki azalmaya göre okuma yapılmıştır. Okumalar esnasında 1 mM EDTA içeren 0.5 M sodyum fosfat tampon çözeltisi (Na-P buffer, pH: 7.0) içeren reaksiyon karışımı ve %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmıştır. CAT aktivitesini belirlemek için her 10 saniyede bir toplam 3 dk boyunca parçalanmış  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 'in belirlenmesi amacıyla ölçüm alınmıştır. Kör numunede örnek yerine saf su kullanılmıştır.

#### **3.2.2.5. Peroksidaz (POX) enzim aktivitesi**

Herzog ve Fahimi (1973)'e göre 465 nm dalga boyunda maximum absorsiyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarındaki azalmaya göre okuma yapılmıştır. Okumalar esnasında 3.3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate (DAB) ile okside olmuş 0.15 M sodyum fosfat (NA-P) buffer (pH: 7) içeren reaksiyon karışımı ve %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmıştır. Peroksidaz aktivitesini tayin etmek için her 5 saniyede bir toplam 3 dk boyunca  $\mu\text{mol mL}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yıkım ölçümü alınmıştır.

### **3.3. Sonuçların değerlendirilmesi**

Çalışmada elde edilen veriler SAS istatistik paket programı kullanarak tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve genotipler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde LSD (asgari önemli fark) testi kullanılmıştır. Ayrıca tohum MEL içeriği ile tohum çimlenme ve fide çıkış yüzdeleri arasındaki ilişkileri ortaya çıkarmak amacıyla korelasyon ve regresyon analizleri yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Tohumlarda yapılan testler ve biyokimyasal analizler

#### 4.1.1. Tohumların MEL içeriği

Araştırmada kullanılan 27 adet biber genotipinin tohumlarının MEL içerikleri izelge 4.1’de sunulmuştur. Çizelgede görüldüğü üzere biber genotiplerinin MEL içerikleri açısından aralarında büyük bir varyasyon olduğu görülmüş ve genotiplerin MEL içerikleri 0.64 ng g<sup>-1</sup> (Askıl) ile 5.03 ng g<sup>-1</sup> (Sivri Kıl Tatlı-016) arasında değişmiştir. Sonuçlar detaylı incelendiğinde araştırmaya konu olan 27 biber genotipinden 1 tanesinin 5 ng g<sup>-1</sup>, bir tanesinin 4-5 ng g<sup>-1</sup> aralığında, 7 tanesinin 3-4 ng g<sup>-1</sup> aralığında, 8 tanesinin 2-3 ng g<sup>-1</sup> aralığında, 5 tanesinin 1-2 ng g<sup>-1</sup> aralığında ve kalan 5 adetinin de 1 ng g<sup>-1</sup>’den daha düşük MEL içeriğine sahip oldukları grlmştir.



Çizelge 4.1. Biber genotiplerinin tohumlarının MEL içerikleri

Çeşit İsmi	MEL (ng g <sup>-1</sup> )
Sivri Kıl Tatl-016	5.03 a
Çetinel-1	4.73 ab
Tatlı Kıl Menderes-1	3.88 bc
Çetinel-2	3.60 cd
Çorlu	3.20 cde
Tatlı Sivri Çetinel	3.19 cde
Şahnalı-1	3.05 c-f
Acıyol	3.04 c-f
Çorbacı	3.00 c-f
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f
Kıl Tatl	2.91 def
Yalova Çorbacı 12	2.83 def
Burkalem	2.25 efg
Volkan Acı Kıl	2.24 efg
Sera Demre 8-1	2.21 fgh
Seyrek Tatlı Kıl	2.13 f-ı
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı
Demok	1.83 f-ı
Tatlı Kıl Menderes-2	1.65 h-k
Ege Acı Sivri	1.26 h-l
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l
Yalova Çorbacı	1.07 jkl
Ilca- 256	0.95 jkl
Sera Demre 8-2	0.85 kl
Şahnalı-2	0.82 kl
Çorbacı 12	0.71 kl
Askıl	0.64 l

#### 4.1.2. Çimlenme testi

Araştırmaya konu olan 27 biber genotipinin tohumlarının optimum koşullarda gerçekleştirilen çimlenme testi sonucunda toplam çimlenme yüzdesi, ortalama çimlenme süresi (MGT) ve çimlenme üniformitesine ait sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde 25 adet genotipin %70 ve üzeri çimlenme gösterdiği sadece 2 genotipin ise %70’in altında çimlenme yüzdesine sahip olduğu görülmüştür. En yüksek çimlenme yüzdesine sahip genotipler olan Çetinel-2 ve Çorlu genotiplerinin tohumlarının MEL içeriğinin 3-4 ng g<sup>-1</sup> arasında olduğu, Çorbacı 12 genotipinin ise 1 ng g<sup>-1</sup>’den az MEL’e sahip olduğu görülmüştür. Buna karşılık en düşük çimlenme yüzdesine sahip olan genotipler olan Yalova Çarliston 341’in 1-2 ng g<sup>-1</sup>, Acıyol’un ise 3-4 ng g<sup>-1</sup> arasında MEL içerdiği belirlenmiştir.

Ortalama çimlenme süresi ve çimlenme üniformitesi değerlerinin küçüklüğü tohumların hızlı ve üniform yani çimlenme başlangıcı ile bitişi arasında geçen sürenin az olduğu bir çimlenme seyrine sahip olduklarını göstermektedir. Çizelge 4.2’deki sonuçlar incelendiğinde tohumların ortalama çimlenme süresi değerlerinin 4.97 gün ile 10.21 gün arasında, çimlenme üniformitesi sonuçlarının ise 2.38 gün ile 5.99 gün arasında değiştiği görülmüştür. En yüksek çimlenme hızına (en küçük MGT) sahip olan Çorlu, Şahnalı-1 ve Tatlı Kıl Menderes-2 genotiplerinin 1.65-3.20 ng g<sup>-1</sup> arasında bir MEL içeriğine sahip olduğu buna karşılık en yavaş çimlenen (en yüksek MGT) genotip olan Yalova Çarliston 341’in ise 1.22 ng g<sup>-1</sup> MEL içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Çimlenme üniformitesi açısından değerlendirildiğinde ise en üniform çimlenme gösteren Çorlu genotipinin 3-4 ng g<sup>-1</sup> MEL içeriğine sahip olduğu, en az üniform çimlenme değerine sahip olan Sivri Kıl Tatlı -016 genotipinin ise 27 genotip arasında en yüksek MEL içeriğine sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Optimum (25 °C) koşullarda çimlenme testi sonuçları

Çeşit İsmi	*MEL (ng g <sup>-1</sup> )	Çimlenme (%)	MGT (gün)	G <sub>10-90</sub> (gün)
Sivri Kıl Tath-016	5.03 a	88.50 a-d	6.28 k-n	<u>5.99</u> a
Çetinel-1	4.73 ab	80.00 b-f	7.72 def	4.78 a-d
Tatlı Kıl Menderes-1	3.88 bc	86.00 a-e	7.46 fgh	3.75 c-g
Çetinel-2	3.60 cd	<b>93.00</b> a	5.64 nop	3.64 c-g
Çorlu	3.20 cde	<b>94.00</b> a	<b>4.97</b> p	<b>2.38</b> g
Tatlı Sivri Çetinel	3.19 cde	88.00 a-d	5.36 op	3.52 c-g
Şahnalı-1	3.05 c-f	91.50 ab	<b>5.03</b> p	5.78 ab
Acıyol	3.04 c-f	<u>63.50</u> hg	9.35 b	3.68 c-g
Çorbacı	3.00 c-f	89.50 a-d	7.08 f-j	2.78 fg
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f	75.50 efg	5.11 p	3.50 c-g
Kıl Tathı	2.91 def	85.50 a-e	6.05 mn	4.57 a-e
Yalova Çorbacı 12	2.83 def	88.50 a-d	6.90 h-k	3.76 c-g
Burkalem	2.25 efg	82.50 a-e	6.62 j-m	3.77 c-g
Volkan Acı Kıl	2.24 efg	85.00 a-e	5.99 mno	5.05 abc
Sera Demre 8-1	2.21 fgh	86.50 a-e	6.78 i-l	3.53 c-g
Seyrek Tatlı Kıl	2.13 f-ı	85.50 a-e	6.12 lmn	4.72 a-d
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı	91.00 abc	8.32 cd	4.15 c-f
Demok	1.83 f-ı	70.00 fg	7.35 f-ı	3.39 d-g
Tatlı Kıl Menderes-2	1.65 h-k	80.50 b-f	<b>5.04</b> p	3.86 c-g
Ege Acı Sivri	1.26 h-l	78.00 def	7.41 f-ı	4.19 c-f
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l	<u>53.00</u> h	<u>10.21</u> a	4.33 b-f
Yalova Çorbacı	1.07 jkl	85.50 a-e	7.57 bc	3.15 efg
Ilıca- 256	0.95 jkl	79.00 c-f	8.70 bc	4.48 a-e
Sera Demre 8-2	0.85 kl	83.00 a-e	8.15 cde	3.08 efg
Şahnalı-2	0.82 kl	86.00 a-e	8.56 c	4.18 c-f
Çorbacı 12	0.71 kl	<b>94.00</b> a	6.83 h-k	3.14 efg
Askıl	0.64 l	86.00 a-e	8.31 cd	3.64 c-g

\*Verilerin karşılaştırılmasının kolaylığı amacıyla MEL içeriği tekrar verilmiştir. En yüksek değerler **kalı**n, en düşük değerler ise **altı** çizili olarak yazılmıştır.

Araştırmada materyal olarak kullanılan biber çeşitlerinin tohumlarının üşüme stresi (15 °C) koşullarında gerçekleştirilen çimlenme testi sonucunda toplam çimlenme yüzdesi,

ortalama çimlenme süresi (MGT), çimlenme üniformites ve kökçük uzunluğuna ait sonuçlar Çizelge 4.3'de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde 15 °C'de yürütülen çimlenme testi sonucunda 11 adet çeşidin %70 ve üzeri çimlenme gösterdiği, 7 çeşidin çimlenme yüzdesinin %50 ve %70 arasında olduğu ve geriye kalan 9 çeşidin ise %50'nin altında çimlenme yüzdesine sahip olduğu görülmektedir. En yüksek çimlenme yüzdesine sahip genotipler olan Çorlu ve Sivri Kıl Acı-016 genotiplerinin MEL içeriklerinin  $2.2 \text{ ng g}^{-1}$  -  $3.2 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değişirken geriye kalan genotiplerden %70-90 aralığında çimlenme yüzdesine sahip olan genotiplerin MEL içeriğinin  $0.71 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $5.03 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değiştiği görülmüştür. En düşük çimlenme yüzdesine sahip olan genotipler olan Yalova Çarliston 341, Askıl, Sera Demre 8-2 ve Demok genotiplerinin MEL içeriklerinin ise  $0.64 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $1.83 \text{ ng g}^{-1}$  arasında olduğu görülmektedir.



Çizelge 4.3. Üşüme stresi (15 °C) koşullarında çimlenme testi sonuçları

Çeşit İsmi	*MEL (ng g <sup>-1</sup> )	Çimlenme (%)	MGT (gün)	G <sub>10-90</sub> (gün)	Kökçük (mm)
Sivri Kıl Tath-016	5.03 a	76.00 a-e	21.16 g	8.89 c-f	9.52 def
Çetinel-1	4.73 ab	62.50 efg	22.78 f	6.85 c-g	8.35 efg
Tatlı Kıl Menderes-1	3.88 bc	44.75 hı	25.83 bc	4.78 fg	4.41 ı-l
Çetinel-2	3.60 cd	88.00 abc	<b>19.47 hij</b>	5.93 d-g	9.07 def
Çorlu	3.20 cde	<b>92.50 a</b>	<b>18.41 ijk</b>	6.65 c-g	11.08 bcd
Tatlı Sivri Çetinel	3.19 cde	88.50 abc	<b>17.40 k</b>	4.89 fg	<b>12.98 ab</b>
Şahnalı-1	3.05 c-f	81.00 a-d	<b>15.52 l</b>	<u>23.12 a</u>	10.61 cd
Acıyol	3.04 c-f	46.00 ghı	24.33 cde	5.91 d-g	4.95 ij
Çorbacı	3.00 c-f	50.50 f-ı	24.49 cde	5.19 efg	3.88 jkl
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f	53.00 f-ı	23.44 ef	11.76 bc	6.42 ghı
Kıl Tathı	2.91 def	76.50 a-e	20.35 gh	10.34 b-e	11.88 abc
Yalova Çorbacı 12	2.83 def	65.50 def	23.81 def	6.44 d-g	6.36 ghı
Burkalem	2.25 efg	61.50 e-h	23.61 ef	4.88 fg	5.61 ij
Volkan Acı Kıl	2.24 efg	81.00 a-d	18.03 jk	10.40 b-e	<b>13.54 a</b>
Sera Demre 8-1	2.21 fgh	64.50 def	23.06 ef	6.37 d-g	5.29 ij
Seyrek Tatlı Kıl	2.13 f-ı	85.50 abc	20.59 gh	10.25 b-e	10.36 cde
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı	<b>90.50 ab</b>	19.80 ghı	10.46 bcd	10.63 cd
Demok	1.83 f-ı	<u>13.00 j</u>	24.56 cde	10.64 bcd	2.55 klm
Tatlı Kıl Menderes-2	1.65 h-k	72.50 cde	19.59 hı	9.42 b-f	12.46 abc
Ege Acı Sivri	1.26 h-l	65.00 def	23.48 ef	5.54 d-g	5.69 hij
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l	<u>4.50 j</u>	<u>26.92 ab</u>	2.88 g	<u>0.8 m</u>
Yalova Çorbacı	1.07 jkl	46.00 ghı	25.69 bc	4.88 fg	4.93 ij
Ilıca- 256	0.95 jkl	43.50 ı	23.13 ef	14.50 b	4.58 ijk
Sera Demre 8-2	0.85 kl	<u>12.00 j</u>	<u>26.97 ab</u>	2.55 g	2.40 lm
Şahnalı-2	0.82 kl	37.00 ı	25.30 cd	4.87 g	6.44 ghı
Çorbacı 12	0.71 kl	73.50 b-e	24.08 def	5.57 d-g	7.76 fgh
Askıl	0.64 l	<u>8.67 j</u>	<u>27.55 a</u>	<b>1.90 g</b>	<u>1.20 m</u>

\*Verilerin karşılaştırılmasının kolaylığı amacıyla MEL içeriği tekrar verilmiştir. En yüksek değerler **kalm**, en düşük değerler ise **altı çizili** olarak yazılmıştır.

Düşük sıcaklıkta yürütülen çimlenme testi sonucunda 25 °C çimlenme testi sonuçlarına kıyasla doğal olarak ortalama çimlenme süresi ve çimlenme üniformitesi

değerlerinde artışlar görülmüştür. Üşüme stresinin tohumların hem çimlenmeye başladıkları gün sayısında hem de çimlenme başlangıcı ile bitişi arasında geçen sürenin artmasına neden olduğu görülmektedir. Ayrıca, çimlenme süresindeki bu artışlar üşüme stresi altında genotiplerin tohumlarının vegetatif gelişmesine de doğal olarak yansımış ve ölçülen kökçük değerlerinde farklılıklar görülmüştür. Çizelge 4.3'te sunulan sonuçlara bakıldığında ortalama çimlenme süresinin 15.52 gün ile 27.55 gün arasında, çimlenme üniformitesi değerlerinin ise 1.90 gün ile 23.12 gün arasında değiştiği görülmektedir. Aynı şekilde çimlenen tohumların kökçük uzunlukları da 0.8 mm ile 13.54 mm arasında değişmiştir. En yüksek çimlenme hızına (en küçük MGT) sahip olan Şahnalı-1 (MGT: 15.52 gün), Tatlı Sivri Çetinel (MGT: 17.4 gün), Çorlu (MGT: 18.41 gün) ve Çetinel-2 (MGT: 19.47 gün) genotiplerinin tohumlarının yüksek seviyelerde MEL içerdiği (3.05 ng g<sup>-1</sup> ile 3.60 ng g<sup>-1</sup> arasında), buna karşın en düşük çimlenme hızına (en yüksek MGT) sahip olan genotipler olan Askıl (MGT: 27.55 gün), Sera Demre 8-2 (MGT: 26.97 gün) ve Yalova Çarliston 341 (MGT: 26.92 gün) genotiplerine ait tohumlarının MEL içeriğinin ise oldukça düşük olduğu (0.64 ng g<sup>-1</sup> ile 1.22 ng g<sup>-1</sup> arasında) görülmüştür. Çimlenme üniformitesine bakıldığında ise en yüksek oranda üniform çimlenme gösteren Askıl genotipinin (G<sub>10-90</sub>: 1.90 gün), 27 genotip içerisinde en düşük MEL içeriğine sahip olduğu; buna karşılık en düşük üniform çimlenme gösteren Şahnalı-1 genotipinin (G<sub>10-90</sub>: 23.12 gün) ise 3.05 ng g<sup>-1</sup> gibi oldukça yüksek MEL içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin Askıl genotipinin çok düşük oranda çimlenmeye sahip olması ve çimlenmenin geç başlaması fakat kısa sürede az sayıda tohumun çimlenerek çimlenmenin tamamlanması; Şahnalı-1 genotipi için ise çimlenmenin çok erken başlaması ve çok uzun süre devam ederek oldukça yüksek sayıda tohumun çimlenmesi olduğu düşünülmektedir. Aynı şekilde kökçük gelişimleri incelendiğinde en büyük kökçük uzunluğuna sahip olan genotiplerin Volkan Acı Kıl (13.54 mm) ve Tatlı Sivri Çetinel (12.98 mm) genotiplerinin olduğu ve bu genotiplerin tohumlarının MEL içeriklerinin 2.24 ng g<sup>-1</sup> ile 3.19 ng g<sup>-1</sup> arasında değiştiği görülmüştür. Buna karşılık en küçük kökçük uzunluğuna sahip olan sahip olan Yalova Çarliston 341 (0.8 mm) ve Askıl (1.20 mm) genotiplerinin tohumlarının MEL içeriğinin 0.64 ng g<sup>-1</sup> ile 1.22 ng g<sup>-1</sup> arasında değiştiği görülmüştür. MEL içeriği düşük ve yüksek çeşitleri temsil eden kökçük resimleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. 15 °C’de çimlenme testi sonrası kökçüklerin görünümü. **a**; MEL içeriği düşük genotipleri **b**; ise MEL içeriği yüksek genotipleri temsil etmektedir.

#### 4.1.3. Membran sızıntı (EC) testi

Biber genotipinin tohumlarında hücre membranlarının bozulmasının bir belirtisi olarak kabul edilen sızıntı, elektriki iletkenlik (EC) olarak ölçülmüş ve elde edilen değerler Çizelge 4.4’de sunulmuştur. Çizelge incelendiğinde EC içeriği en yüksek çıkan genotipler; 1.22 ng g<sup>-1</sup> MEL içeriği ile Yalova Çarliston 341 genotipi (EC: 215.96  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ), ardından 4.73 ng g<sup>-1</sup> MEL içeriği ile Çetinel-1 genotipi (EC: 189.71  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) ve 1.65 ng g<sup>-1</sup> MEL içeriği ile Tatlı Kıl Menderes-2 (EC: 170.65  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) genotiplerinin olduğu görülmüştür. Aynı şekilde düşük EC içeriğine sahip olan Volkan Acı Kıl (EC: 66.30  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ), Çorlu (EC: 67.09  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) ve Acıyol (EC: 72.21  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) genotiplerinin MEL içeriği ise 2.24 ng g<sup>-1</sup> ile 3.20 ng g<sup>-1</sup> arasında değişmektedir.

Çizelge 4.4. Genotiplerin tohumlarının membran sızıntı (EC) değerleri

Çeşit İsmi	*MEL (ng g <sup>-1</sup> )	EC (µS cm <sup>1</sup> g <sup>-1</sup> )
Sivri Kıl Tatl-016	5.03 a	143.92 cde
Çetinel-1	4.73 ab	189.71 ab
Tatl Kıl Menderes-1	3.88 bc	115.84 fgh
Çetinel-2	3.60 cd	100.38 ghı
Çorlu	3.20 cde	67.09 k
Tatl Sivri Çetinel	3.19 cde	127.05 efg
Şahnalı-1	3.05 c-f	125.07 e-h
Acıyol	3.04 c-f	72.21 jk
Çorbacı	3.00 c-f	125.11 e-h
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f	132.31 def
Kıl Tatl	2.91 def	156.84 cd
Yalova Çorbacı 12	2.83 def	134.91 def
Burkalem	2.25 efg	123.52 e-h
Volkan Acı Kıl	2.24 efg	66.30 k
Sera Demre 8-1	2.21 fgh	121.27 e-h
Seyrek Tatl Kıl	2.13 f-ı	99.21 hij
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı	76.71 ıjk
Demok	1.83 f-ı	138.95 def
Tatl Kıl Menderes-2	1.65 h-k	170.65 bc
Ege Acı Sivri	1.26 h-l	119.37 e-h
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l	215.96 a
Yalova Çorbacı	1.07 jkl	125.37 e-h
Ilca- 256	0.95 jkl	144.24 cde
Sera Demre 8-2	0.85 kl	136.35 def
Şahnalı-2	0.82 kl	158.13 cd
Çorbacı 12	0.71 kl	86.99 ıjk
Askıl	0.64 l	103.38 ghı

\*Verilerin karşılaştırılmasının kolaylığı amacıyla MEL içeriği tekrar verilmiştir. En yüksek değerler **kalm**, en düşük değerler ise **altı çizili** olarak yazılmıştır.



#### 4.2. Fide çıkış testi ve fidede yapılan biyokimyasal analizler

Üşüme stresi koşulları altında gerçekleştirilen çıkış testi sonrasında 27 adet biber genotipine ait tohumların fide çıkış değerleri ve fidelerin yaş ağırlıkları Çizelge 4.5’de sunulmuş ve resimleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Genotiplerin çıkış yüzdelerine bakıldığında, %70 ve üzeri çıkış yüzdesine sahip 16 adet genotipin MEL içeriğinin  $1.65 \text{ ng g}^{-1}$  ve  $5.03 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değiştiği ve genelde yüksek çıkış yüzdesi (>%90) ile MEL içeriği arasında bir paralellik olduğu görülmektedir. Şöyle ki, en yüksek çıkış yüzdesine (>%90) sahip dört genotipten üçü olan Çetinel-2, Tatlı Sivri Çetinel ve Çorlu genotiplerinin tohumlarının MEL içeriğinin  $3.19 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $3.60 \text{ ng g}^{-1}$  arasında, diğer genotipin ise tohumlarının MEL içeriği  $2.12 \text{ ng g}^{-1}$  olan Sivri Kıl Acı-016 olduğu görülmüştür. Aynı şekilde en düşük çıkış oranına da, tohumlarının MEL içeriği  $1.22 \text{ ng g}^{-1}$  olan Yalova Charleston 341 (%18.75) ile  $0.64 \text{ ng g}^{-1}$  Askıl (%21.25) genotipleri sahip olmuştur. Ayrıca fide çıkış yüzdesi %50’nin altında bulunan 8 genotipin tohumlarının MEL içeriklerinin  $0.64 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $1.83 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değiştiği dolayısıyla tohumları düşük MEL içeren genotiplerin  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de gerçekleştirilen fide çıkış testinin performanslarının oldukça düşük olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5. Çeşitlerin üşüme stresi (15 °C) koşullarında fide çıkış testi sonuçları

Çeşit İsmi	*MEL (ng g <sup>-1</sup> )	Çıkış (%)	MET (gün)	E <sub>10-90</sub> (gün)	Yaş ağırlık (g fide <sup>-1</sup> )
Sivri Kıl Tath-016	5.03 a	86.25 abc	24.88 ij	7.45 a-e	55.00 bcd
Çetinel-1	4.73 ab	74.37 c-g	27.05 e-h	5.22 e-k	56.00 bcd
Tath Kıl Menderes-1	3.88 bc	77.50 b-e	28.55 def	6.34 b-h	37.50 d-g
Çetinel-2	3.60 cd	93.12 a	26.72 f-ı	4.36 h-l	67.00 ab
Çorlu	3.20 cde	90.62 a	23.45 jk	5.29 e-j	65.75 abc
Tath Sivri Çetinel	3.19 cde	91.25 a	27.06 e-h	5.25 e-k	48.25 b-e
Şahnalı-1	3.05 c-f	83.12 a-d	22.36 k	8.09 abc	84.00 a
Acıyol	3.04 c-f	64.37 gh	28.09 d-g	8.38 ab	32.25 d-g
Çorbacı	3.00 c-f	83.75 abc	28.74 cde	6.46 b-h	55.00 bcd
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f	69.37 e-h	27.78 d-g	6.77 a-g	40.25 c-g
Kıl Tath	2.91 def	75.62 b-g	26.37 ghı	7.95 a-d	70.25 ab
Yalova Çorbacı 12	2.83 def	86.87 ab	29.12 cd	6.09 b-h	47.25 b-e
Burkalem	2.25 efg	60.62 h	27.27 d-h	4.53 g-l	37.50 d-g
Volkan Acı Kıl	2.24 efg	87.50 ab	25.66 hı	7.73 a-d	65.50 abc
Sera Demre 8-1	2.21 fgh	76.87 b-f	30.53 c	6.92 a-f	36.50 d-g
Seyrek Tath Kıl	2.13 f-ı	86.25 abc	25.39 hı	5.84 c-ı	51.00 b-e
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı	90.00 a	25.36 hjj	6.23 b-h	47.75 b-e
Demok	1.83 f-ı	44.37 ı	33.00 b	6.63 a-h	20.25 fg
Tath Kıl Menderes-2	1.65 h-k	71.25 d-h	27.98 d-g	9.04 a	48.75 b-e
Ege Acı Sivri	1.26 h-l	41.87 ı	28.69 cde	2.82 l	46.00 b-f
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l	18.75 j	34.46 ab	4.81 f-l	33.00 d-g
Yalova Çorbacı	1.07 jkl	40.62 ı	28.18 d-g	3.51 ı-l	35.00 d-g
Ilıca- 256	0.95 jkl	40.00 ı	28.91 cde	2.57 l	28.75 efg
Sera Demre 8-2	0.85 kl	44.37 ı	35.70 a	5.67 d-j	20.00 g
Şahnalı-2	0.82 kl	35.62 ı	27.84 d-g	6.35 b-h	47.75 b-e
Çorbacı 12	0.71 kl	65.00 fgh	27.71 d-g	3.36 jkl	48.25 b-e
Askıl	0.64 l	21.25 j	29.16 cd	2.90 kl	28.75 efg

\*Verilerin karşılaştırılmasının kolaylığı amacıyla MEL içeriği tekrar verilmiştir. En yüksek değerler **k**alın, en düşük değerler ise **altı** çizili olarak yazılmıştır.



Şekil 4.2. Üşüme stresine tabi tutulmuş genotiplerin çıkış testi sonrası görünümü. **a**; MEL içeriği yüksek genotipleri (Çetinel-2, S. Kıl Acı-016, Çorlu, Tatlı Sivri Çetinel) **b**; MEL içeriği düşük genotipleri (Yalova Çarliston 341, Demok, Sera Demre 8-2, Askil) temsil etmektedir.

Araştırmaya konu olan 27 biber genotipine ait tohumların 15 °C’de fide çıkış testi sonrasında ortalama çıkış hızı (MET) değerleri incelendiğinde, en yüksek çıkış hızına (en düşük MET) sahip olan genotiplerin Şahnalı-1 (MET: 22.36 gün), Çorlu (MET: 23.45 gün) ve Sivri Kıl Tatlı-016 (MET: 24.88 gün) çeşitlerinin olduğu ve bu çeşitlerin MEL içeriğinin ise 3.05 ng g<sup>-1</sup> ile en yüksek değer olan 5.03 ng g<sup>-1</sup> aralığında değiştiği Çizelge 4.5’de görülmektedir. Aynı şekilde en düşük ortalama çıkış hızına (en yüksek MET) sahip genotiplerin Sera Demre 8-2 (MET: 35.70 gün), Yalova Çarliston 341 (MET: 34.46 gün) ve Demok (MET: 33.00 gün) çeşitlerinin olduğu ve bu çeşitlerin MEL içeriğinin 0.85 ng g<sup>-1</sup> ile 1.83 ng g<sup>-1</sup> arasında olduğu görülmektedir.

Üşüme stresi koşullarında genotiplerin çıkış üniformitesi değerlendirildiğinde ise çimlenme testine benzer sonuçlar elde edilmiştir. En düşük çıkış üniformitesi (en yüksek E<sub>10-90</sub>) gösteren genotiplerin Tatlı Kıl Menderes-2, Acıyol, Şahnalı-1, Kıl Tatlı, Volkan Acı Kıl ve Sivri Kıl Tatlı-16 genotiplerinin olduğu ve bu genotiplerin MEL içeriğinin 1.65 ng g<sup>-1</sup> ve 5.03 ng g<sup>-1</sup> gibi yüksek değerler arasında olduğu görülmüştür. Buna karşılık yüksek

üniformite gösteren genotipler olan Askıl, Ilıca-256, ve Ege Acı Sivri genotiplerin tohumlarının MEL içeriğinin ise  $0.64 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $1.26 \text{ ng g}^{-1}$  aralığında olduğu görülmektedir. Bu durumun çimlenme testinde belirtildiği gibi çıkış üniformitesi yüksek olan genotiplerde çıkış yüzdesinin düşük olması ve fide çıkışının geç başlaması fakat kısa sürede tamamlanması; çıkış üniformitesi düşük olan genotiplerde ise çıkışın çok erken başlaması ve uzun süre devam ederek oldukça yüksek sayıda tohumun çimlenerek fide oluşturması olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.5’de verilen üşüme stresi koşullarında gerçekleştirilen çıkış testi sonrası 27 genotipe ait fidelerin yaş ağırlık değerleri incelendiğinde en yüksek fide yaş ağırlığına ( $84.0 \text{ g}$ ) sahip olan genotipin  $3.05 \text{ ng g}^{-1}$  MEL içeriği ile Şahnalı-1 çeşidi olduğu ve onu MEL içerikleri  $2.24 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $3.60 \text{ ng g}^{-1}$  arasında olan ve fide yaş ağırlıkları  $65.5 \text{ g}$  ile  $70.25 \text{ g}$  arasında değişen Kıl Tatlı, Çetinel-2, Çorlu ve Volkan Acı Kıl genotiplerinin izlediği görülmüştür. Yine sonuçlar incelendiğinde en düşük fide yaş ağırlığı ( $20.0 \text{ g}$ ) sahip genotipin ise  $0.85 \text{ ng g}^{-1}$  MEL içeriği ile Sera Demre 8-2 nolu çeşidin olduğu ve onu MEL içerikleri  $0.64 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $1.83 \text{ ng g}^{-1}$  arasında olan ve fide yaş ağırlıkları  $20.25 \text{ g}$  ile  $28.75 \text{ g}$  arasında değişen Askıl, Ilıca-256 ve Demok genotiplerinin izlediği görülmüştür.

#### **4.2.1. MDA ve $\text{H}_2\text{O}_2$ içeriği**

Üşüme stresi sonucunda biber genotiplere ait fidelerin yapraklarında belirlenen ve serbest radikallerin gerçekleştirdiği hasar sonucu oluşan bir bozulma ürünü olan MDA içeriklerine ait değerler Çizelge 4.6’da verilmiştir. Buna göre en yüksek MDA içeriğine ( $130.7 \text{ nmol g}^{-1}$  TA ile  $236.1 \text{ nmol g}^{-1}$  TA arasında) sahip olan genotiplerin, tohumlarında  $0.64 \text{ ng g}^{-1}$  ve  $2.91 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değişen oranlarda MEL olduğu belirlenen Kıl Tatlı, Çorbacı 12, Yalova Charlston 341, Ege Acı Sivri ve Askıl çeşitlerinin olduğu belirlenmiştir. En düşük MDA içeriği ise  $12.6 \text{ nmol g}^{-1}$  TA ve  $13.1 \text{ nmol g}^{-1}$  TA ile Volkan Acı Kıl ile Tatlı Kıl Menderes-1 genotiplerinin olduğu ve bu çeşitlerin tohumlarının MEL içeriğinin ise sırasıyla  $2.91 \text{ ng g}^{-1}$  ve  $3.88 \text{ ng g}^{-1}$  olduğu görülmüştür..

Çizelge 4.6. Fidelerin MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> değerleri

Çeşit İsmi	*MEL (ng g <sup>-1</sup> )	MDA (nmol g <sup>-1</sup> TA)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (nmol g <sup>-1</sup> TA)
Sivri Kıl Tathı-016	5.03 a	48.0 ghı	127.0 c-ı
Çetinel-1	4.73 ab	109.5 cd	151.6 abc
Tathı Kıl Menderes-1	3.88 bc	<b>13.1 ı</b>	128.3 c-ı
Çetinel-2	3.60 cd	99.4 c-f	<b>100.6 ı</b>
Çorlu	3.20 cde	46.8 ghı	121.7 d-ı
Tathı Sivri Çetinel	3.19 cde	36.2 ghı	<b>108.6 hı</b>
Şahnalı-1	3.05 c-f	51.8 ghı	<b>108.3 hı</b>
Acıyol	3.04 c-f	109.8 cd	<b>100.8 ı</b>
Çorbacı	3.00 c-f	53.7 f-ı	150.4 a-d
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f	61.7 e-h	115.5 ghı
Kıl Tathı	2.91 def	236.1 a	149.6 a-e
Yalova Çorbacı 12	2.83 def	79.5 d-g	<b>107.9 hı</b>
Burkalem	2.25 efg	71.4 d-h	127.5 c-ı
Volkan Acı Kıl	2.24 efg	<b>12.6 ı</b>	115.7 ghı
Sera Demre 8-1	2.21 fgh	74 d-g	117.6 f-ı
Seyrek Tathı Kıl	2.13 f-ı	43.6 ghı	162.1 ab
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı	34.6 ghı	152 abc
Demok	1.83 f-ı	34.6 ghı	120.5 e-ı
Tathı Kıl Menderes-2	1.65 h-k	40.7 ghı	163.5 ab
Ege Acı Sivri	1.26 h-l	<u>137.6</u> bc	164.8 ab
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l	<u>167.6</u> b	146.6 b-f
Yalova Çorbacı	1.07 jkl	101.4 cde	136.3 b-g
Ilıca- 256	0.95 jkl	50.7 ghı	<u>176.6</u> a
Sera Demre 8-2	0.85 kl	101.4 cde	<u>176.6</u> a
Şahnalı-2	0.82 kl	25.9 hı	143.6 b-g
Çorbacı 12	0.71 kl	<u>167.4</u> b	159.8 ab
Askıl	0.64 l	<u>130.7</u> bc	145 b-g

\*Verilerin karşılaştırılmasının kolaylığı amacıyla MEL içeriği tekrar verilmiştir. En yüksek değerler **kalm**, en düşük değerler ise **alı** çizili olarak yazılmıştır.

Araştırmada kullanılan 27 biber genotipine ait fidelerin yapraklarında stres ortamlarında oluşan bir serbest radikal olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğine ait değerler Çizelge 4.6'da

sunulmuştur. Veriler incelendiğinde tohumlarının MEL içeriklerinin  $2.83 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $3.60 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değiştiği belirlenen Çetinel-2, Acıyol, Yalova Çorbacı 12, Şahnalı-1 ve Tatlı Sivri Çetinel genotiplerine ait fidelerin en düşük  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeriğine ( $100.6 \text{ nmol g}^{-1}$  TA ile  $108.6 \text{ nmol g}^{-1}$  TA arasında) sahip olduğu görülmüştür. Buna karşın en yüksek  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeriği ise  $176.6 \text{ nmol g}^{-1}$  TA ile Ilıca-256 ile Sera Demre 8-2 genotiplerine ait fidelerde ölçülmüştür ve bu genotiplerin tohumlarında belirlenen MEL miktarı da oldukça düşük ( $0.85 \text{ nmol g}^{-1}$  ve  $0.95 \text{ nmol g}^{-1}$ ) seviyede olduğu görülmüştür.

Tüm genotiplere ait MDA ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  içerikleri değerlendirildiğinde tohumlarında yüksek oranda MEL bulunduran genotiplerden elde edilen fidelerin dokularında genelde daha düşük miktarlarda MDA ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  birikimi olduğu; buna karşılık tohumlarında daha düşük miktarda MEL belirlenen genotiplere ait fidelerde ise MDA ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeriklerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

#### **4.2.2. Katalaz (CAT) ve Peroksidaz (POX) enzim aktiviteleri**

Üşüme stresi koşullarında gerçekleştirilen çıkış testi sonrasında 27 adet biber genotipine ait fidelerin yapraklarında stres sonucu oluşan bir serbest radikal olan  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin bertaraf edilmesinde görev alan CAT ve POX enzimlerinin aktivitelerine ait değerler Çizelge 4.7'de verilmiştir. Biber genotipleri CAT enzim aktivitesi açısından değerlendirildiğinde Burkalem, Yalova Çorbacı 12 ve Acıyol genotiplerinin en yüksek CAT enzim aktivitesine ( $0.0369 \text{ U mg}^{-1}$  protein ile  $0.060 \text{ U mg}^{-1}$  protein arasında) sahip genotipler olduğu ve bu genotiplerin tohumlarının MEL içeriğinin de  $2.25 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $3.04 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değiştiği belirlenmiştir. Diğer yandan en düşük CAT aktivitesine ( $0.0109 \text{ U mg}^{-1}$  protein ile  $0.0110 \text{ U mg}^{-1}$  protein arasında değişen) sahip olan genotipler olarak da tohum MEL içeriği  $0.71 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $2.13 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değişen Çorbacı 12, Sera Demre 8-2 ve Seyrek Tatlı Kıl genotiplerinin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Fidelerin CAT ve POX değerleri

Çeşit İsmi	*MEL (ng g <sup>-1</sup> )	CAT (U mg <sup>-1</sup> protein)	POX (U mg <sup>-1</sup> protein)
Sivri Kıl Tath-016	5.03 a	0.0191 c-g	7.41 b
Çetinel-1	4.73 ab	0.0141 c-g	4.42 ef
Tath Kıl Menderes-1	3.88 bc	0.0206 c-g	7.57 b
Çetinel-2	3.60 cd	0.0116 efg	3.02 h-k
Çorlu	3.20 cde	0.0263 c-g	6.39 c
Tath Sivri Çetinel	3.19 cde	0.0170 c-g	3.66 f-ı
Şahnalı-1	3.05 c-f	0.0345 b-f	12.51 a
Acıyol	3.04 c-f	0.0369 abc	3.74 fgh
Çorbacı	3.00 c-f	0.0113 fg	2.70 jkl
Menderes Kıl Acı	2.93 c-f	0.0359 bcd	5.65 cd
Kıl Tath	2.91 def	0.0149 c-g	3.79 fgh
Yalova Çorbacı 12	2.83 def	0.0513 ab	7.29 b
Burkalem	2.25 efg	0.0600 a	1.91 l
Volkan Acı Kıl	2.24 efg	0.0119 efg	3.20 g-j
Sera Demre 8-1	2.21 fgh	0.0324 b-g	3.92 fg
Seyrek Tath Kıl	2.13 f-ı	0.0110 g	2.35 jkl
Sivri Kıl Acı-016	2.12 f-ı	0.0236 c-g	7.71 b
Demok	1.83 f-ı	0.0347 b-e	5.04 de
Tath Kıl Menderes-2	1.65 h-k	0.0125 efg	2.77 ı-l
Ege Acı Sivri	1.26 h-l	0.0125 efg	2.10 l
Yalova Çarliston 341	1.22 ı-l	0.0260 c-g	2.10 l
Yalova Çorbacı	1.07 jkl	0.0129 d-g	2.21 kl
Ilıca- 256	0.95 jkl	0.0135 d-g	2.78 ı-l
Sera Demre 8-2	0.85 kl	0.0109 g	2.29 kl
Şahnalı-2	0.82 kl	0.0198 c-g	3.76 fgh
Çorbacı 12	0.71 kl	0.0110 g	2.57 jkl
Askıl	0.64 l	0.0114 efg	2.52 jkl

\*Verilerin karşılaştırılmasının kolaylığı amacıyla MEL içeriği tekrar verilmiştir. En yüksek değerler **kalm**, en düşük değerler ise **altı çizili** olarak yazılmıştır.

Biber genotipinin fidelerinin yapraklarında belirlenen POX enzim aktiviteleri incelendiğinde en yüksek POX aktivitesinin Şahnalı-1 (12.51 U mg<sup>-1</sup> protein), Sivri Kıl

Acı-016 (7.71 U mg<sup>-1</sup> protein), Tatlı Kıl Menderes-1 (7.57 U mg<sup>-1</sup> protein), Sivri Kıl Tatlı-016 (7.41 U mg<sup>-1</sup> protein) ve Yalova Çorbacı 12 (7.29 U mg<sup>-1</sup> protein) çeşitlerinin olduğu ve bu çeşitlerin tohumlarının da oldukça yüksek oranda MEL içerdiği (2.12 ng g<sup>-1</sup> ile 5.03 ng g<sup>-1</sup> arasında değişen miktarlarda) görülmüştür. Ayrıca tohum MEL içeriği düşük olan genotiplerden elde edilen fidelerin yapraklarında belirlenen POX aktivitesinin de genel itibarıyla oldukça düşük olduğu görülmüş ve en düşük POX aktivitesi Burkalem (1.91 U mg<sup>-1</sup> protein), Ege Acı Sivri (2.10 U mg<sup>-1</sup> protein) ve Yalova Charleston 341 (2.10 U mg<sup>-1</sup> protein) genotiplerinde ölçülmüştür. POX aktivitesinin en düşük seviyelerde belirlendiği bu genotiplerinin tohumlarının MEL içeriklerinin de 1.22 ng g<sup>-1</sup> ile 2.25 ng g<sup>-1</sup> arasında değiştiği görülmüştür.

Yukarıda MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerikleri konusunda belirtildiği gibi genel hatlarıyla tohumlarında yüksek oranda MEL olduğu belirlenen genotiplerden üşüme stresi koşullarında elde edilen fidelerinin yapraklarında; tohumlarında daha düşük miktarlarda MEL belirlenen genotiplere kıyasla antioksidan enzimlerin aktivitelerinin daha yüksek seviyelerde seyrettiği görülmektedir.

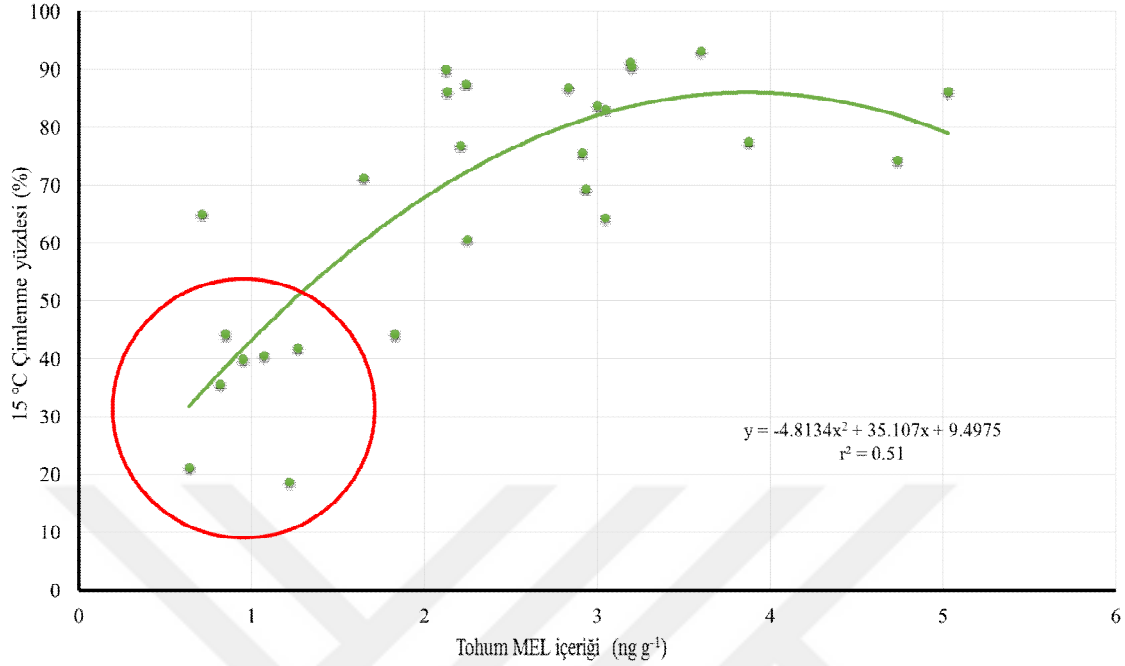
#### **4.3. Biber genotiplerinin üşüme stresi (15 °C) koşullarında çimlenme yüzdesi ile tohumların MEL içeriği arasındaki ilişki**

Araştırmaya konu olan 27 biber genotipinin tohumlarında belirlenen MEL içeriği ile üşüme stresi (15 °C) koşullarındaki toplam çimlenme yüzdesi arasındaki ilişki Şekil 4.3’de verilmiştir. Grafik incelendiğinde tohum MEL içeriği ile üşüme stresi koşullarında çimlenme yüzdesi arasında kuadratik (2. derece) bir ilişkinin olduğu ve ilişkinin regresyon katsayısı ise  $r^2 = 0.51$  olarak belirlenmiştir.

Sonuçlar detaylı analiz edildiğinde tohum MEL içeriği düşük (<2 ng g<sup>-1</sup>) olduğu belirlenen 10 genotipten yedi tanesinin üşüme stresi koşulları altında %50’nin altında çimlenme gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle en düşük tohum MEL içeriklerine (<1 ng g<sup>-1</sup>) sahip olan 5 adet biber genotipinden 4 tanesinin üşüme stresi koşulları altında %50’nin altında toplam çimlenme yüzdesine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca tohumların MEL içeriği 2 ng g<sup>-1</sup>’dan yüksek olan 17 genotipin sadece iki tanesinin %50 ve altında çimlenme gösterdiği ve bu genotiplerin 9 adetinin %75 ve üzerinde çimlenme yüzdesine sahip olduğu görülmektedir. En yüksek çimlenme yüzdesine (>%85) sahip olan 5 genotipin tohumlarının MEL içeriğinin 2.12 ile ng g<sup>-1</sup> ile 3.60 ng g<sup>-1</sup> arasında değiştiği görülmüş;



MEL içeriği en yüksek olduğu belirlenen 2 adet genotipin çimlenme yüzdeleri ise %63 ve %76 olarak belirlenmiştir.



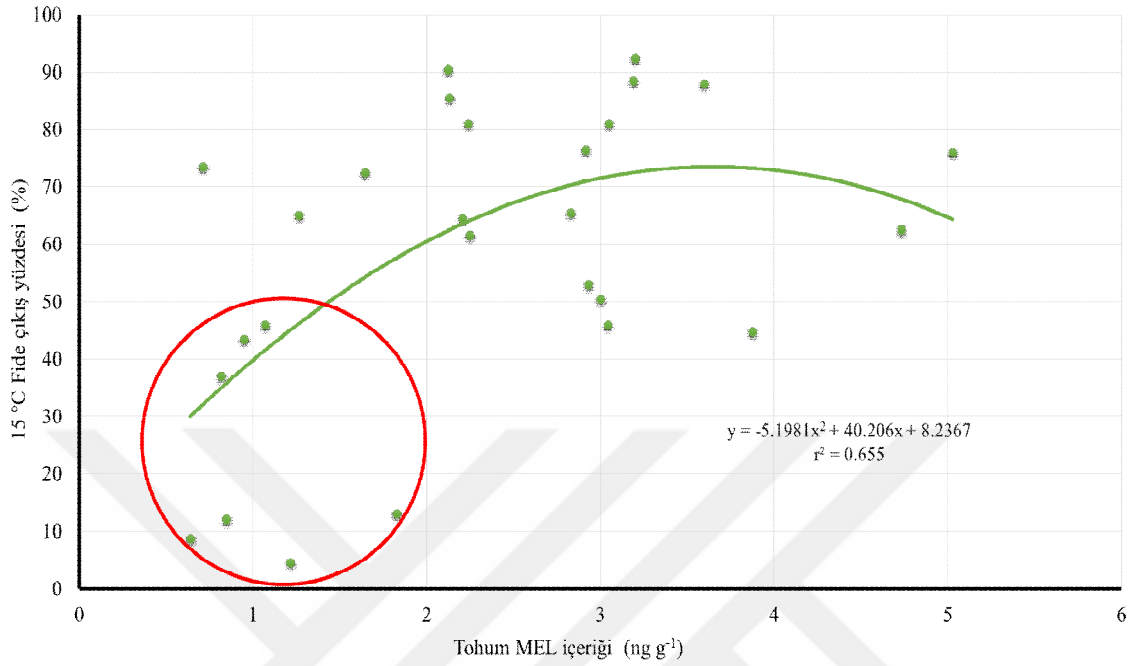
şekil 4.3. Biber genotiplerinin tohum MEL içeriği ile uşme stresi koşullarında çimlenme yüzdesi arasındaki ilişki

#### 4.4. Biber genotiplerinin uşme stresi (15 °C) koşullarında çıkış yüzdesi ile tohumların MEL içeriği arasındaki ilişki

Araştırmaya konu olan 27 biber genotipinin tohumlarında belirlenen MEL içeriği ile uşme stresi (15 °C) koşullarındaki toplam fide çıkış yüzdesi arasındaki ilişki şekil 4.4'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde tohum MEL içeriği ile uşme stresi koşullarında çıkış yüzdesi arasında kuadratik (2. derece) bir ilişkinin olduğu ve ilişkinin regresyon katsayısı ise  $r^2 = 0.66$  olarak belirlenmiştir.

şekil 4.1'de bahsedilen sonuçlara çok benzer bir şekilde tohum MEL içeriği düşük ( $< 2 \text{ ng g}^{-1}$ ) olduğu belirlenen 10 genotipten 8 tanesinin uşme stresi koşulları altında %50'nin altında fide çıkışı gösterdiği belirlenmiştir. Yine özellikle en düşük tohum MEL içeriklerine ( $< 1 \text{ ng g}^{-1}$ ) sahip olan 5 adet biber genotipinden 4 tanesinin uşme stresi koşulları altında %50'nin altında toplam çıkış yüzdesine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca tohumların MEL içeriği  $2 \text{ ng g}^{-1}$ 'dan yüksek olan 17 genotipin tamamının %50 ve üzerinde çimlenme gösterdiği ve bu genotiplerin 13 adetinin de %75 ve üzerinde çıkış yüzdesine sahip olduğu görülmektedir. En yüksek çıkış yüzdesine ( $> \%90$ ) sahip olan 4 genotipin

tohumlarının MEL içeriğinin  $2.12 \text{ ng g}^{-1}$  ile  $3.60 \text{ ng g}^{-1}$  arasında değiştiği görülmüş; MEL içeriği en yüksek olduğu belirlenen 2 adet genotipin çıkış yüzdeleri ise %74 ile %86 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Biber genotiplerinin tohum MEL içeriği ile üşüme stresi koşullarında fide çıkış yüzdesi arasındaki ilişki

## 5. TARTIŞMA

Yaşam alanlarını kısıtlayan en önemli faktörlerden birisi olan sıcaklık faktörü bütün canlılar üzerinde etkili olduğu gibi bitkiler üzerinde de etkili olmaktadır. Özellikle ısı azlığı nedeni ile oluşan düşük sıcaklıklar bitki bünyesinde strese yol açmakta, hem yaşam alanını kısıtlamakta hem de ekstrem durumlarda bitkinin ölümüne sebebiyet vermektedir. Düşük sıcaklık stresi çeşitlerinden birisi olan üşüme stresi ekonomik yetiştiriciliği etkilemekte ve yoğun masraf girdisi ile üreticiyi zarara sokmaktadır. Donma sıcaklığı ile 15 °C arasındaki sıcaklıkların neden olduğu bu strese, bitkiler savunma sistemlerini harekete geçirerek tolere etmeye çalışırlar. Strese toleransta içlerinde MEL'in de yer aldığı bazı büyüme düzenleyiciler ya direk antioksidan olarak ya da dolaylı olarak savunma sisteminin harekete geçirilmesinde aktif rol alırlar. MEL artık bir bitki büyüme düzenleyici olarak kabul edilmekte ve konsantrasyona bağlı olarak bitkileri stres faktörlerine karşı koruduğu yapılan çok sayıda çalışmayla ispatlanmıştır. Ayrıca stres altındaki bitkilerde içsel MEL konsantrasyonunun yükseldiği de yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur.

Giriş kısmında da belirtildiği gibi ülkemizde geniş alanlarda üretilen ve yüksek miktarlarda tüketime sahip olan biberin yetiştiriciliği yoğun girdi gerektirmektedir. Bu girdilerin azaltılması bakımından hem üretici ve tüketici yönünden hem de bilimsel çalışmalara öncülük edecek olan bu çalışmada üşüme stresine tabi tutulan sivri biber genotiplerinin tohumlarının içsel MEL içerikleri ile üşüme stresi altındaki çimlenme ve çıkışları arasında bir ilişkinin varlığı araştırılmıştır. Bir türe ait gen havuzunda bulunan genotiplerin tohumlarının MEL içeriğinin üşüme stresine toleran genotiplerin seçilmesinde bir ön eleme kriteri olarak kullanılması açısından ilk çalışmadır.

MEL içeriği belirlenen 27 adet genotipin tohumları, 25 °C ve 15 °C sıcaklıkta çimlenme testine ve yine 15 °C'de çıkış testine tabi tutulmuştur. Ayrıca düşük sıcaklıkta gerçekleştirilen çimlenme testi sonrasında tohumların kökçüklerinin vegetatif gelişmesi incelenmiş ve tohumlarda ve fidelerde bazı biyokimyasal analizler yapılmıştır.

Sonuçlar incelendiğinde denemede materyal olarak kullanılan 27 biber genotipine ait tohumların MEL içeriklerinde geniş bir varyasyon olduğu görülmüştür. Biber tohumlarının optimum koşullar altında gerçekleştirilen çimlenme testlerinde genotipler arasında çok büyük bir fark olmadığı ve 2 genotip hariç diğer tüm genotiplerin %70 ve üzerinde çimlenme gösterdikleri anlaşılmıştır. Ancak üşüme stresi koşullarında yapılan çimlenme ve çıkış testleri sonrasında genotipler arasındaki farklılıklar belirgin bir şekilde ortaya çıkmış ve özellikle MEL içeriği düşük olan genotiplerin daha düşük çimlenme ve çıkış yüzdesine

sahip olduğu görülürken MEL içeriği yüksek olan genotiplerin büyük çoğunluğunun yüksek çimlenme ve çıkış yüzdesine sahip oldukları görülmüştür. Genel itibari ile MEL içeriği ile çimlenme ve çıkış yüzdeleri arasında yapılan kolerasyon analizi sonuçları incelendiğinde, MEL içeriği düşük genotiplerin üşüme stresi koşulları altındaki performanslarının da düşük olduğu ve ıslah çalışmalarında üşüme stresine tolerant genotiplerin seçiminde MEL içeriğinin fizyolojik işaretleyici olarak kullanılabileceği görülmüştür.

Önceki çalışmalar kısmında da belirtildiği gibi MEL'in stres altındaki bitkileri koruduğu ve stres altında konsantrasyonunun arttığı; aynı zamanda stres altındaki transgenik hatlarda transgenik olmayan hatlara göre içsel MEL içeriğinin kayda değer seviyelerde yükseldiği gözlemlenmiştir. Öncelikle MEL'in bitki organları içerisinde dağılımını incelendiğinde, en yüksek MEL içeriğinin genellikle çiçekler, meyveler ve tohumlar gibi bitki üreme organlarında diğer organlara kıyasla daha yüksek olduğu yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (Arnao, 2014; Arnao ve Hernández-Ruiz, 2015a). Bunun sebebinin ise bitki üreme döneminin kritik bir evre olması ve abiyotik ve biyotik stres faktörleri nedeni ile oluşan olumsuz çevre koşullarına karşı hassas olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. (Thakur vd., 2010). Generatif dönemin ileri evresi olan bitkinin tohum bağlaması aşamasında MEL'in özellikle embriyoyu ve endosperm dokusunu serbest radikal süpürücü etkisi ve antioksidan savunma sistemini arttırarak oksidatif stresin yol açtığı zararlanmalara karşı koruması ve nedeni ile tohumda daha yüksek miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Manchester vd., 2000). Aynı şekilde bitkilerde çimlenme ve fide aşamalarında olumsuz ortam koşullarından kaynaklanan strese karşı toleransın arttırabilmesi için biyokimyasal ve yapısal değişiklikler meydana geldiği ve MEL içeriğinin arttığı gözlemlenmiştir (Pratap ve Sharma, 2010). Bu sebeple, çimlenmeyi izleyen dönemde tespit edilen yüksek MEL seviyelerinin MEL'in antioksidan özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneğin çimlenme sırasında mercimek filizlerindeki MEL konsantrasyonunun tohumlardaki  $0.50 \text{ ng g}^{-1}$  (kuru ağırlık) düzeyinden  $1089.80 \text{ ng g}^{-1}$  (kuru ağırlık)'a yükseldiği bildirilmiştir (Aguilera vd., 2015).

MEL bitkilerde kloroplastlar ve mitokondride sentezlenir (Tan vd., 2013) ve tıpkı diğer hormonlar gibi meristemler, çiçekler, tohum, meyve gibi ihtiyaç duyulan herhangi bir dokuya taşınabilir ve orada içeriği artabilir (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2013). Kiraz meyvelerinin farklı olgunluk aşamalarında MEL içeriğinin incelendiği bir çalışmada en yüksek MEL seviyesinin 2. evrede yani tohumlar henüz sıvı formda ve endokarpın daha sertleşmemiş olduğu dönemde görülmüştür (Zhao vd., 2012). Meyve etinin henüz

olgunlaşmadığı bu dönemde dışardan gelen stres faktörlerine karşı MEL'in meyvelerde artarak meyve gelişimi sırasında serbest radikallere karşı koruduğu görülmüştür. MEL'in stres koşullarına karşı etkileri incelenecek olursa bitkilerin yaşamları boyunca sıklıkla maruz kaldığı stres faktörlerinden biri olan abiyotik stres faktörleri özellikle ekstrem sıcaklıklar ve toprak kirliliği altında yetişen bitkilerde MEL içeriğinin normale göre fazla olduğu bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Tan vd., 2007a,b). Aynı şekilde stres anında MEL'in biyolojik membranların (mitokondri, kloroplast ve plazma gibi) zar akışkanlığı ve lipit peroksidasyonu dengelenmesinde doğrudan antioksidan olarak rol alarak stres faktörleriyle mücadelede etkili olduğu belirtilmiştir (Catala, 2007; Garcia, vd., 2014). Yine MEL'in stres altındaki bitkilerde O<sup>2</sup> oluşumunu sınırlayarak iç mitokondrial zardan elektron sızıntısını azalttığı, elektron taşıma zincirini uyardığı (Reiter vd., 2001) ve ayrıca peroksidaz (POX), glutathion reduktaz (GR), superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzimlerinin aktivitelerini teşvik ettiği bildirilmiştir (Cardinali ve Pevet, 1998; Allegra vd., 2003; Teixeira vd., 2003; Rodriguez vd., 2004; Reiter vd., 2007). Yüksek UV altında yetişen bitkilerin MEL içeriği aynı türün düşük UV altında yetişen bitkilerine göre yüksek bulunmuştur (Tettamanti vd., 2000). Dubbels vd. (1995) domates ve tütün bitkilerinde yaptıkları bir çalışmada kültür bitkilerinin MEL içeriğinin yabani bitkilere göre 5 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde yüksek ozona tolerant olan tütün genotiplerinin daha yüksek MEL içeriğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine *Glycyrrhiza uralensis* köklerine yüksek UV radyasyonu uygulandığı zaman içsel MEL içeriğinin arttığı görülmüştür (Afreen vd., 2006). Benzer şekilde 37 °C sıcaklık stresine tabi tutulan *Arabidopsis* yapraklarında içsel MEL konsantrasyonunun stres öncesi ile kıyaslandığında 2 ile 5 kat arttığı görülmüştür (Shi vd., 2015b). Kahve çekirdekleri üzerinde yapılan bir çalışmada ise içsel MEL ve SER içeriği ölçülen *kongo* ve *robusta* türü kahve çekirdeklerinin yeşil olumda MEL içerikleri sırasıyla 5.8 µg g<sup>-1</sup> ile 6.8 µg g<sup>-1</sup> olup SER içerikleri ise 10.5 µg g<sup>-1</sup> ile 12.5 µg g<sup>-1</sup>'dir. Daha sonra kavrulma işlemine tabi tutulan çekirdeklerin artan sıcaklıkla beraber MEL içerikleri (8 µg g<sup>-1</sup> ve 9.6 µg g<sup>-1</sup>) artarken SER içerikleri (7.3 µg g<sup>-1</sup> ve 8.7 µg g<sup>-1</sup>) ise azalmıştır. SER içeriğindeki bu azalmanın SER'in MEL'e dönüşümünden kaynaklandığı öngörülmektedir (Ramakrishna vd., 2012). Yine boru çiçeği (*Datura metel*) bitkisinin çiçeklerinde soğuk stresi uygulandığı zaman MEL içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Murch vd., 2009).

Kołodziejczyk vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada; mısır ve hıyar tohumlarının bir yıl süreyle depolanması sırasında tohumların MEL değişimini izlenmiş ve her iki bitkinin tohumlarında depolama başlangıcında düşük düzeylerde seyreden MEL

seviyesinin, depolamanın 4 ve 5. aylarında (Ocak ve Şubat aylarında) hızla yükseldiği görülmüştür. Kış aylarında görülen MEL seviyelerindeki bu artışların tohumların içsel hafızalarında kayıtlı olan oluşabilecek olumsuz stres faktörlerine karşı geliştirilen bir savunma mekanizmasının devreye girmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Benzer şekilde bir sonuç da 24 ay süreyle depolanan biber tohumlarında görülmüş ve tohumların içsel MEL içerikleri Ağustos aylarında minimum seviyelerde, buna karşın kış aylarında ise maksimum seviyelerde seyrettiği bildirilmiştir. (Yakupoğlu vd., 2018).

MEL'in farklı stres koşulları altında bitki bünyesindeki bu etkileri haricinde moleküler çalışmalar yolu ile oluşturulan transgenik hatların da MEL içeriğinin stres altında transgenik olmayan hatlara göre çok fazla arttığı görülmüştür. Örneğin MEL içeriği yüksek genotip eldesinde transgenik hatlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde domates bitkilerine *HsfA1a* geninin aktarılmasıyla artan içsel MEL'in kadmiyum stresine karşı toleransı büyük ölçüde arttırdığı ve klorofil konsantrasyonunda ciddi artışlar meydana geldiği bildirilmiştir (Cai vd., 2017). Genetik modifikasyon yoluyla oluşturulan ve yüksek miktarlarda TDC enzimi üretebilen çeltik hatlarının herbisit stresi sonrası kontrol bitkilerine kıyasla yaklaşık 20 kat daha fazla MEL ürettiği, antioksidan enzim aktivitelerinin teşvik edildiği, buna karşılık dokularda üretilen serbest radikal miktarında ciddi düşüşler olduğu bildirmişlerdir (Park vd., 2013). Yine Lee vd., (2015) tarafından yürütülen bir çalışmada genetik modifikasyon yoluyla SNAT enziminin sentezinin engellenmesi sonucu çok düşük MEL üreten *Arabidopsis* bitkilerinde *Pseudomonas syringae* pv. Tomato DC3000 isimli patojene karşı hassasiyetin ciddi seviyelerde yükseldiği; bunun nedeninin de düşük MEL seviyesinin salisilik asit üretiminde ciddi düşüşlere neden olduğu gösterilmiştir. Son olarak AANAT ve HIOMT enzimlerini sentezleyen transgenik tütün (*Nicotiana glauca*) bitkilerinin transgenik olmayan bitkilere kıyasla UV-B radyasyonuna duyarlılığını tahmin etmek amacıyla izole edilmiş protoplastları kullanmış, buna göre transgenik hatlarda MEL sentezi artarken transgenik olmayan hatlarda MEL sentezi düşük çıkmıştır. Aynı zamanda yüksek MEL içeriğinin, transgenik hatları DNA düzeyinde UV-B radyasyonuna karşı koruduğu ortaya atılmıştır (Zhang vd., 2012).

Sonuç olarak içsel MEL'in strese maruz kalmış bitkilerde ve transgenik hatlarda stres karşısında artması bu çalışmanın amacını desteklemiş ve MEL içeriği düşük olan genotiplerin tohumlarının üşüme stresi altında daha düşük çimlenme ve çıkış performansı sergiledikleri görülmüştür. Böylece ileride yapılacak olan ıslah çalışmalarında içsel MEL içeriğinin fizyolojik bir işaretleyici olarak kullanılması, tohum MEL içeriği düşük olan

genotiplerin üşüme stresine tolerant genotip seçiminde elenerek hem ıslah programının başarısına katkıda bulunacak hem de para ve zaman tasarrufu sağlanacaktır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada günümüzde neredeyse bütün canlı organizmalarda varlığı keşfedilen MEL hormonunun üşüme stresi altında biber tohumlarının çimlenme ve çıkış yüzdesine olan etkileri araştırılmıştır. Araştırmada materyal olarak kullanılan 27 adet biber genotipin tohumlarının MEL içeriği ile üşüme stresi koşullarında (15 °C) çimlenme ve çıkış performansı arasındaki muhtemel bir ilişkinin varlığı araştırılmıştır.

Yapılan önceki çalışmalarla kıyaslandığı zaman ilk kez bir türe ait gen havuzunda bulunan genotipler MEL içeriği açısından taranmış ve sonrasında maruz bırakıldıkları üşüme stresi sonucunda strese tolerans ile MEL içeriği arasında bir ilişkinin var olduğu ortaya konmuştur.

Tohumlarında düşük miktarlarda MEL bulunan genotiplerin üşüme stresi altında çimlenme ve çıkış yüzdelerinin daha düşük olduğu, yüksek MEL içeren genotiplerin ise stres altında daha iyi performans gösterdikleri belirlenmiştir. Araştırma sonuçları, tohum MEL içeriği ve strese tolerans arasında bulunan ilişkinin özellikle düşük MEL içeren genotiplerin ışlah programına dahil edilmeden önce belirlenerek elenmesinde daha başarılı olduğunu göstermektedir.

İleride farklı tipte biberlerin de olduğu daha fazla sayıda genotip içeren bir gen havuzu kullanarak yürütülecek olan araştırmalar, bu araştırmanın sonuçlarının tekrar edilebilir güvenilirlikte olması açısından büyük öneme sahiptir. Ayrıca farklı stres faktörlerine tolerant çeşit geliştirme çalışmalarında da bitkilerin içsel MEL içeriğinin bir fizyolojik işaretleyici olarak ön eleme kriteri olarak kullanım olanaklarının araştırılması büyük önem arz etmektedir.

Üşüme stresine toleranslı olarak geliştirilecek olan bu çeşitler, erkencilik yönünden bir avantaj sağlayacak ve üretici hem tarla koşullarında hem de sera koşullarında strese tolerant olan bu genotipleri üşüme stresinden kaynaklı bir ekonomik bir kayba uğramadan yetiştirme imkânı bulacaktır.

Sonuç olarak; hızla yaygınlaşan çevre kirliliği ve ekolojik denge kaybı sonrası artan stres faktörleri bitkilerin yaşamlarını tehdit etmekte ve kendi savunma mekanizması ile stres faktörlerini bertaraf etmek amacıyla bitki içsel dinamiklerin kullanımını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle dışardan uygulama yerine içsel MEL içeriğinin strese tolerant çeşitlerin geliştirilmesi ve üretimde kullanılması hem ekonomik yönden hem de organik yetiştiricilik açısından büyük önem taşımaktadır. Önümüzdeki yıllarda yoğun girdili tarım



yerine organik tarımın daha da yaygınlaşarak önem kazanacak olması nedeniyle çalışmanın bu tarım sistemi için de uygun olacağı düşünülmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

- Afreen, F., Zobayed, S.M., Kozai, T. 2006. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation. *Journal of Pineal Research*, 41: 108–115.
- Aguilera, Y., Herrera, T., Liébana, R., Rebollo-Hernanz, M., Sanchez-Puelles, C., Martín-Cabrejas, M.A. 2015. Impact of melatonin enrichment during germination of legumes on bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 7967-7974.
- Ahammed, G.J. Xu, W., Liu, A., Chen, S. 2019. Endogenous melatonin deficiency aggravates high temperature-induced oxidative stress in *Solanum lycopersicum* L. *Environmental and Experimental Botany*, 161: 303–311.
- Akıncı, S., Akıncı, İ.E. 1999. Kahramanmaraş kırmızı biber yetiştiriciliğinin sorunları. Biber Paneli. 6 Mart. 1999. Kahramanmaraş.
- Allegra, M., Reiter, R.J., Tan, D.X., Gentile, C., Tesoriere, L., Livrea, M.A. 2003. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *Journal of Pineal Research*, 34 (1): 1-10.
- Andrews, J. 1999. The pepper trail, history and recipes from around the world, *University of North Texas Press*, Denton, TX, USA.
- Anonim, 2015.  
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/m5250?lang=en&region=TR>  
(erişim tarihi: 15.10.2015)
- Anonim, 2017. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> (erişim tarihi: 01.01.2019)
- Anonim, 2018. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>  
(erişim tarihi: (01.01.2019)
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2007. Melatonin promotes adventitious and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research*, 42 (2): 147-152.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2009a. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *Journal of Pineal Research*, 46 (1): 58-63.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2009b. Chemical stress by different agents affects the melatonin content of barley roots. *Journal of Pineal Research*, 46: 295–299.

- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2013. Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research*, 55: 149–155.
- Arnao, M.B. 2014. Phytomelatonin: discovery, content, and role in plants. *Advances in Botany*, Article ID 815769, 11.
- Arnao, M. B., Hernández-Ruiz, J. 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends in Plant Science*, 19 (12): 789–797.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2015a. Phytomelatonin: searching for plants with high levels for use as natural nutraceutical. *Studies in Natural Products Chemistry*, 46: 523-549.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2015b. Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*, 59: 133–150.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2018a. The potential of phytomelatonin as a nutraceutical. *Molecules*, 23 (1): 238.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J. 2018b. Phytomelatonin, natural melatonin from plants as a novel dietary supplement: Sources, activities and world market. *Journal of Functional Foods*, 48: 37–42.
- Atasoy, Ö.B., Erbaş, O. 2017. Melatonin hormonunun fizyolojik etkileri. *FNG & Bilim Tip Dergisi*, 3 (1): 52–62.
- Bajwa, V.S., Shukla, M.R., Sherif, S.M., Murch, S.J., Saxena, P.K. 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*, 56: 238–245.
- Bergmeyer, N., 1970. *Methoden Der Enzymatischen Analyse*, Akademie Verlag, Berlin, pp. 636–647.
- Bonnefont-Rousselot, D., Collin, F. 2010. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology*, 278: 55–67.
- Boccalandro, H.E., Gonzalez, C.V., Wunderlin, D.A., Silva, M. F. 2011. Melatonin levels, determined by LC-ESI-MS/MS, fluctuate during the day/night cycle in *Vitis vinifera* cv. Malbec: evidence of its antioxidant role in fruits. *Journal of Pineal Research*, 51: 226-232.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1): 248-254.
- Burkhardt, S., Tan, D.X., Manchester, L.C., Hardeland. R., Reiter, R.J. 2001. Detection and quantification of the antioxidant melatonin in Montmorency and Balaton tart

- cherries (*Prunus cerasus*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 4898–4902.
- Byeon, Y., Park, S., Kim, Y.S., Park, D.H., Lee S., Back, K. 2012. Light-regulated melatonin biosynthesis in rice during the senescence process in detached leaves. *Journal of Pineal Research*, 53: 107–111.
- Byeon, Y., Back, K. 2014. Melatonin synthesis in rice seedlings in vivo is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyltransferase activities. *Journal of Pineal Research*, 56: 189–195.
- Byeon, Y., Park, S., Lee, H.Y., Kim, Y.S., Back, K.W. 2014. Elevated production of melatonin in transgenic rice seeds expressing rice tryptophan decarboxylase. *Journal of Pineal Research*, 56: 275–282.
- Byeon, Y., Tan, D.X., Reiter, R.J., Back, K. 2015. Predominance of 2-hydroxymelatonin over melatonin in plants. *Journal of Pineal Research*, 59 (4): 448-454.
- Cai, S.Y., Zhang, Y., Xu, Y.P., Qi, Z.Y., Li, M.Q., Ahammed, G.J., Xia, X.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Reiter, R.J. 2017. *HsfA1a* upregulates melatonin biosynthesis to confer cadmium tolerance in tomato plants. *Journal of Pineal Research*, 62, e12387.
- Cardinali, D.P., Pévet, P., 1998. Basic aspects of melatonin action. *Sleep Medicine Reviews*, 2 (3): 175-190.
- Catala, A. 2007. The ability of melatonin to counteract lipid peroxidation in biological membranes. *Current Molecular Medicine*, 7 (7): 638-649.
- Challet, E., Caldelas, I., Graff, C., Pévet, P. 2005. Synchronization of the molecular clockwork by light- and food-related cues in mammals. *Biological Chemistry*, 384: 711–719,
- Chen, G., Huo, Y., Tan, D.X., Liang, Z., Zhang, W., Zhang, Y., 2003. Melatonin in Chinese medicinal herbs. *Life Sciences*, 73: 19–26.
- Chen, Q., Qi, W.B., Reiter, R.J., Wei, W, Wang, B.M. 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *Journal of Plant Physiology*, 166, 324–328.
- Clarke, H.J., Siddique, K.H.M. 2004. Response of chickpea genotypes to low temperature stress during reproductive development. *Field Crops Research*, 90: 323-334.
- Çam, A., Erdoğan, M.F. 2003. Melatonin. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 56: 103-12.

- De La Puerta, C., Carrascosa-Salmoral, M.P., Garcia-Luna, P.P., Lardone, P.J., Herrera, J.L., Fernandez-Montesinos, R. 2007. Melatonin is a phytochemical in olive oil. *Food Chemistry*, 104: 609–612.
- Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C. 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research*, 18: 28–31.
- Engindeniz, S., Yılmaz, İ., Durmuşoğlu, E., Yağmur, B., Eltez, R.Z., Demirtaş, B., Tatarhan, A.H. 2010. Sera sebzelerinin karşılaştırmalı girdi analizi. *Ekoloji*, 19 (74): 122-130.
- Eşiyok, D. 2012. Kışlık ve yazlık sebze yetiştiriciliği. *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü*, Bornova, İzmir, 404s.
- Favero, G., Franceschetti, L., Buffoli, B., Moghadasian, M.H., Reiter, R.J., Rodella, L.F., Rezzani, R. 2017. Melatonin: Protection against age-related cardiac pathology. *Ageing Research Reviews*, 35: 336–349.
- Feng, X., Wanga, M., Zhaob, Y., Hana, P., Ying, D. 2014. Melatonin from different fruit sources, functional roles, and analytical methods. *Trends in Food Science and Technology*, 37 (1): 21–3.
- Fernandez-Mar, M.I., Mateos, R., Garcia-Perilla, M.C., Puertas, B., Cantos-Villar, E. 2012. Bioactive compounds in wine: resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: a review. *Food Chemistry*, 130: 797–813.
- Folkard, S., Arendt, J., Clark, M., 1993. Can melatonin improve shift workers' tolerance of the night shift? Some preliminary findings. *Chronobiology International*, 10 (5): 315-320.
- Frenkel, M., Abrams, D.I., Ladas, E.J., Deng, G., Hardy, M., Capodice, J.L., Winegardner, M.F., Gubili, J.K., Yeung, K.S., Kussmann, H., Block, K.I. 2013. Integrating dietary supplements into cancer care. *Integrative Cancer Therapies*, 12 (5): 369–384.
- Fuhrberg, B., Hardeland, R., Poeggeler, B., Behrmann, G. 1997. Dramatic rises of melatonin and 5-methoxytryptamine in *Gonyaulax* exposed to decreased temperature. *Biological Rhythm Research*, 28: 144–150.
- Gao, W., Zhang, Y., Feng, Z., Bai, Q., He, J., Wang, Y. 2018. Effects of melatonin on antioxidant capacity in naked oat seedlings under drought stress. *Molecules*, 23: 1580.

- Garcia, J.J., Lopez-Pingarron, L., Almeida-Souza, P., Tres, A., Escadero, P., Garcia-Gil, F.A., Tan, D.X., Reiter, R.J., Ramírez, J.M., Bernal-Pérez, M. 2014. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. *Journal of Pineal Research*, 56: 225–237.
- Garrido, M., Paredes, S.D., Cubero, J., Lozano, M., Toribio-Delgado, A.F., Muñoz, J.L., Reiter, R.J., Barriga, C., Rodríguez, A.B. 2010. Jerte valley cherry-enriched diets improve nocturnal rest and increase 6-sulfatoxymelatonin and total antioxidant capacity in the urine of middle-aged and elderly humans. *Journals of Gerontology Series A*, 65 (9): 909–914.
- Hardeland, R., Backhaus, C., Fadavi, A. 2007. Reactions of the NO redox forms NO<sup>+</sup>, NO and HNO (protonated NO<sup>-</sup>) with the melatonin metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine. *Journal of Pineal Research*, 43 (4): 382–388.
- Hardeland, R. 2016. Melatonin in plants – Diversity of levels and multiplicity of functions. *Frontiers in Plant Science*, 7: 198.
- Hattori, A., Migitaka, H., Masayaki, I., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., Hara, M., Suzuki, T., Reiter, R.J. 1995. Identification of melatonin in plant seed its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 627–634.
- Heiser, C.B., Jr, Smith, P.G. 1953. The cultivated capsicum peppers. *Economic Botany*, 7: 214-226.
- Hernández-Ruiz, J., Cano, A., Arnao, M.B. 2004. Melatonin: a growth stimulating compound present in lupin tissue. *Planta*, 220 (1): 140-144.
- Hernández-Ruiz, J., Cano, A., Arnao, M.B. 2005. Melatonin acts as a growth stimulating compound in some monocot species. *Journal of Pineal Research*, 39 (2): 137-142.
- Hernández-Ruiz J, Arnao, M.B. 2008. Distribution of melatonin in different zones of lupin and barley plants at different ages in the presence and absence of light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10567–10573.
- Hernández, I.G., Gomez, F.J., Cerutti, S., Arana, M.V., Silva, M.F. 2015. Melatonin in *Arabidopsis thaliana* acts as plant growth regulator at low concentrations and preserves seed viability at high concentrations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94: 191-196.
- Herzog, V., Fahimi, H. 1973. Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry*, 55: 554-562.

- Hoppe, H. A. 1981. Breeding vegetable crops. *Industrial Crops and Products*, 9: 63-71.
- Hu, Z., Fan, J., Xie, Y., Amombo, E., Liu, A., Gitau, M.M., Khaldun, A., Chen, L., Fu, J. 2016. Comparative photosynthetic and metabolic analyses reveal mechanism of improved cold stress tolerance in bermudagrass by exogenous melatonin. *Plant Physiology Biochemistry*, 100: 94–104.
- Kang, S., Kang, K., Lee, K., Back, K.W. 2007. Characterization of tryptamine 5-hydroxylase and serotonin synthesis in rice plants. *Plant Cell Reports*, 26: 2009–2015.
- Kang, K., Lee, K., Park, S., Kim, Y.S., Back, K. 2010. Enhanced production of melatonin by ectopic overexpression of human serotonin N-acetyltransferase plays a role in cold resistance in transgenic rice seedlings. *Journal of Pineal Research*, 49: 176–182.
- Karaca, A., 2013. Dışarıdan yapılan melatonin uygulamaları ile biberde çimlenme sırasında üşüme stresine karşı toleransın artırılması. *KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Kahramanmaraş.
- Kolář, J., Macháčková, I., Eder, J., Prinsen, E., Van Dongen, W., Van Onckelen, H., Illnerová, H. 1997. Melatonin: occurrence and daily rhythm in *Chenopodium rubrum*. *Phytochemistry*, 44 (8): 1407-1413.
- Kołodziejczyk, I., Bałabusta, M., Szewczyk, R., Posmyk, M.M. 2015. The levels of melatonin and its metabolites in conditioned corn (*Zea mays* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 105.
- Korkmaz, A., 2005. Inclusion of acetyl salicylic acid and methyl jasmonate into the priming solution improves low temperature germination and emergence of sweet pepper. *Horticultural Science*, 40 (1): 197-200.
- Korkmaz, A., Değer, Ö., Cuci Y. 2014. Profiling the melatonin content in organs of the pepper plant during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, 172: 242–247.
- Korkmaz, A., Karaca, A., Kocaçınar, F., Cuci, Y. 2017. The effect of seed treatment with melatonin on germination and emergence performance of pepper seeds under chilling stress. *Tarım Bilimleri Dergisi/Journal of Agricultural Sciences*, 23 (2): 167-176.
- Köklü, Ş., 2016. Melatoninin biber tohumlarının yaşlanması üzerine etkilerinin incelenmesi. *KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, Kahramanmaraş. 98s.

- Küden, A.B., Küden, A., Paydaş, S., Kaşka N., İmrak, B. 1998. Bazı ılıman iklim meyve tür ve çeşitlerinin soğuğa dayanıklılığı üzerinde çalışmalar. *Turkish Journal of Agriculture ve Forestry*, 22: 101-109.
- Lee, H.Y., Byeon, Y., Tan, D.X., Reiter, R.J., Back, K. 2015. *Arabidopsis* Serotonin N-acetyltransferase knockout mutant plants exhibit decreased melatonin and salicylic acid resulting in susceptibility to an avirulent pathogen. *Journal of Pineal Research*, 58: 291–299.
- Lei, X.Y., Zhu, R.Y., Zhang, G.Y., Dai, Y.R. 2004. Attenuation of cold-induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: the possible involvement of polyamines. *Journal of Pineal Research*, 36: 126–131.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W. 1958. Isolation of melatonin, the pineal factor that lightness melanocytes. *Journal of American Chemical Society*, 80: 2587-2592.
- Li, C., Liang, D., Chang, C., Jia, D., Ma, F. 2015. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66: 669–680.
- Li, H., Chang, J., Zheng, J., Dong, Y., Liu, Q., Yang, X., Wei, C., Zhang, Y., Ma, J., Zhang, X. 2017. Local melatonin application induces cold tolerance in distant organs of *Citrullus lanatus* L. via long distance transport. *Scientific Reports*, 7: 40858.
- Li, X., Wei, J.P., Scott, E.R., Liu, J.W., Guo, S., Li, Y., Zhang, L., Han, W.Y. 2018. Exogenous melatonin alleviates cold stress by promoting antioxidant defense and redox homeostasis in *Camellia sinensis* L. *Molecules*, 23: 165.
- Liu, D.D., Sun, X.S., Liu, L., Shi, H.D., Chen, S.Y., Zhao, D.K. 2019. Overexpression of the melatonin synthesis-related gene *SICOMT1* improves the resistance of tomato to salt stress. *Molecules*, 24: 1514.
- Liang, C., Zheng, G., Li, W. 2015. Melatonin delays leaf senescence and enhances salt stress tolerance in rice. *Journal of Pineal Research*, 59: 91–101.
- Liang, D., Nia, Z., Xiaa, H., Xiec, Y., Lva, X., Wang, J., Lina, L., Denga, Q., Luo, X. 2019. Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 246: 34–43.
- Lorenz, O.A., Maynard, D.N. 1988. Knott's handbook for vegetable growers. 3<sup>rd</sup> Edition, Wiley, New York.



- Lyons, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 445-466.
- Ma, K.W., Ma, W. 2016. Phytohormone pathways as targets of pathogens to facilitate infection. *Plant Molecular Biology*, 91: 713–725.
- Macchi, M.M., Bruce, J.N. 2004. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 25: 177-195.
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158.
- Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J., Park, W., Monis, K., Qi, W. 2000. High levels of melatonin in the seeds of edible plants: possible function in germ tissue protection. *Life Sciences*, 67, 3023–3029.
- Martinez, V., Nieves-Cordones, M., Lopez-Delacalle, M., Rodenas, R., Mestre, T.C., Garcia-Sanchez, F., Rubio, F., Nortes, P.A., Mittler, R., Rivero, R.M. 2018. Tolerance to stress combination in tomato plants: New insights in the protective role of melatonin. *Molecules*, 23: 535.
- Murch, S.J., Simmons, C.B., Saxena, P.K. 1997. Melatonin in feverfew and other medicinal plants. *The Lancet*, 350 (9091): 1598-1599.
- Murch, S.J., Saxena, P.K. 2002. Melatonin: A potential regulator of plant growth and development? *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 38 (6): 531-536.
- Murch, S.J., Saxena, P.K. 2006. A melatonin-rich germplasm line of *St John's wort* (*Hypericum perforatum* L.). *Journal of Pineal Research*, 41: 284– 287.
- Murch, S.J., Alan, A.R., Cao, J., Saxena, P.K. 2009. Melatonin and serotonin in flowers and fruits of *Datura metel* L. *Journal of Pineal Research*, 47: 277–283.
- Mukherjee, S., David, A., Yadav, S., Baluška, F., Bhatla, S.C. 2014. Salt stress-induced seedling growth inhibition coincides with differential distribution of serotonin and melatonin in sunflower seedling roots and cotyledons. *Physiologia Plantarum*, 152: 714–728.
- Nawaz, M.A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R.J., Niu, M., Hameed, S. 2016. Melatonin: current status and future perspectives in plant science. *Frontiers in Plant Science*, 6: 1230.
- Nawaz, M. A., Jiao, Y., Chen, C., Shireen, F., Zheng, Z., Imtiaz, M., Huang, Y. 2018. Melatonin pretreatment improves vanadium stress tolerance of watermelon seedlings by reducing vanadium concentration in the leaves and regulating

- melatonin biosynthesis and antioxidant-related gene expression. *Journal of Plant Physiology*, 220: 115–127.
- Ni, J., Wang, Q., Shah, F.A., Liu, W., Wang, D., Huang, S., Fu, S., Wu, L. 2018. Exogenous melatonin confers cadmium tolerance by counterbalancing the hydrogen peroxide homeostasis in wheat seedlings. *Molecules*, 23: 799.
- Okazaki, M., Ezura, H. 2009. Profiling of melatonin in the model tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar Micro-Tom. *Journal of Pineal Research*, 46: 338–343.
- Okazaki, M., Higuchi, K., Hanawa, Y., Shiraiwa, Y., Ezura, H. 2009. Cloning and characterization of a *Chlamydomonas reinhardtii* cDNA arylalkylamine N-acetyltransferase and its use in the genetic engineering of melatonin content in the Micro-Tom tomato. *Journal of Pineal Research*, 46 (4): 373–382.
- Oladi, E., Mohamadi, M., Shampur, T., Mostafavi, A. 2014. Spectrofluorimetric determination of melatonin in kernels of four different pistacia varieties after ultrasound-assisted solid-liquid extraction. *Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132: 326–329.
- Ölmez, E., Şahna, E., Ağkadir, M., Acet, A. 2000. Melatonin: emeklilik yaşı 80 olur mu?. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 7 (2): 177–187.
- Özçelik, F., Erdem, M., Bolu, A., Gülsün, M. 2013. Melatonin: genel özellikleri ve psikiyatrik bozukluklardaki rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 5 (2): 179-203.
- Özden, M., Demirel, U., Kahraman, A. 2009. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Scientia Horticulturae*, 119 (2): 163-168.
- Özgüner, F., Özçankaya, R., Delibaş, N., Koyu, A., Çalışkan, S. 1995. Melatonin ve klinik önemi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2: 1-6.
- Palaoğlu, Ö.S., Beşkonaklı, E. 1998. Pineal gland and aging. *Turkish Journal of Geriatrics*, 1(1): 13–18.
- Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X. Reiter, R.J. 2009. Phytomelatonin: a review. *Journal of Pineal Research*, 60: 57-69.
- Park, S., Back, K. 2012. Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. *Journal of Pineal Research*, 53: 385–389.
- Park, S., Le, T.N.N., Byeon, Y., Kim, Y.S., Back, K. 2013. Transient induction of melatonin biosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) during the reproductive stage. *Journal of Pineal Research*, 55: 40-45.

- Poeggeler, B., Hardeland, R. 1994. Detection and quantification of melatonin in a dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*: solutions to the problem of methoxyindole destruction in non-vertebrate material. *Journal of Pineal Research*, 17 (1): 1-10.
- Posmyk, M.M., Corbineau, F., Vinel, D., Bailly, C., Come, D. 2001. Osmoconditioning reduces physiological and biochemical damage induced by chilling soybean seeds. *Physiologia Plantarum*, 111: 473–482.
- Posmyk, M.M., Kuran, H., Marciniak, K., Janas, K.M. 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *Journal of Pineal Research*, 45: 24–31.
- Posmyk, M.M., Janas, K.M. 2009. Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 1–11.
- Posmyk, M.M., Balabusta, M., Wieczorek, M., Sliwinska, E., Janas, K.M. 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research*, 46 (2): 214-223.
- Pratap, V., Sharma, Y.K. 2010. Impact of osmotic stress on seed germination and seedling growth in black gram (*Phaseolus mungo*). *Journal of Environmental Biology*, 31: 721-726.
- Rahman, M.K., Nagatsu, T., Sakurai, T., Hori, S., Abe, M., Matsuda, M. 1982. Effect of pyridoxal phosphate deficiency on aromatic L-amino acid decarboxylase activity with L-DOPA and L-5-hydroxytryptophan as substrates in rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 32: 803-811.
- Ramakrishna, A., Giridhar, P., Sankar, K.U., Ravishankar, G.A. 2012. Melatonin and serotonin profiles in beans of *Coffea* species. *Journal of Pineal Research* 52: 470–476.
- Reiter, R.J. 1991. Pineal melatonin: Cell biology of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, 12: 151–181.
- Reiter, R.J. 1999. Phytochemicals: Melatonin. In: Frances FJ, ed. Encyclopedia of food science and technology, New York: *John Wiley*, 1918–1922.
- Reiter, R.J., Tan, D.X., Burkhardt, S., Manchester, L.C. 2001. Melatonin in plants. *Nutrition Reviews*, 59: 286–290.
- Reiter, R.J., Manchester, L.C., Tan, D.X. 2005. Melatonin in walnuts: Influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition*, 21: 920–924.
- Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C., Simopoulos, A.P., Maldonado, M.D., Flores, L.J., Terron, M.P. 2007. Melatonin in edible plants (phytomelatonin);

- Identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 97: 211–230.
- Riga, P., Medinab, S., García-Floresb, L.A., Gil-Izquierdob, A. 2014. Melatonin content of pepper and tomato fruits: Effects of cultivar and solar radiation. *Food Chemistry*, 156: 347–352.
- Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., Reiter, R.J. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36 (1): 1-9.
- Sarropoulou, V., Dimassi-Therioru, K., Therios, I., Koukourikou-Petridou, M., 2012. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* x *Prunus cerasus*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 61: 162–168.
- Saltveit, M.E., Morris, L.L. 1990. Overview of chilling injury in horticultural crops. *Chilling Injury of Horticultural Crops*, Eds: C.Y. Wang, ss. 3-15, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Seely, D., Wu, P., Fritz, H., Kennedy, D.A., Tsui, T., Seely, A.J. 2012. Melatonin as adjuvant cancer care with and without chemotherapy: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Integrative Cancer Therapies*, 11 (4): 293-303.
- Sevgican, A. 1999. Örtüaltı Sebzeçiliği. Cilt I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No:528. ISBN 975-483-384-2, İzmir.
- Sharif, R., Xie, C., Zhang, H., Arnao, M.B., Ali, M., Ali, Q., Muhammad, I., Shalmani, A., Nawaz, M.A., Chen, P., Li, Y. 2018. Melatonin and its effects on plant systems. *Molecules*, 23: 2352.
- Shi, H., Tan, D.X., Reiter, R.J., Ye, T., Yang, F., Chan, Z. 2015a. Melatonin induces class A1 heat shock factors (*HSF1s*) and their possible involvement of thermotolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 58: 335–342.
- Shi, H., Jiang, C., Ye, T. 2015b. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of Experimental Botany*, 66: 681–694.
- Shulaeva, V., Cortesa, D., Miller, G., Mittler, R. 2008. Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, 132: 199-208.
- Simopoulos, A.P., Tan, D.X., Manchester, L.C., Reiter, R.J. 2005. Purslane: a plant source of omega-3 fatty acids and melatonin *Journal of Pineal Research*, 39: 331–332.

- Stewart, F.C., 1991. Academic Press Incorporation. *Plant Physiology*. New York.
- Sun, Q., Zhang, N., Wang, J., Zhang, H., Li, D., Shi, J., Li, R., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S. 2014. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. *Journal of Experimental Botany*, 66: 657–668.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S. 2008. Özel sebzeçilik. *Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, Tekirdağ 448 s.
- Tal, O., Haim, A., Harel, O., Gerchman, Y. 2011. Melatonin as an antioxidant and its semilunar rhythm in green macroalga *Ulva sp.* *Journal of Experimental Botany*, 62: 1903–1910.
- Tan, D.X., Manchester, L.C., Terron, M.P., Flores, L.J., Reiter, R.J. 2007a. One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *Journal of Pineal Research*, 42 (1): 28-42.
- Tan, D.X., Manchester, L.C., Di Mascio, P., Martinez, G.R., Prado, F.M., Reiter, R.J. 2007b. Novel rhythms of N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine and its precursor melatonin in water hyacinth: Importance for phytoremediation. *The FASEB Journal*, 21 (8): 1724-1729.
- Tan, D.X., Manchester, L.C., Liu, X., Sergio, A., Rosales-Corral, S.A., Acuna-Castroviejo, D., Reiter, R.J. 2013. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. *Journal of Pineal Research*, 54: 127–138.
- Tan, D.X., Manchester, L.C., Esteban-Zubero, E., Zhou, Z., Reiter, R.J. 2015. Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: Synthesis and metabolism. *Molecules*, 20 (10): 18886-18906.
- Tang, T., Li, J., Li, H. 2015. Effects of exogenous melatonin on photosynthetic characteristics of eggplant (*Solanum melongena* L.) under cadmium stress. In: *Advances in Engineering Research, Proceedings of the 2015 6th International Conference On Manufacturing Science and Engineering*, Guangzhou, China, 28–29 December 2015; Atlantis Press: Hong Kong, China, Volume 32, pp. 353–356.
- Teixeira, A., Morfim, M.P., De Cordova, C.A.S., Charão, C.C.T., De Lima, V.R., Creczynski-Pasa, T.B. 2003. Melatonin protects against prooxidant enzymes and reduces lipid peroxidation in distinct membranes induced by the hydroxyl and ascorbyl radicals and by peroxynitrite. *Journal of Pineal Research*, 35 (4): 262-268.
- Tettamanti, C., Cerabolini, B., Gerola, P., Conti, A. 2000. Melatonin identification in medicinal plants. *Acta Phytotherapeutica*, 3: 137–144.

- Thakur, P., Kumara, S., Malik, J.A., Berger, J.D., Nayyar, H. 2010. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 429-443.
- Türk, H., Erdal, S., Genişel, M., Atici, O., Demir, Y., Yanmis, D. 2014. The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74: 139–152.
- Uchendu, E.E., Shukla, M.R., Reed, B.M., Saxena, P.K. 2013. Melatonin enhances the recovery of cryopreserved shoot tips of American elm (*Ulmus americana* L.). *Journal of Pineal Research*, 55: 435–442.
- Van Tassel, D.L., Roberts, N., Lewy, A., O'Neill, S.D. 2001. Melatonin in plant organs. *Journal of Pineal Research*, 31: 8–15.
- Vidigal, D. S., Dias, D.C.F.S., Dias, L. A. S., Finger, F.L. 2011. Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. *Scientia Agricola*, 68 (5): 535-539.
- Vitalini, S., Gardana, C., Zanzotto, A., Simonetti, P., Faoro, F., Fico, G., Iriti, M. 2011. The presence of melatonin in grapevine (*Vitis vinifera* L.) berry tissues. *Journal of Pineal Research*, 51 (3): 331–337.
- Vural, H. 1998. Endüstriyel amaçlı sebze üretiminin sorunları, çözüm önerileri. *Ege Bölgesi I. Tarım Kongresi* 7-11 Eylül 1998. Aydın. 1. Cilt 127-131.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü*, Bornova, İzmir, 440s.
- Wang, Y.M., Jin, B.Z., Ai, F., Duan, C.H., Lu, Y.Z., Dong, T.F., Fu, Q.L. 2012. The efficacy and safety of melatonin in concurrent chemotherapy or radiotherapy for solid tumors: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 69 (5): 1213-20.
- Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D., Ma, F. 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research*, 54: 292–302.
- Wang, L., Zhao, Y., Reiter, R.J., He, C., Liu, G., Lei, Q., Zuo, B., Zheng, X.D., Li, Q., Kong, J. 2014. Changes in melatonin levels in transgenic ‘Micro-Tom’ tomato overexpressing ovine *AANAT* and ovine *HIOMT* genes. *Journal of Pineal Research*, 56: 134–142.
- Wolf, K., Kolář, J., Witters, E., Van Dongen, W., Van Onckelen, H., Machackova, I. 2001. Daily profile of melatonin levels in *Chenopodium rubrum* L. Depends on photoperiod. *Journal of Plant Physiology*, 158 (11): 1491-1493.

- Wei, W., Li, Q.T., Chu, Y.N., Reiter, R.J., Yu, X.M., Zhu, D.H., Zhang, W.K., Ma, B., Lin, Q., Zhang, J.S., Chen, S.Y. 2015. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66: 695–707.
- Xu, X. D. 2010. Effects of exogenous melatonin on physiological response of cucumber seedlings under high temperature stress. *Thesis For Master's Degree, Northwest A&F University, Yangling Shanxi, China.*
- Xu, W., Cai, S.Y., Zhang, Y., Wang, Y., Ahammed, G.J., Xia, X.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., Reiter, R.J. 2016. Melatonin enhances thermotolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants. *Journal of Pineal Research*, 61: 457–469.
- Yakupoğlu, G. 2016. Patlıcan (*Solanum melongena* L.)’da Melatonin içeriğinin ve üşüme stresine karşı etkisinin belirlenmesi. *KSÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Bölümü, Doktora Tezi*, 103s.
- Yakupoğlu, G., Köklü, Ş., Karaca, A., Düver, E., Klicic, A., Korkmaz, A. 2018. Changes in melatonin content of pepper seeds during storage. VIII International Symposium on Seed, Transplant and Stand Establishment of Horticultural Crops. 12-16 Aug. 2018, Istanbul, Turkey, (basımda).
- Yang, X.L., Xu, H., Li, D., Gao, X., Li, T.L., Wang, R. 2018. Effect of melatonin priming on photosynthetic capacity of tomato leaves under low-temperature stress. *Photosynthetica*, 56 (3): 884-892.
- Yang, W.J., Du, Y.T., Zhou, Y.B., Chen, J., Xu, Z.S., Ma, Y.Z., Chen, M., Min, D.H. 2019. Overexpression of *TaCOMT* improves melatonin production and enhances drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 652.
- Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B., Wang, X. 2016. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38: 48.
- Zhao, Y., Tan, D.X., Lei, Q., Chen, H., Wang, H., Li, Q., Gao, Y., Kong, J. 2012. Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. *Journal of Pineal Research*, 55: 79–88.
- Zhao, D., Yu, Y., Shen, Y., Liu Q., Zhao, Z., Sharma, R., Reiter, R.J. 2019. Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants. *Frontiers in Endocrinology*, 10: 249.

- Zhang, J.H., Huang, W.D., Liu, Y.P., Pan, Q.H. 2005. Effects of temperature acclimation pretreatment on the ultrastructure of mesophyll cells in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Jingxiu) under cross-temperature stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47 (8): 959-970.
- Zhang, L., Jia J., Xu, Y., Wang, Y., Hao, J., Li, T. 2012. Production of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants expressing melatonin synthetase genes and their effect on UV-B-induced DNA damage. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 48: 275–282.
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z.C., Ren, S., Guo, Y.D. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 54: 15–23.
- Zhang, H.J., Zhang, N., Yang, R.C., Wang, L., Sun, Q.Q., Li, D.B., Cao, Y.Y., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S., Guo, Y.D. 2014. Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA<sub>4</sub> interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 57 (3): 269-79.
- Zhang, Y., Xu, S., Yang, S., Chen, Y. 2017. Melatonin alleviates cold-induced oxidative damage by regulation of ascorbate–glutathione and proline metabolism in melon seedlings (*Cucumis melo* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92: 313–324.
- Zuo, B., Zheng, X., He, P., Wang, L., Lei, Q., Feng, C., Zhou, J., Li, Q., Han, Z., Kong, J. 2014. Overexpression of *MzASMT* improves melatonin production and enhances drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of Pineal Research*, 57: 408–41.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı: Elif DÜVER

Uyruğu: TC

Doğum yeri ve tarihi: Oğuzeli, 27.03.1994

Medeni Hali: Bekâr

Yabancı Dil: İngilizce

### Öğrenim Durumu

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Ziraat Mühendisliği	KSÜ, Bahçe Bitkileri Bölümü	2016
Y. Lisans	Ziraat Mühendisliği	KSÜ, Bahçe Bitkileri Bölümü	2019

### Görev Aldığı Projeler

2. Biberde tohum melatonin içeriği ile üşüme stresi koşulları altında çimlenme ve çıkış performansı arasında ilişkinin araştırılması **BAP, 2018 (2018/2-16 YLS )**

### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler**

1. Yakupoğlu, G., Köklü, Ş., Karaca, A., Düver, E., Klicic, A., Korkmaz, A. 2018. Changes in melatonin content of pepper seeds during storage. VIII International Symposium on Seed, Transplant and Stand Establishment of Horticultural Crops, **12-16 August 2018, Istanbul, Turkey (basımda)**

2. **Düver, E.**, Köklü, Ş., Havan, A., Karaca, A., Korkmaz, A. ve Yakupoğlu, G. 2018. Biberde tohum melatonin içeriği ile üşüme stresi koşulları altında çimlenme ve çıkış performansı arasında ilişkinin araştırılması 5. Ulusal Tarım Kongresi, **06-08 Eylül 2018, Bursa, (poster).**

2. **Düver, E.**, Köklü, Ş., Havan, A., Karaca, A., Korkmaz, A., ve Yakupoğlu, G. 2018. Biberde tohum melatonin içeriği ile üşüme stresi koşulları altında çimlenme ve çıkış performansı arasında ilişkinin araştırılması Niğde Tohumculuk Kongresi **10-13 Eylül 2018, Niğde, (sunu).**

### İletişim Bilgileri:

Adres: Beştepe Mah. 19015 Nolu Cad. Bazoğlu Yapı Sit. No:8/A İçkapı:38

Tel: 05392122621

e-posta: elif.duver@gmail.com