



T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİ ÜZERİNE JASMONİK ASİT  
TUZLULUK ETKİLEŞİMLERİNİN GEN İFADESİ VE ANTiOKSİDANT  
ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Ceren OĞUZ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY  
MAYIS-2019**



T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİ ÜZERİNE JASMONİK ASİT  
TUZLULUK ETKİLEŞİMLERİNİN GEN İFADESİ VE ANTİOKSİDANT  
ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**CEREN OĞUZI**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY**

**MAYIS 2019**

21.06.2019

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Ceren OĞUZ

## ÖZET

### **BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİ ÜZERİNE JASMONİK ASİT TUZLULUK ETKİLEŞİMLERİNİN GEN İFADESİ VE ANTIOKSİDANT ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Buğday (*Triticum aestivum* L cv. Karahan- 99, Kınacı- 97) fidelerinde tuz, jasmonik asit (JA), Tuz-JA etkileşimleri incelenmiştir. Kök ve sürgün boyu, kök ve sürgün kuru ağırlıkları, kök ve sürgün yaş ağırlıkları, klorofil a (kla), klorofil b (klb), toplam klorofil (kl a+b) miktarı, prolin birikimi, katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) antioksidant enzim aktiviteleri, abiyotik stres olan tuzluluk stresinin varlığında aktive olan TaMYB73, TaSRG, TaERF1 genlerinin ifadesi RT-PCR ile belirlenmiştir. Her iki buğday çeşidinde de kök ve sürgün boyu, kök ve sürgün kuru ağırlıkları kök ve sürgün yaş ağırlıkları, kla, klb, toplam klorofil miktarı tuz uygulamasıyla azalırken, Tuz+JA uygulamasıyla tüm uygulamalarda iyileşme gözlenmiştir. Tuz uygulamasıyla prolin birikimi, antioksidan enzimleri (CAT, GR), TaMYB73, TaSRG VE TaERF gen ifadelerinde artış gözlenmiştir.

Jasmonik asit uygulamasının tuzluluk stresinin olumsuz etkilerinin giderilmesinde özellikle Karahan-99 buğday çeşidinde etkili olduğu belirlenmiştir.

2019, 54 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Buğday, antioksidan enzim aktiviteleri, tuz, jasmonik asit.

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF JASMONIC ACID SALT INTERACTIONS ON GENE EXPRESSION AND ANTIOXIDANT ENZYMES ON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) SEEDLINGS

Salt, jasmonic acid, salt- jasmonic acid and their interactions were investigated on the wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.cv Karahan-99, Kinacı-97). Root and shoot length, root and shoot dry weight, root and shoot fresh weight, chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a+b content, proline content, Catalase (CAT), Glutation Reductase (GR) antioxidant enzyme activities, expression of activated TaMYB73, TaSRG, TaERF1 genes in the presence of abiyotic stress, salinity stress was determined by RT-PCR. In both wheat cultivars, root and shoot length, root and shoot dry weights, root and shoot age weights, kla, klb, total chlorophyll amount decreased with salt application, while salt + JA application was improved in all applications. Increased proline accumulation, antioxidant enzymes (CAT, GR), TaMYB73, TaSRG and TaERF gene expression were observed with salt application.

It was determined that the application of jasmonic acid was effective in removing the negative effects of salinity stress, especially in Karahan-99 wheat cultivars.

2019, 54 page

**Key Words:** Wheat, antioxidant enzyme activities, salt, jasmonic acid.

## TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazımı esnasında yönlendirici katkılarıyla bana destek olan danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Nuray ERGÜN'e teşekkürlerimi sunarım.

Moleküler analizlerimin yapılmasında yardım aldığımız Uzman Biyolog Canan KETRE'ye, istatistiksel analizlerde de yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Aziz GÜL'e, ve Dr.Öğr.Üyesi Cenk GÜNER'e, laboratuvarını kullanımımıza açan Prof. Dr. Deniz YILDIZ'a, yüksek lisans tezimde maddi olarak 17YL.009 no'lu proje ile destek sağlayan HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, bu yola birlikte başladığımız biyolog Fatma YÜRÜK'e ve biyolog Oğuz SOYLU'ya, laboratuvar çalışmalarında cesaretlendirici tutumuyla biyolog Mehmet Ali LEYLA'ya, çalışmaların her aşamasında bana destek olan yüksek biyolog Özge OKTAY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tüm eğitim, öğretim hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm inançla bugünlere gelmemi sağlayan çok değerli aileme ve varlıklarıyla bana hep güç katan sevgili eşime, çocuklarım Hasan Asaf'a ve Beşir'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	11
3.1. Materyal	11
3.2. Yöntemler	11
3.2.1. Bitki Yetiştirme Koşulları	11
3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümleri	12
3.2.3. Kuru Madde Tayini	13
3.2.4. Klorofil Analizi	13
3.2.5. Enzim Analizleri	13
3.2.5.1. Glutasyon Redüktaz (GR) Analizi	13
3.2.5.2. Katalaz (CAT) Analizi	13
3.2.6. Serbest Prolin Analizi	14
3.3. Gen İfadelerinin Tespiti	14
3.3.1 RT-PCR hazırlık aşamaları	14
3.3.2 Total RNA İzolasyon	14
3.3.3 Ters Transkripsiyon	15
3.3.4 Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR (Q-PCR) Protokolü	15
3.4. İstatistiksel Analizler	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	17
4.1. Abiyotik stres koşullarının bitki büyümesi üzerine etkileri	17
4.1.1. Kök Gelişimine Etkisi	17
4.1.2. Sürgün Gelişimine Etkisi	20
4.1.3. Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi	22
4.1.4. Antioksidant Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	24
4.1.5. Serbest Prolin Miktarı Üzerine Etkisi	26
4.1.6. Gen İfadelerinin Sonuçları	27
4.1.6.1 TaMYB73 Gen Sonuçları	28
4.1.6.2 TaSRG Gen Sonuçları	29
4.1.6.3 TaERF1 Gen Sonuçları	29
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	31

KAYNAKLAR  
ÖZGEÇMİŞ  
EKLER

33  
37  
38





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama kök boyundaki değişmeler .	18
Şekil 4.2.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama kök taze ağırlığındaki değişmeler	19
Şekil 4.3.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama kök kuru ağırlığındaki değişmeler	20
Şekil 4.4.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama sürgün boyundaki değişmeler	20
Şekil 4.5.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişmeler	21
Şekil 4.6.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişmeler	22
Şekil 4.7.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama klorofil-a miktarındaki değişmeler	23
Şekil 4.8.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama klorofil-b miktarındaki değişmeler	23
Şekil 4.9.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama klorofil a+b miktarındaki değişmeler	24
Şekil 4.10.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama katalaz aktivitesindeki değişmeler	25
Şekil 4.11.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama glutasyon redüktaz aktivitesindeki değişimler	26
Şekil 4.12.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin serbest prolin miktarındaki değişimler	27
Şekil 4.13.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin TaMYB73 gen miktarındaki değişimler	28
Şekil 4.14.	Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin TaSRG gen miktarındaki değişimler...	29

Şekil 4.15. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin TaERF1 gen miktarındaki değişimler .....30



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Çalışmamızda kullanılan tuzluluk koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları ürün büyüklükleri.....	27
Çizelge 5.1	Korelasyon analizi .....	53



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

CAT	: Katalaz
cDNA	: Komplementer deoksiribonükleik asit
GR	: Glutasyon Redüktaz
g	: Gram
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
JA	:Jasmonik Asit
mg	:Miligram
Na	:Sodyum
NaCl	:Sodyum Klorür
OH	:Hidroksil Radikali
RT-PCR	:Real Time Polimeraz Chain Reaction (Gerçek Zamanlı Poli Reak. Zinciri)
ROT	:Reaktif Oksijen Türleri
SOD	:Süperoksit Dismutaz
T.A	:Taze Ağırlık
TaERF1	: <i>Triticum aestivum</i> Ethylene Responsive Factor
TaMYB	: <i>Triticum aestivum</i> Putative Transcription Factor
TaSRG	: <i>Triticum aestivum</i> Salt Response Gene
µmol	: Mikromol

## 1. GİRİŞ

Buğday (*Triticum*); buğdaygiller (*Poaceae*) ailesinden gelen, tüm dünyada ıslahı yapılan, insan beslenmesinde kullanılan en temel gıda maddesidir.

Buğday her türlü toprak koşullarında, ılıman iklimlerden ekvatorial iklimlere kadar çok geniş bir coğrafyada yetiştirilmektedir (Özberk ve ark., 2016). Fakat en optimal gelişim gösterip en bol ürünü verdiği şartlar nisbi nemin %60, yıllık yağışın 350-1150 mm, sıcaklığın ise 5-10 °C olduğu durumlardır.

Buğday tek yıllık, hermafrodit bir bitkidir. Beyaz, sarı, esmer, açık sarı gibi farklı renklerde tane renkleri mevcuttur. Tane rengini tohum kabuğundan alır. Tane uzunluğu 3-8 mm, genişliği ise 1,5-4 mm arasında değişebilmektedir.

Buğday tanesinin ortalama bileşiminde; %70 karbonhidrat, %12 su, %12 protein (lisin, treonin, aspartik asit, valin, alanin gibi amino asitler), %2 yağ, %2,2 selüloz, %1,8 madensel maddeler (thiamin-B1 vitamini, nikotonik asit, pentotenik asit, B3 vitamini, tokoferol- E vitamini, Fe, Ca, Zn) bulunur. Buğdayın böylesine yüksek besin değerlerini içinde barındırması nüfusun beslenmesinde önemli bir yer tutar (Kotancılar,1995).

Etnobotanikle yapılan çalışmalar sonucunda ise evin siva yapımında ekmeklik buğday saplarının kullanıldığı (Koçyiğit ve Özhatay, 2009), kerpice karıştırılarak kerpiç ev yapımında kullanıldığı (Akan ve ark., 2008), ekmeklik buğday kepeğininse romatizmaya karşı haricen ağrı kesici olarak kullanıldığı (Kültür, 2007) bildirilmiştir.

Buğday ekmeğın hammaddesi olması nedeniyle dünyadaki pek çok insanın ihtiyaç duyduğu protein ve enerji ihtiyacının büyük bir kısmını karşılamaktadır (Kızılaslan, 2004). Buğdayın çevre koşullarına adaptasyon yeteneğinin yüksek, işlenmesi, taşınması ve depolanmasının ise kolay olması sayesinde kültür bitkileri arasında ilk sırada ekimi yapılırken, tahıl üretimde ise buğday, mısır ve çeltikten sonra gelmektedir (Kılıç, 2012; Naneli,2015).

Abiyotik strese maruz kalan kültür bitkilerinin ürün verimi yarıya düşmektedir (Zhu, 2001). Toprak tuzluluğu kurak ve yarı kurak bölgelerde görülen abiyotik stres faktörüdür (Abdulhadi, 2017).

Tuzluluğun oluşum sebepleri; primer (doğal) tuzluluk, sekonder tuzluluk olarak incelenir. Primer tuzluluğa iklimsel etmenler, ana kayanın ayrışması, tuz deposu okyanuslar neden olurken, sekonder tuzluluğa ise tarım alanlarının aşırı sulanmasıyla,

tuz miktarının yoğun olduğu yer altı sularının toprak yüzeyine çıkması ve bilinçsiz otlatma neden olmaktadır (Çulha, 2011). Tuzluluk sorununa nitratlar, sülfatlar, klorürler, bikarbonatlar, karbonatlar neden olmaktadır (Akgül, 2003).

Yaşam döngülerini tuzlu topraklarda sürdüren, en iyi büyümelerini aşırı tuzlu alanlarda yapabilen bitkilere halofit (Halo; tuz) denirken (Korkmaz, 2017), tuzlu topraklara uyum sağlayamayan bitkilere ise glikofitler denir.

Halofitler tuz stresinin etkilerinden korunmak için bazı metabolik reaksiyonlar geliştirirler. Örneğin yoğun miktarda bulunan tuzu enerji harcayarak vakuolde biriktirirler; böylece sitoplazmadaki enzimlerin yapısı zarar görmemiş olur (Flowers, 1977).

Sukkulentler ise dokularına tuz alarak tuz stresine cevap verirler. Bazı bitki türleri ise tuzu bünyelerine almayarak, toksit etkisi olmayan gliserol, prolin, galaktosil, betain, glisin gibi aminoasitleri sentezleyip bunları ozmoregülatör olarak kullanırlar (Chen ve Murata, 2008).

Tuz konsantrasyon eşiğini geçince osmotik basıncın artması nedeniyle glikofitler, organlarına su iletiminde zorluk yaşar (Yıldız, 2014). Bitkinin yapraklarında renksizlik, bitki kuru ağırlığında azalma, büyümede durulma, kök büyümesinde gerileme ve bodurluk ortaya çıkarken, tomurcuk oluşumu azalır, kalite düşer, meyveler küçük kalır. Yaprığın kenarlarında ise yaprak yanıklığı, nekroz(sarı lekeler) oluşur (Kadioğlu, 2011).

Bunun yanında karbonat, sodyum ve klorid gibi iyonların miktarında artışın olması bitkide glikozitler üzerinde toksit etki yaparak, protein sentezinde, enzim aktivitesinde azalmalar görülür (Yıldız, 2014). DNA mutasyonu ve protein denatürasyonu meydana gelir. Hücre ve organel zar yapısının bozulması fotosentez ve solunum gibi biyokimyasal olayların aksamasına neden olur (Çulha,2011).

Bunlar gibi pek çok metabolik aktiviteyi etkileyen tuz stresinde su alımı yetersizliği süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, Reaktif Oksijen Türleri (ROS) oluşumuna neden olmaktadır (Parida, 2005).

Bitkiler ROS'lerden hücreyi korumak için, glutatyon, askorbat, karotenoid gibi antioksidanları, glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), peroksidaz (POX), süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidatif enzimler kullanmaktadırlar (Yılmaz, 2011).JA ise tuz stresinden kaynaklanan ROS'ların oluşumunu engellemek için antioksidan enzimlerinin

aktivitelerini arttırarak buğday fidelerini tuz stresinin hasarından korumaktadır (Qiu Z., ve ark., 2014).

Bitkisel hormon olan JA (3-oxo-2-(2'-cis-pentenyl)-cyclopentane-1-acetic-acit)) yasemin bitkisinden elde edilmiştir. Hoş kokulu olduğundan parfüm sanayisinde kullanılır (Korkutal, 2015). Alfa-linolenik asitten, lipoksig2enaz enzim vasıtasıyla sentezlenir (Delker C., 2006). JA bitki büyüme, gelişme ve savunmasını düzenlemek adına endojen üretimindeki artış biyotik ve abiyotik çevresel sinyallerle tetiklenir. JA birincil kök büyümesi, üreme gelişim, yaprak yaşlanması gibi bitki gelişim fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alır (Huang, 2017).

Çalışmamızda kuraklık ve soğuğa dayanıklı Karahan-99 ve kuraklığa duyarlı Kınacı-97 buğday fide çeşitlerinde yapılan tuz uygulamasının neden olduğu stresi ortadan kaldırmada JA uygulamasının etkili olup olmadığı araştırılmıştır.

Strese bağlı fizyolojik değişikliklerin genotiplerdeki ilişkisi incelenerek, tuz toleransında rol oynayan genlerin tespit edilmesi zararın engellenebilmesi açısından önemlidir. Bu nedenle tez çalışmamızda Tuz-JA uygulamasına maruz kalan buğday (*Triticum aestivum* L. Karahan-99 ve Kınacı-97) fidelerinin kök- sürgün, yaş ağırlıkları, kuru ağırlıkları, boy uzunlukları, klorofil miktarları, antioksidan enzim miktarları (CAT, GR), prolin miktarları ve TaERF, TaSRG, TaMYB73 transkripsiyon faktörlerinin RT-PCR metoduyla incelenerek belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Buğday Tarihçesi ve Tarımsal Önemi

10 bin yıl önce Mezopotamya Bölgesinde buğdayın yer aldığı, ülkemizin Güneydoğu Anadolu Bölgesinden dünyaya yayıldığı, ilk defa kültüre alındığı coğrafya olarak belirtildiğinden buğday ülkemiz açısından büyük önem taşır (Vavilov,1987; Özberk ve ark, 2016).

Kültüre alınan buğdaylar kromozom sayısına göre 3 gruba ayrılır.

#### **Buğday (Triticum, 2n= 14, 28, 42)**

1. Diploid grubu (AA) - Kaplıca- Siyez Buğday (*Triticum monococcum*, 2n=2x=14)
2. Tetraploid grubu (AABB) – Makarnalık, Sert Buğday (*Triticum durum*, 2n= 4x=28)
3. Hekzaploid grubu (AABBDD) – Ekmeklik Buğdaylar (*Triticum aestivum*, 2n= 6x= 42)  
(Feldman ve ark.1988)

Modern buğday bu 3 genomdan köken almaktadır. (Atar, 2017)

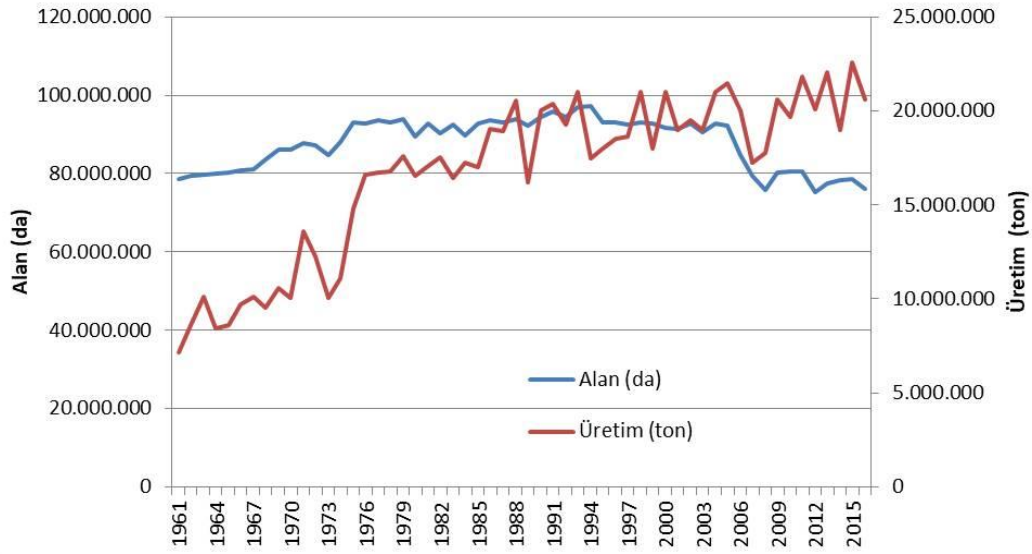
A genom vericisi (donörü): *T. urartu* Thumanjn ex Gandilyan (Urartu buğdayı)

B genom donörü: *Ae. Speltoides* (Ak buğdayanası)

D genom donörü: *Ae. Tauschii* .(Tespah buğdayı)

Birleşmiş Milletler verilerine göre halihazırda dünya nüfusu 7,6 milyardır. 2030 yılında dünya nüfusunun 8,6 milyar, 2050 yılında ise 9,8 milyar olacağı tahmin edilmektedir. Artan nüfus gıda ihtiyacını da beraberinde getirmektedir.





Şekil 2.1. Türkiye buğday ekim alanı ve üretim miktarı

Türkiye’de 1961 yılından 2018 yılına kadar buğdayın ekim alanı azalmış, üretim miktarı ekim alanına kıyasla artmıştır (zmo.org). Yıllık buğday üretimi tüketimi karşılayabilecek düzeydedir. Fakat bitkileri etkileyen biyotik stres faktörleri (bitkiler, mikroorganizmalar, hayvanlar, antropogenik etkiler) ve abiyotik stres faktörleri (su, gaz, radyasyon, sıcaklık, mekanik etkiler, mineraller) üretimi etkisi altına almıştır (Çulha, 2011; Larcher, 1995).

Levitt (1980) stres kavramını fizik dalında kullanılan bir terimden türeterek, biyoloji alanında kullanımını sağlamıştır. Levitt’e göre stres canlı organizmalar için uygun olmayan çevresel koşullar olarak tanımlanmıştır. Lichtenthaler (1996)’a göre stres; Bitkinin metabolizmasını, büyümesini veya gelişmesini etkileyen, kısa süreli veya uzun süreli olabilen, bitki ve hücrenin ölümüne yol açmayan herhangi olumsuz durum veya madde olarak tanımlanmıştır.

## 2.2. Tuzlulukla İlgili Çalışmalar

Öncel ve Keleş (2002), tuz stresine maruz bırakılan 2 buğday türünün 6 genotipini incelemiş, kök ve sürgün büyümesinin büyük oranda engellendiğini, toplam klorofil, klorofil a, klorofil b miktarının ise azaldığını, klorofil a/b oranının ise buğday çeşitlerine

göre değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Prolin miktarının ise arttığını gözlemlemişlerdir.

Yaşar ve ark. (2008), tuz stresi uygulanan karpuz genotiplerinde antioksidan enzim (CAT, GR, SOD, APX) aktivitelerinin tepkisini test etmişlerdir.. Tuzun zararlı etkilerinden sakınmak için özellikle tuza toleranslı olan karpuzlarda enzim aktivitelerinin arttığını gözlemlemişlerdir.

Yakıt (2006), mısır bitkisinin DKC 647 çeşidi üzerinde çalışma yapmış, tuz uygulamasıyla prolin aminoasit oranının artması sayesinde bitki savunma mekanizmasının aktifleştüğünü, oluşan osmotik dengesizliğinin ise bitkinin yeterli su ve besin alamayışından ötürü kök ve sürgün kuru ağırlıklarında azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir. Tuz stresine giren mısır bitkisi makro besin elementlerini (N, P, Ca, K, Mg) yeterince alamayınca klorofil miktarının ise olumsuz etkilendiğini belirtmişlerdir.

Yıldız (2014), tuz stresinin gen ekspresyon, proteom ve metabolom değişikliklerinin incelemiştir. Tuz stresi altında proteomik (organizma veya dokunun genomu) çalışmalarla ROT savaşçısı olarak SOD miktarında artışın olduğunu göstermektedir. Organellerden H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi uzaklaştırmak içinse katalaz enzim (CAT) miktarı ve Glutatyon S- transferaz miktarı tuz stresinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi H<sub>2</sub>O'ya indirgeyerek miktarlarında artış olduğunu gözlemlemiştir.

Yılmaz (2011), yoğun tuzlu ortamlarda yetişen bitkilerde; Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyonlarının artışı görülürken, Mg<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup> Ca<sup>+2</sup> iyonlarının düzeylerinde ise azalışın görülmesi, enzimatik olaylarla, bazı proteinlerin sentezinin engellenmesine, bunun yanı sıra tuzun grana membranlarında yığılmasına, tilakoidlerin büzülmesine, klorofillerin parçalanmasına, kloroplastların azalmasına neden olduğunu belirtmiştir. Tuz stresisiyle oluşan su eksikliği ROT ( süperoksit O<sub>2</sub><sup>-</sup>, hidroksil radikalleri OH<sup>-</sup>, hidrojen peroksit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>)'ların oluşumuna neden olduğunu, bitkilerin ROT'lardan hücreyi korumak için, katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR), peroksidaz (POX) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimleri ve glutatyon, karotenoid, askorbat gibi antioksidanları kullanır. Tuz stresinde transkripsiyon aktivatörleri (ERF, MYB, MYC, BZIP) genlerin promotör bölgelerinde bulunan cis-actin ile etkileşime girdiği bu sayede stresi tolere edebilen gen ürünlerini oluşturulmasını sağladığını belirtmiştir.

Duran ve arkadaşları (2010), 4 farklı makarnalık buğday (*Triticum durum* Desf.) çeşitleri üzerinde, iki farklı tuz konsantrasyonunda inceleme yapmışlardır. Genotiplerde

tuzluluğun, bitki kuru madde miktarı ve kök uzunluğu düşüşünün önemli olduğunu belirtmişlerdir ( $p < 0,01$ ). NaCl uygulanan tüm genotiplerdeyse klorofil ve karotenoid renk değişimleri tespit edilmiş, klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil miktarında düşüş gözlemlenmiştir.

Demiroğlu Topçu (2016), kamışsı yumak ve mavi ayrık bitkileri üzerinde 3 farklı tuz dozunun çimlenme ve erken gelişim dönemlerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlamıştır. Yapılan çalışmada tuz dozlarının artışıyla beraber, çimlenme hızlarının azalıp, toksit iyonların hücre gelişimini engelleyip boy uzunluğu, kuru –yaş biyokütlesinde ve sap çapında ise azalmalara neden olduğunu belirtmiştir.

Doğan (2015) 9 çeşit makarnalık buğday üzerinde tuz stresi uygulanan çalışmada kökçük uzunluğu, sapçık uzunluğu, çimlenme oranları, sapçık kuru ağırlıkları, kökçük kuru ağırlıklarının tümünün tuz uygulamalarından olumsuz etkilendiklerini varyans analizi sonuçlarıyla göstermiştir.

Korkmaz (2017), bitkilerin abiyotik strese karşı vermiş oldukları tepkileri incelemiştir. NaCl yoğunluğu fazla olan ortamlarda fizyolojik kuraklığın oluştuğunu, bitkilerin hayatta kalmak için enzimlerin yapısını bozmayan betain, prolin gibi ozmoregülatörleri üreterek, osmotik basıncı yükseltmeyi amaçladıklarını belirtmiştir.

### **2.3 Jasmonik Asit İle İlgili Yapılan Çalışmalar**

Zhao (2014), topraktaki yüksek tuzluluk seviyeleri, iyon toksisitesine ve osmotik strese neden olduğundan bitkide hücre hasarına ve büyümenin durmasına yol açtığını belirtmiştir. Tuz stresi ROS (reaktif oksijen türleri)'lerin üretilmesini sağlar. ROS'un etkisiyle peroksitlenebilen lipitler arasında  $\alpha$ -linolenik asit, jasmonik asitin sentezlenmesinde substrat oluşturduğu için dikkat çekmiştir.  $\alpha$ -linolenik asidin tuzluluk stresiyle indüklendiğini ve tuzluluk toleransını arttırdığını bu etkinin ortaya çıkması için AtMYC2 varlığının gerekli olduğu bildirmiştir.

Kumlay (2011), yasemin bitkisinden (*Jasminum grandifolium* L.) adını alan jasmonik asit (3-oxo-2-(2'-cis-pentenyl)-cyclopentane-1-acetic-acid)  $\alpha$ -linolenik asitten sentezlendiğini ve yaklaşık olarak 206 bitki türünde JA'in varlığının saptandığını, özellikle bitkinin zarar görmesi hâlinde tepki genlerinin oluşmasını sağladığını belirtmiştir. JA'in ayrıca; bitkilerdeki kök gelişimini, patatesten yumrulaşmayı, etilen

sentezini teşvik ettiğini ekzojen olarak uygulanan metil jasmonatın ise sebze ve meyvelerin bozulmadan muhafaza edilebilmelerine katkı sağladığını belirtmiştir.

Huang (2017) lipit kaynaklı fitohormonlardan olan jasmonatların bitki büyüme, gelişme ve savunmasının etkilerini incelemiştir. JA ve bunun türevleri dahil tüm jasmonatların biyotik (otçul saldırısı veya patojen enfeksiyonu gibi) ve abiyotik (UV ışınları, yüksek sıcaklıklar, donma gibi) tüm stresleri tolere etmede temel büyüme düzenleyicisi olarak görev aldığını, kök büyümesi, çiçeklenme ve yaprak yaşlanması gibi gelişim süreçlerini düzenlediğini, ayrıca büyümeyi inhibe ederken savunmayı teşvik eden koruyucu fonksiyonlar sergileyerek bitkilerin doğal ortamlarda hayatta kalma fırsatını arttırdığını bildirmiştir.

El-Esawi (2016), JA'in bitki gelişim ve savunmasındaki sinyal iletim yolu üzerine yaptığı çalışmada, JA'lerin çevresel uyarılara göre sentezlendiğini belirtmiştir. Jasmonatların bitki üreme ve büyümesinde anahtar rol oynadığını çiçek gelişimi, meyve olgunlaşması, büyüme inhibisyonu, trikom oluşumuna katkı sağladığını, MYB24 ve MYB21 tarafından ercik uzaması, anter gelişimine aracılık ettiğini biyotik ve abiyotik strese karşı sinyalleme mekanizmasıyla da mahsulün iyileştirilmesine katkı sağladığını bildirmiştir.

Hickman (2017), *Arabidopsis thaliana* üzerinde 16 saatlik süre boyunca 15 farklı zaman dilimlerinde yüksek çözünürlüklü metil JA (MeJA) aracılığıyla dinamik gen düzenleme konusunda araştırma yapmıştır.

Bitkiler hayatta kalabilmek için etkili bir savunma sistemi geliştirerek sinyalleşme ağı geliştirmişlerdir. Fitohormon olan JA ve türevleri bu ağdaki ana düzenleyicilerdir. Çoğunlukla böcek otçuluğuna ve patojenlerin neden olduğu enfeksiyona tepki olarak sentezlenirler. İstilacı yokluğunda ise JA seviyeleri düşük olduğundan JA'ya yanıt veren gen ekspresyonunun aktivasyonu da, transkripsiyon faktörlerine bağlanan JAZ ailesinin baskılayıcı proteinleri ile kısıtlanır. Saldırı durumunda TF'leri (transkripsiyon faktörleri) JAZ baskısının serbest bırakılıp JA'te cevap veren gen ekspresyonunun indüklenmesine yol açar. TF'ler transkripsiyonel ağın ana itici gücü olduğundan TF'lerin haritasının çıkarılması önemlidir. bHLH, ERF ve MYB TF ailelerinin üyelerini en fazla kodlayan genlerdir. JA ise bu gen ekspresyonunun başlangıcına hükmetmektedir. Stres durumunda bHLH, ERF, MYB genlerinin aşırı temsil edildiği belirtilmiştir.

He (2002), Arabidopsis yaprak senesansında jasmonik asidin rolünü incelemiştir. JA'din tohum çimlenmesi, polen gelişimi, böcek yaralanması, patojen enfeksiyonu, kuraklık stresi gibi birçok faktörde bitki düzenleyicisi olarak görev aldığını belirtmiştir.

Mir (2018), mısır fidelerinde Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gibi alkali tuzlarının oluşturduğu strese karşılık JA iyileştirici rolünü incelemiştir. JA aşırı miktardaki Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>'ün oluşturduğu toksit etkileri azalttığını, Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve malondialdehit miktarını azaltıp oksidatif hasarı önlediklerini aynı zamanda prolin ve glutatyon içeriğinin tuz bağlı artışını önlediğini, antioksjen enzim sistem aktivitelerini düzenlenerek Na alımını engelleyerek alkali toleransının arttırdığını belirtmiştir. Alkali stres; kurak ve yarı kurak ortamlarda görülen en önemli çevresel stres kaynağıdır. Yüksek oranda toprakta biriken Na, Na/K dengesizliğine neden olur. İdeal tuz seviyesinden yüksek pH toksit olduğundan fotosentez ve tüm fizyolojik biyokimyasal olaylar olumsuz etkilenir. Ayrıca yüksek alkali tuz oranı, su ihtiyacının oluşmasına neden olarak iyonik stresle birlikte osmotik stresin oluşmasına neden olur. Bu da hidroksil radikalleri (OH<sup>-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ve süperoksit anyonlarını (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), oluşturarak Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'lerinin üretimini hızlandırarak oksidatif hasara yol açar. Bitki hücreleri oksidatif stresin üstesinden gelmek için katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX) gibi bileşikler biriktirmektedir. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> muamelesi yapılan mısır yapraklarında bitki boyu, yaprak uzunluğu, sürgün ve kök uzunluğu, yaş ve kuru ağırlıklar, fotosentetik pigmentler olumsuz etkilenirken prolin miktarında artış olduğunu, JA uygulaması yapılan fidelerde ise stresin olumsuz etkilerinin hafifletildiği belirtilmiştir.

Kang (2005), JA uygulanan iki farklı pirinç çeşidinde JA'din sadece patojen streste iyileştirici etkilerinin olmadığı tuz ve su stres faktörlerinde de koruma mekanizmalarını devreye sokup, kök uzunluğunun morfolojik değişikliklerini, kuru ağırlıkları, fotosentez hız ve iyon alım gücü gibi fizyolojik özelliklerin iyileştirilmesinde rol oynadığını belirtmişlerdir. Tuz stresine tepki olarak JA gibi ABA (Absisik Asit)'ninde biriktiğini ve K<sup>+</sup> aktivitesini düzenlediğini belirtmişlerdir.

Rezai (2013), biber verimi tuzluluk stresinde %14 azalması üzerine biber'de NaCl'nin oluşturduğu tuz stresini hafifletmede MeJA rolünü araştırmışlardır. NaCl stresli bitki fidelerinde MeJA'nın biber büyüme hızını değiştirerek klorofil içeriği, bitki boyu, kök kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök çapı gibi morfolojik özelliklerinde pozitif

korelasyona sahip olduğunu, stresin olumsuz etkilerini en aza indirebilecek etkilerinin olduğunu belirtmiştir.

Poustini (2007), 30 buğday türünde tuz stresinin oluşturduğu prolin biriminin tolerans farklılıklarını incelemiştir. Tuza duyarlı buğday türlerinde prolin miktarı 27,4 kat, tuza dayanıklılarda ise 5,2 kat arttığını belirtmiştir. Ancak prolin miktarındaki artış bitkide tuz stresinin etkilerine karşı koruyucu bir rol oynamadığını, prolinin osmotik ayarlamaya neredeyse hiç katkı yapmadığını, prolin birikiminin  $K^{+}$ 'a bağlı stres sonucu ortaya çıkmak yerine  $Na^{+}$ 'a tepki olarak oluştuğunu bu nedenle sadece stres yaralanma semptomu olduğunu belirtmiştir.

Shahzad (2011), jasmonatlar doğal olarak bulunan oksilipinlerdir. Jasmonatlar kök gelişimi, tohum çimlenmesi, yaşlanma gibi fizyolojik süreçlerde yer alırken, böcek ve patojenlerin saldırılarına karşı savunma tepkilerine katılırlar. Patojen veya stres durumunda proteinleri indüklemektedirler. JA miktarı tuz ve su stresinde arttığını belirtmiştir.

Koç ve Üstün (2008), stres durumlarında bitkilerdeki savunma sistemlerini ve antioksidanları incelemiştir. Yaşam için gerekli olan serbest radikallerin üretimi normal koşullarda bitki içerisinde düzenlenmektedir. Fakat çevresel streslerle antioksidanlar ile ROS'lar yani serbest radikaller arasındaki denge bozularak DNA mutasyonları, protein denatürasyonları gibi oksidatif hasarlar oluşmaktadır. Biyotik veya abiyotik stres durumunda toksik miktarda ROS üretimi hem hücrenin hasar görmesine hem de antioksidanların oluşması için sinyal görevini görmesine neden olmaktadır.  $H_2O_2$ 'nin plazma membranına bağlanmasıyla da JA sentezlenmesi aktive olurken, JA savunma genlerini uyarır. Antioksidanlar hücrelerde lipid, karbonhidrat, protein ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önler. Enzimatik antioksidanlar olan CAT, GR, Askorbat peroksidaz (APX) hücreyi korumak ve ROS'u ortadan kaldırmak için üretilir.  $H_2O_2$ 'yi serbest oksijen ile  $H_2O$ 'ya dönüştürürler.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### 3.1 Materyal

#### 3.1.2 Materyallerin temini

Bu çalışmada bitki materyali olarak buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Karahan-99 ve Kınacı-97) tohumları kullanılmıştır. Araştırmada buğday tohumları Ekiz Tohumculuk Tarım ve Gıda LTD. ŞTİ Konya'dan temin edilmiştir.

Karahan-99 çeşidi soğuğa, kuraklığa ve yatmaya dayanıklıdır. Paslara, راستیға, sürmeye ve kök çürüklüğüne orta dayanıklıdır.

Kınacı-97 çeşidi ise soğuğa dayanıklıyken, kuraklığa ise duyarlıdır.

### 3.2. Yöntemler

#### 3.2.1. Bitki Yetiştirme Koşulları

Buğday fidelerinin yetiştirilme sürecinde seçilen tohumlar %2' lik sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisinde 20 dakika bekletilerek steril edilmiştir. Steril edilen tohumlar distile su ile iyice yıkanmıştır. 170°C'de 1 saat otoklavda steril edilmiş petrilere, tohumlar şişmesi için 2 saat distile su içinde bekletilir.

Steril edilmiş petrilere nemlendirilmiş filtre kâğıdı arasına 10'ar şişmiş tohum bırakılarak 24±2 °C'lik inkübatörde karanlık ortamında 48 saat çimlendirilmiştir. 1. gün sonunda petrilere 10'ar ml steril su bırakılır.

Hipoklorid çözeltisiyle steril edilen katavaların içine 4 cm kalınlığında perlit dökülür. Perlitlerin üstüne çimlenen tohumlar tek tek ekilir. Üzerine tekrar perlit serpilerek 5 gün boyunca yaklaşık 300 ml su ile sulanır. Tohumlar 24±2 °C' lik iklim odasında kontrollü olarak yetiştirilir. Beşinci günün sonunda fideler perlitten kökleri zarar görmeyecek şekilde çıkarılır. Fidler pH'ı 5,7'de sabitlenen, içinde Arnon-Hoagland besin çözeltisi bulunan plastik kaplara alınır. Kapaklarında 5 delik bulunan plastik kapların içine fideler yerleştirilirken, deliklerden bir tanesi havalandırma amacıyla boş bırakılır. 3 tekrarlı 24 plastik kap iklim odasına alınır.

Besin çözeltilisinin içine haftada üçer kez  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve Tartarik Asit eklenir.  $24/16^\circ\text{C}$ 'de 12 saat gündüz/ 12 saat gece koşullarında iklim odasında saksıların yerleri saat yönünde tesadüfi değiştirilerek yetiştirilir. Beşinci günün sonunda saksıların içindeki besin çözeltilisi dökülerek yenileri eklenir. Kontrol grupları hariç diğer kaplara uygulamalar yapılır.

- 1. Grup (Karahah-99 Kontrol):** Kontrol grubundaki fideler su kültürüne alındığı günden itibaren hiçbir uygulama yapılmamış yetiştirme koşulları 9. güne kadar sabit tutulmuştur.
- 2. Grup (Karahah-99 Tuz):** Fidelere 5. günün sonunda 200mM NaCl uygulaması yapılmıştır.
- 3. Grup (Karahah-99 JA):** Fidelere 5. günün sonunda 50  $\mu\text{M}$  JA uygulaması yapılmıştır.
- 4. Grup (Karahah-99 JA+Tuz):** Fidelere 5. günün sonunda 50  $\mu\text{M}$  JA ve 200mM NaCl uygulaması yapılmıştır.
- 5. Grup (Kınacı-97 Kontrol):** Kontrol grubundaki fideler su kültürüne alındığı günden itibaren hiçbir uygulama yapılmamış yetiştirme koşulları 9. güne kadar sabit tutulmuştur.
- 6. Grup (Kınacı-97 Tuz):** Fidelere 5. günün sonunda 200mM NaCl uygulaması yapılmıştır.
- 7. Grup (Kınacı-97 JA):** Fidelere 5. günün sonunda 50 $\mu\text{M}$  JA uygulaması yapılmıştır.
- 8. Grup (Kınacı-97 Tuz+ JA):** Fidelere 5. günün sonunda 200mM NaCl ve 50 $\mu\text{M}$  JA uygulaması yapılmıştır.

Fideler 16 günlük iken hasat edilir (2 gün petri- 5 gün katava- 5 gün su kültürü- 4 gün su kültürü uygulaması yapılmıştır). Gen analizi için taze sürgün kısımları 0,5 gramlık parçalara ayrılarak steril tüplere koyulur. Ardından hemen sıvı azot bulunun kaplarda bırakılır. Sıvı azottan çıkarılan tüpler strafora(kuru buz) koyularak  $-80^\circ\text{C}$ 'de derin dondurucuda saklanır.

Bitki büyüme ve klorofil ölçümleri ise hasat sonunda taze materyallerden alınarak yapılmıştır.

### 3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümleri



Hasat sonrasında uygulama yapılan fidelerle, normal şartlarda yetiştirilen fideler arasından tesadüfi olarak seçilen 3 fidenin sürgün ve kök boyları cetvelle ölçülmüştür. Ölçümler tamamlandıktan sonra fideler kök- sürgün ayırım bölgesinden kesilmiş, kök-sürgün taze ağırlıkları tartılmıştır.

### **3.2.3 Kuru Madde Tayini**

Hasat sonrası kök-sürgün taze ağırlıkları ölçülen materyaller 110 °C'lik etüvde 24 saat kurutularak kuru ağırlıkları tayin edilmiştir.

### **3.2.4 Klorofil Analizi**

Hasat sonrasında fidelerden 0,5 gramlık taze örnekler alınır. Klorofil ekstraksiyonu için sodyumdihidrojen fosfat tamponu ile %80'lik aseton kullanılarak pH 7,8'e ayarlanır. Hazırlanan fosfat tamponu ve %80'lik aseton ile 750 nm dalga boyunda spektrofotometre sıfırlanır. Taze yaprak materyalleri hazırlanan tamponla havanda ezilerek süzülür. Süzüntü 664 ve 647 nm dalga boylarında klorofil a ve klorofil b ölçümleri spektrofotometrede yapılmıştır. Klorofil miktarları Porra vd (1989) 'a göre belirlenmiştir. Deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

### **3.2.5 Enzim Analizleri**

#### **3.2.5.1 Glutasyon Redüktaz (GR, 1.6.4.2)**

Glutasyon Redüktaz (GR) aktivitesi, (Çakmak ve Marschner 1992) ve (Çakmak 1994)'e göre spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda NADPH oksidasyonu göz önüne alınarak absorbansdaki azalış ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı (1ml), 50mM fosfor tamponu (pH 7,6), 0,1mM EDTA, 0,5mM okside glutasyon (GSSG) 0,12 mM NADPH.Na4 enzim ekstratından oluşmaktadır.

#### **3.2.5.2 Katalaz (CAT, E.C. 1.11.1.6)**

Katalaz aktivitesi (CAT) spektrofotometrede 240 nm'de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in parçalanma oranına bağlı olarak ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı (1ml) , 50 mm fosfor tamponu (pH 7,6) 0,1 mM EDTA, 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstratı bulunmaktadır.

### **3.2.6 Serbest Prolin Analizi**

Serbest prolin analizinde 0,5 g alınan taze sürgün örnekleri 10 ml %3'lük sülfosalisilik asitile havanda ezilerek homojenize edilir. Süzüntü 24 saat buzdolabında +4 °C'de bekletilmiştir. Homojenat Whatman No:2 kâğıtları ile süzülen örnekler cam tüplere aktarılır. 2ml süzüntü örneği üzerine 2 ml ninidrin çözeltisi ve 2 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek 100 °C' lik su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Ardından tüpler oda sıcaklığına alınarak üzerlerine 4 ml soğuk tolüen eklenerek 15-20 sn karıştırılmıştır. Absorbansı 520 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede tolüen fazı prolin standardına karşı ölçülmüştür (Bates ve ark. 1973).

## **3.3 Gen İfadelerinin Tespiti**

### **3.3.1 RT- PCR Hazırlık Aşamaları**

Kontrol grubu ve tuzluluk stresine maruz bırakılan buğday çeşitleri, iklim odasında belirli bir süre yetiştirildikten sonra hasat edilir. Cam şişelere alınan taze sürgün, içinde sıvı azot bulunun kutulara bırakılır. Örnekler -80 °C'de tutularak RNA analizleri yapılmaya kadar saklanmıştır.

### **3.3.2 Total RNA İzolasyonu**

Yaklaşık 1 gr alınan ve küçük parçalara bölünen buğday yaprakları 2 ml'lik tüpe alınmıştır. Numunenin üzerine 500 µl Trizol ve yaklaşık 200 µl 0.5 mm çapında cam boncuk eklenmiş 2 dakika homojenizatörde 7000 rpmde karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 0,2 ml kloroform eklenmiş ve elle 20 saniye çalkalanmıştır. 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Karışım 12000 RCF (G)'de +4 °C'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve üst sıvı temiz tüpe alınmıştır.

Üzerine 500 µl 2-propanol eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 12000 RCF (G)'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazı atılmış ve üzerine 1 ml %75'lik etanol eklenmiş ve vortexle iyice karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 17500 G'de +4 °C'de 5 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant atılmış, geriye kalan fazla alkol pipetle atılmıştır. Dipte kalan pelletin 5-10 dakika kuruması ve alkolün iyice uçması beklenmiştir. Kuruyan pellet 50 µl RNAse - free suda çözülmüştür. Çözünen sıvı 60 °C'de 15 dakika bekletilmiştir. Elde edilen RNA'lardan komplementer DNA (cDNA) sentez edilmiştir.

### 3.3.3 Ters Transkripsiyon (Komplementer DNA (cDNA) Sentezi)

6 µl RNA, 2µl oligo dT ile karıştırılmıştır ve 10 dakika 70 °C'de bekletilmiştir. Karışıma, 4 µl 5x Reaksiyon Tamponu, 1 µl dNTP karışımı, 1 µl ters transkriptaz enzimi ve 6 µl su eklenmiştir. Toplam 20 µl'lik bir karışım elde edilmiştir. Bu karışım 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiş ve elde edilen cDNA'lar -20 °C'de saklanmıştır.

### 3.3.4 Gerçek Zamanlı PCR (Q-PCR)

Farklı streslere maruz bırakılmış 8 farklı buğday örneğinde 3 tekrarlı olarak gen ekspresyon seviyelerini belirlemek için Biospeedy TM Rölatif Sayım Kiti, Türkiye kullanılmıştır.

Kit, Putative transkripsiyon faktörü kodlayan MYB73, ethylene response factor 1 kodlayan ERF1 ve *Triticum aestivum* Salt Response TaSRG genlerini hedef almaktadır.

Hedef genlerin ekspresyon seviyelerini normalize etmek için buğdaylarda protein kodlayan referans gen olarak Actin kullanılmıştır. Kit, referans ve hedef genlere özgü primerleri ve Gerçek Zamanlı PCR reaksiyonunun gerçekleşmesi için gereken enzim ve tamponları içermektedir.

Bütün reaksiyonlarda Roche LC 96 (Roche, İsviçre) Real Time PCR cihazı kullanılmıştır. Reaksiyon 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, 0.1 U Fast Start Taq DNA Polimeraz, 1x EvaGreen, 4 ng/µl kalıp cDNA ve her bir primerden 0.5 µM içermektedir. Cihazda, primer çiftine özgü bağlanma sıcaklıkları (Tablo 1) ve optimizasyonu sağlanmış Tablo 2'de verilen ısı döngüsü programı

uygulanmıştır. Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 65°C -98°C arasında erime eğrisi analizi yapılmıştır. Q-PCR dataları, Roche Light Cycler 96 Software 1.1’de analiz edilmiştir.

### **3.4. İstatistiksel Analizler**

Verileri değerlendirmek için SPSS paket programı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, aritmetik ortalamaları ve standart hataları hesaplanarak değerlendirilmiştir (Apaydın ve ark., 2002). Sonuçta çıkan değerlerin karşılaştırılmasında varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır. Sonuçlar arası farklar, varyanslar arasındaki homojenlik durumuna göre DUNCAN testi ile belirlenmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar Hoagland besin kültüründe yetiştirilen kontrol grubu buğday (*Triticum aestivum* L cv. Karahan-99, Kınacı-97) fideleri ile tuzluluk (200mM) ve JA (50µM) uygulamalarına maruz bırakılan fideler arasındaki farklılıkları belirlemek üzere ele alınmıştır. Deneyde kullanılan buğday fidelerinin kök ve sürgün boyu, kök ve sürgün yaş ağırlığı, kök ve sürgün kuru ağırlığı, klorofil (a, b, a+b), katalaz, glutatyon redüktaz, prolin birikimi ve stres koşullarında ifade edilen TaSRG, TaERF1, TaMYB73, Actin transkripsiyon faktörlerinin RT-PCR analiz sonuçları incelenmiştir.

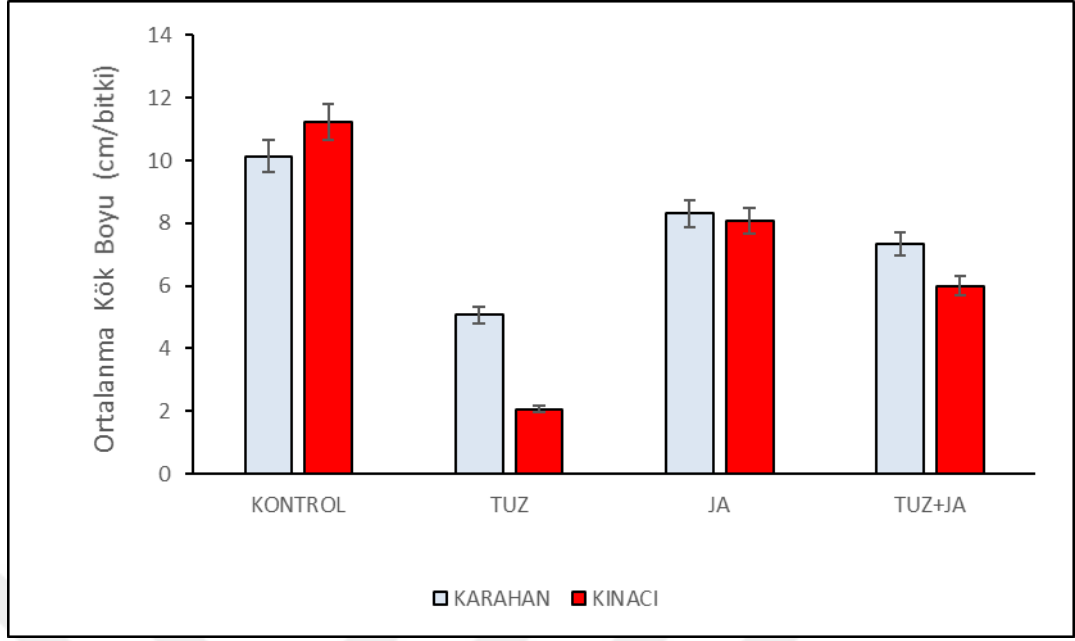
### 4.1. Abiyotik Streslerin Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri

#### 4.1.1. Kök Gelişimine Etkisi

##### 4.1.1.1 Kök Boyuna Etkisi

Yapılan çalışmada *Triticum aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı-97 buğday çeşitleri arasındaki kök boyu farkı ( $p \leq 0,01$ ) önem düzeyine sahiptir. Tuzluluk uygulaması yapılan buğday fidelerinin kök boyu, kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 1). Tuz stresine maruz bırakılan fidelere yapılan JA uygulamasının fidelerin boy gelişimi üzerine %45,86 oranında olumlu etkisi olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ , Ek 1), (Şekil 4.1). Tuz uygulaması kök boy gelişiminde Karahan-99 çeşidi, Kınacı-97 çeşidine göre daha toleranslı görülmüştür.

Aydın ve Atıcı (2015)'nin tuz stresinde yetiştirilen kültür bitkilerinden buğday, domates, mısır ve fasulye çeşitleri üzerinde elde ettiği sonuçlarıyla uyumludur. Önal Aşçı ve Üney (2016) farklı dozlardaki Ege Beyazı-79 macar fiği (*Vicia pannonica* Crontz) çeşidinde kök uzunluğu, kök yaş ve kök kuru ağırlıkları üzerinde çalışmıştır. Tuzun 50 mM'den fazla yoğunluklarındaki uygulamalarında etkisinin artmasıyla olumsuzluklarında arttığını belirtmiştir.

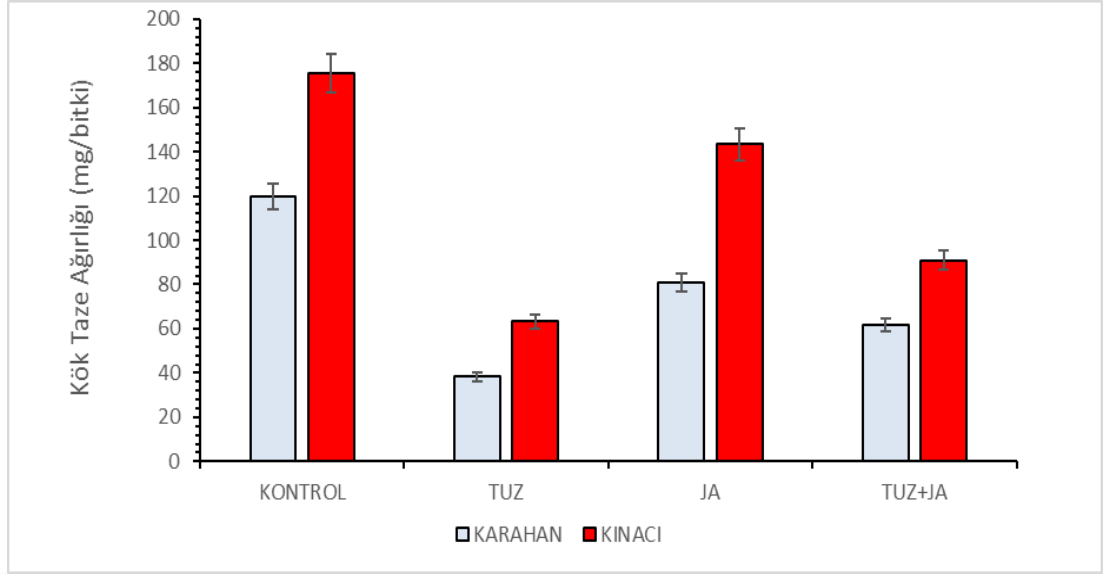


Şekil 4.1. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama kök boyundaki değişimler (cm/bitki)

#### 4.1.1.2 Kök Taze Ağırlığı Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmamızdaki buğday çeşitleri arasındaki kök taze ağırlıkları dikkate değer bir önem düzeyine sahiptir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 2). Tuzluluk stresi her iki buğday çeşidi fidelerinin kök taze ağırlıklarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bu azalma istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ( $p \leq 0,01$ ). JA tuz stresi altındaki Karahan-99 fidelerin kök taze ağırlığında %60, Kınacı-97 fidelerin kök taze ağırlığında ise %44 oranında artış tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Şekil 4.2).

Bu sonuçlar Kıran ve ark. (2017)'nin tuz stresinin 4 patlıcan genotipleri üzerinde çiçeklenme öncesinde yapılan incelemeleriyle uyumludur. Atak (2014), farklı tuz konsantrasyonlarında ekmeklik buğday genotiplerinin artan tuz dozlarıyla birlikte kök taze ağırlıklarının azaldığını belirtmiştir.



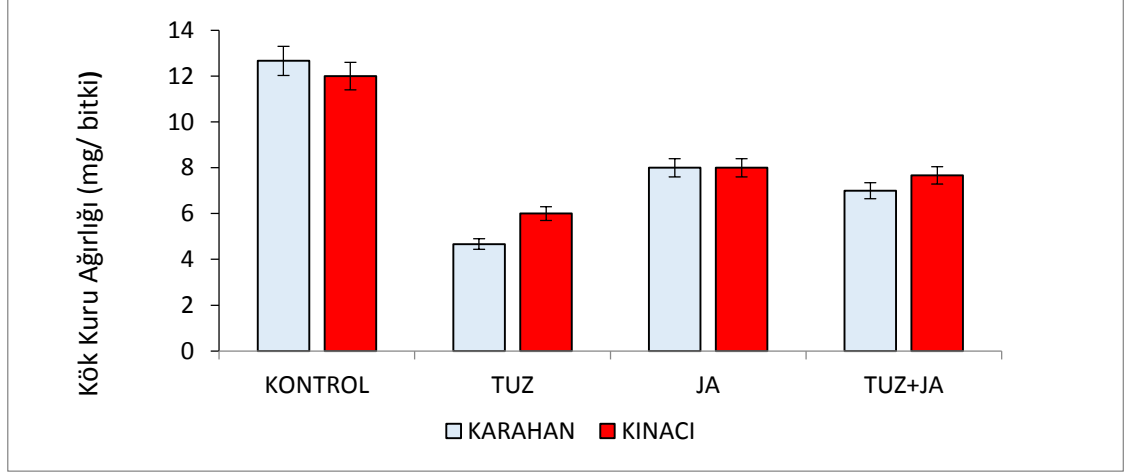
Şekil 4.2. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L.cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama kök taze ağırlığındaki değişimler (mg/bitki)

#### 4.1.1.3 Kök Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi

Her iki buğday çeşidi üzerinde yapılan çalışmamızda tuz stresinin kök kuru ağırlığında Karahan-99 çeşidinde % 70, Kınacı-97 çeşidinde ise %50 oranında  $p \leq 0.01$  düzeyinde azalma meydana gelmiştir (Ek 3). Tuz- JA uygulamasının ise tuzluluk stresine karşı iyileştirici etkisi Karahan-99 buğday çeşidinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Şekil 4.3.).

Yakıt (2006), tuz stresine maruz bırakılan mısır bitkisinde yaptığı çalışmada kontrol grubuna göre kök kuru madde miktarında %30 azalmanın olduğu rapor edilen çalışmasıyla uyumludur.

Tavallali (2019), MeJA, Na iyonlarının alınımını azaltarak tuz stresi altındaki pirinç bitkisinin büyümesini geliştirdiği, hücre zar bütünlüğünü koruyarak, kök kuru miktarını arttırdığını tuz stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini belirtmiştir.

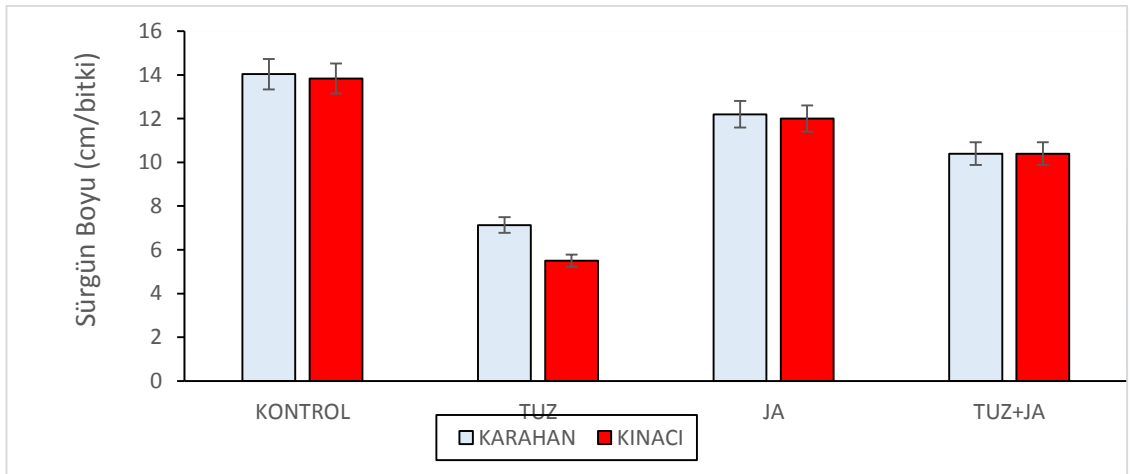


Şekil 4.3. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L.cv Karahan99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama kök kuru ağırlığındaki değişimler (mg/bitki).

#### 4.1.2 Sürgün Gelişimine Etkisi

##### 4.1.2.1 Sürgün Boyu Üzerine Etkisi

Karahan-99 ve Kınacı-97 buğday çeşitleri üzerinde yapılan tuz uygulaması, sürgün boylarında azalmaya sebep olduğu bulunmuştur ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 4). Tuz stresine maruz kalan fidelere JA uygulanarak Karahan-99 fidesinde ortalama sürgün boyunda yaklaşık % 45 oranında artışa neden olurken, Kınacı-97 fidesinde %89 oranında artışa neden olmuştur ( $p \leq 0,01$ ).



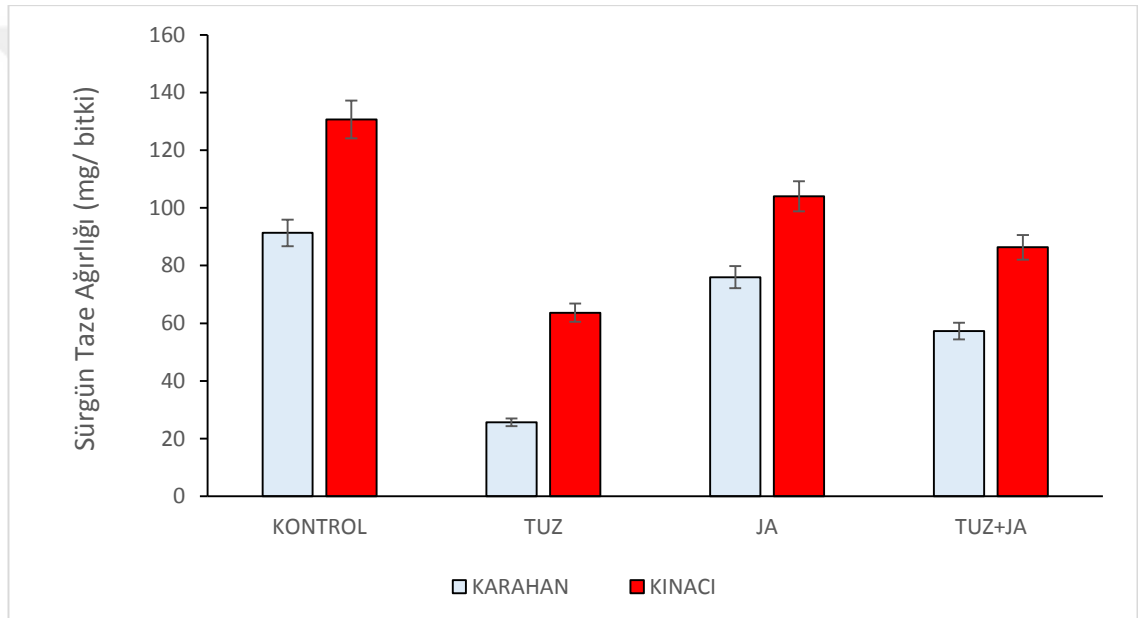
Şekil 4.4. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama sürgün boyundaki değişimler (cm/bitki)



Kiremit (2017), Farklı tuzluluk dozlarındaki Keten'in fide gelişimindeki etkileri incelenmiş olup, tuzluluk seviyesi arttıkça sürgün uzunluğunda %77 oranında azalmanın olduğunu belirtmiştir.

#### 4.1.2.2 Sürgün Taze Ağırlığı Üzerine Etkisi

Çalışmamızda Karahan-99, Kınacı-97 buğday çeşidi fidelerinde tuzluluk stresinin kontrole göre sürgün taze ağırlığında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 5).



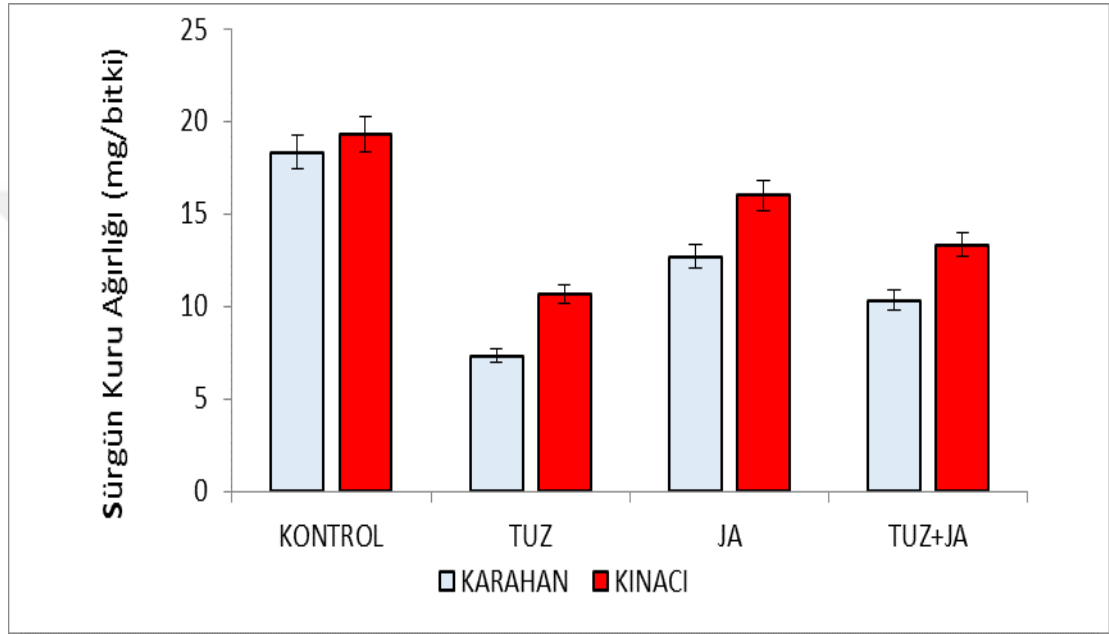
Şekil 4.5. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (mg/bitki)

Tuz stresindeki fidelere yapılan JA uygulamasıyla fidelerin sürgün taze ağırlıklarında artış meydana gelmiştir. Artış oranları Karahan-99 da % 113 iken Kınacı-97 de %35 'tir.

Çetin (2011) 5 farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen Amerikan asma anaçlarının, sürgün yaş ağırlıkları genotiplere ve tuz yoğunluklarına göre değiştiğini belirtmiştir. Tuz konsantrasyonu arttıkça sürgün yaş ağırlıklarının azalma sonuçları çalışmamızın verileriyle uyumludur.

### 4.1.2.3 Sürgün Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi

Strese maruz kalan her iki buğday fidelerinin türlerinde sürgün kuru ağırlığında azalma gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 6). Tuz- JA uygulamasıyla her iki fidede de iyileşme olmasına rağmen Karahan-99 fidesinde bu uygulamanın daha çok etkisi gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Şekil 4.6.).

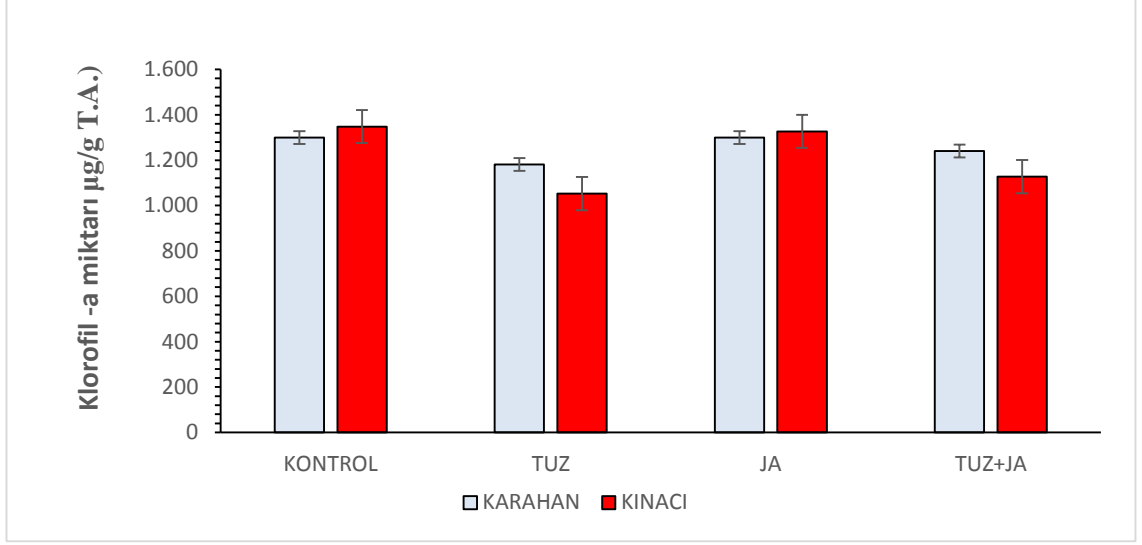


Şekil 4.6. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (mg/bitki)

### 4.1.3. Klorofil Miktarı Üzerine Etkileri

#### 4.1.3.1. Klorofil a

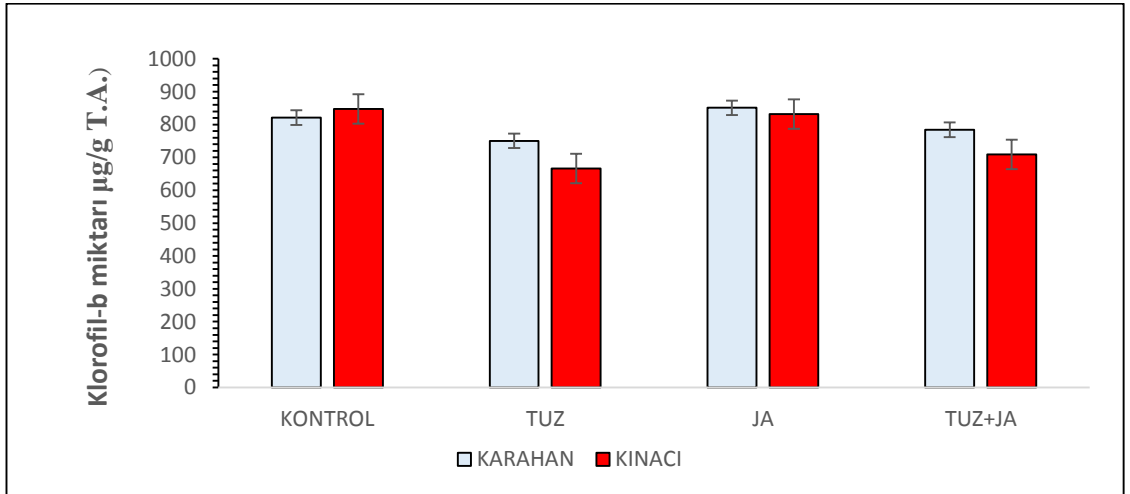
Tuz uygulamasıyla Karahan- 99 buğday fidesinde %10, Kınacı- 97 buğday fidesinde ise %22 azalış gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Ek 7).



Şekil 4.8. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama klorofil-a miktarındaki değişimler (µg/g T.A)

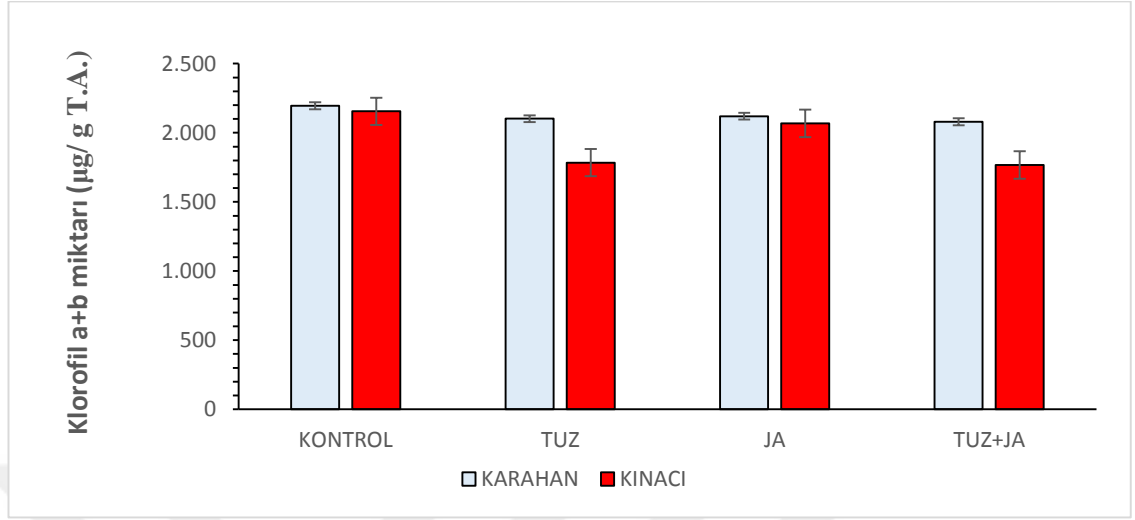
#### 4.1.3.2. Klorofil b

Tuz stresi uygulanan Karahan-99 fidesinde %9, Kınacı-97 fidesinde % 22 oranında klorofil b miktarında kontrole göre azalma gözlenirken ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 8). Tuz+JA uygulamasıyla Karahan-99 fidesinde %4, Kınacı- 97 fidesinde ise % 6 iyileşme tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T.aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama klorofil-b miktarındaki değişimler (µg/g T.A)

#### 4.1.3.3. Toplam klorofil



Şekil 4.9. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Karahan- 99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama klorofil a+b miktarındaki değişimler (µg/g bitki)

Çalışmamızda tuz stresi uygulanan her iki fide çeşidin de de klorofil a, klorofil b, klorofil a+b miktarlarında azalmanın olduğu belirlenmiştir. Tuz stresinden Kınacı- 97 daha fazla etkilenmiştir. Yapılan JA uygulaması neticesinde klorofil miktarlarında her iki çeşit buğday türünde de bir miktar artış tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 9).

Duran ve ark.(2010) fotosentez olayını sağlayan klorofil pigmentleri ışık enerjisini absorbe ederek enerji transferine katılırlar. Tuz stresinde yetiştirilen tüm genotiplerde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarının önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir.

Yılmaz ve Tuna (2011), tuz stresinin klorofil-a, klorofil b ve toplam klorofil miktarında azalmanın klorofil pigmentinin parçalanmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

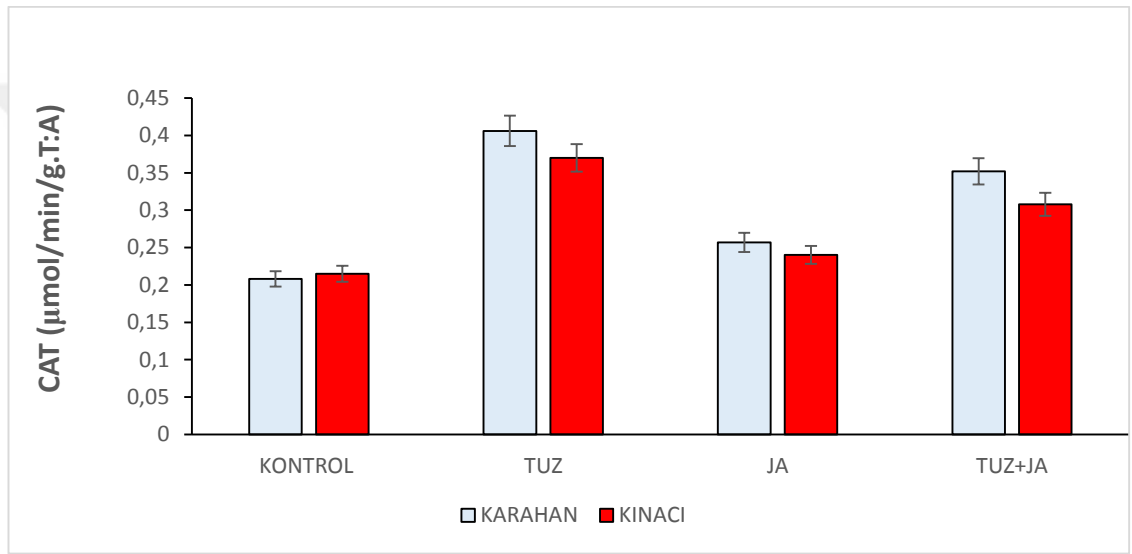
Tavallali (2019), tuz stresinin fotosentez hızı üzerinde oluşturduğu baskılayıcı etkileri JA'in azalttığını belirtmiştir.

#### 4.1.4. Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

##### 4.1.4.1 Katalaz Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmamızda Karahan- 99 buğday çeşidi fidelerinde tuz uygulamasıyla kontrole göre %95,19 oranında, Tuz+JA uygulamasıyla %69,02 oranında katalaz (CAT) enzim aktivitesinde artış tespit edilirken, Kınacı- 97 buğday çeşidi fidelerindeyse tuz uygulamasıyla %72,09 oranında Tuz+JA %43,25 oranında CAT enzim aktivitesinde artış tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 10). JA'in CAT enzim aktivitesini düşürdüğü görülmektedir.

Sarabandi (2019) bor toksisitesinde yetiştirilen iki İran üzüm çeşidinde MeJA'nın uygulanmasıyla katalaz enzim aktivitesinin arttığını gözlemlemiştir.

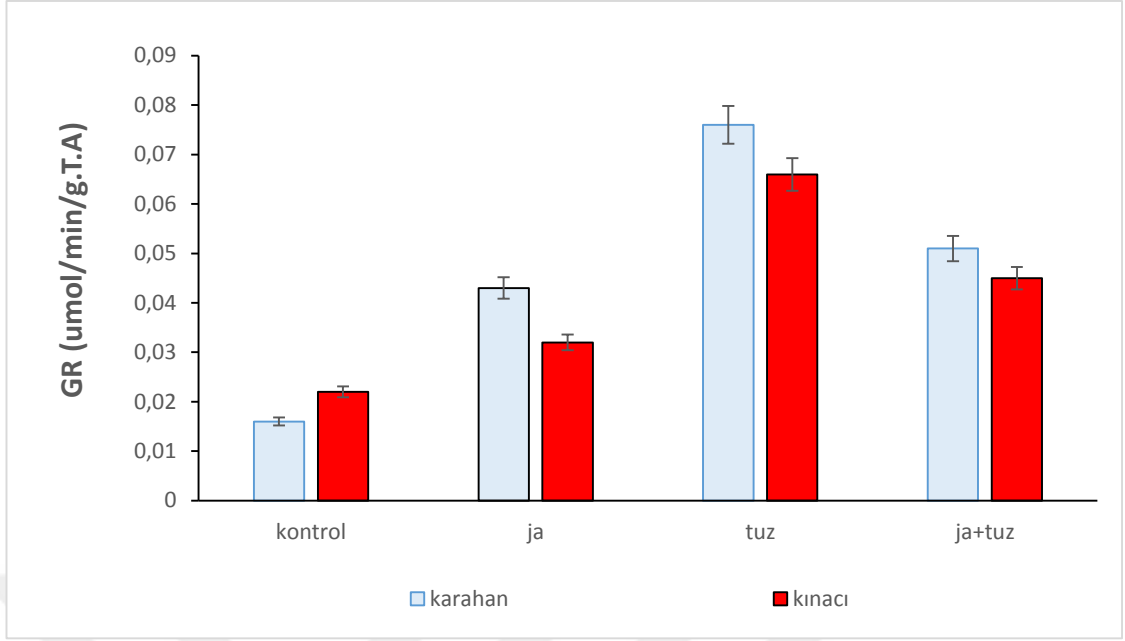


Şekil 4.10. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T. aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama katalaz aktivitesindeki değişimler.

#### 4.1.4.2 Glutatyon Redüktaz Üzerine Etkisi

GR aktivitesinin tuzluluk uygulaması sonucu Karahan-99 çeşidi fidelerinde kontrol grubunda oranla 5 kat, Kınacı-97 fide çeşidindeyse kontrol grubuna göre 3 kat oranında gözle görülür artış olmuştur ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 11). Tuz+JA uygulamasıyla Karahan-99 fide çeşidinde kontrol grubuna kıyasla 3 kat'lık, Kınacı-97 fide çeşidindeyse 2 katlık bir azalma tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ).

Yıldız (2014), tuz stresi altında yetiştirilen bitkilerin metabolik fonksiyonlarını inceleyerek ROS'ların oluşumuna karşı savunma mekanizması olarak CAT, GR, SOD gibi antioksidan enzim aktivitesinde artışların görüldüğünü ifade etmiştir.



Şekil 4.11. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T. aestivum* L. cv.Karahan-99, Kınacı- 97) fidelerinin ortalama glutatyon redüktaz aktivitesindeki değişimler

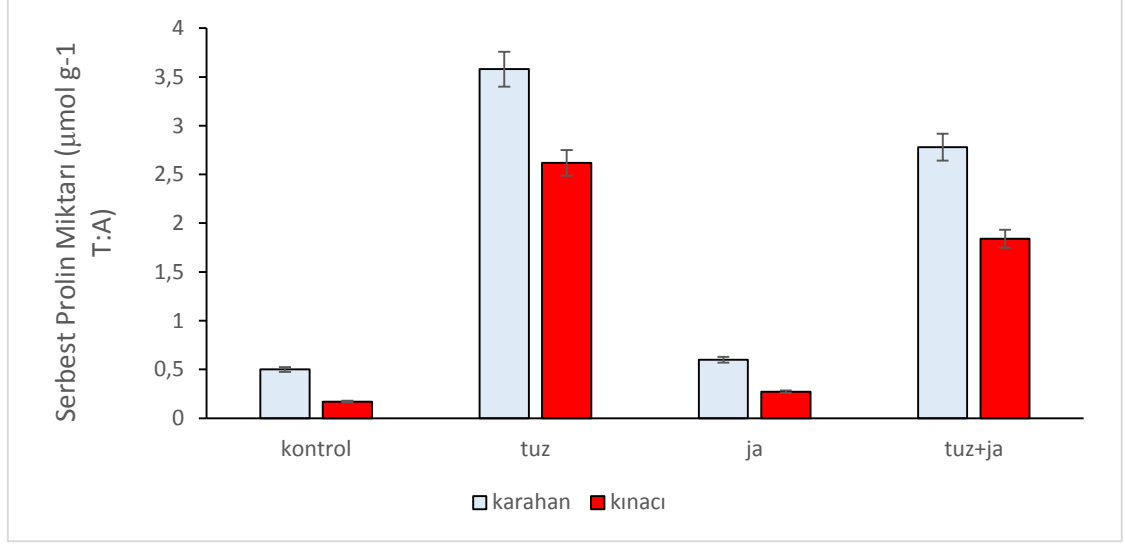
#### 4.1.5. Serbest Prolin Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmada tuz uygulamasının Karahan- 99 çeşidi buğday fidelerinde 7.16 kat, Kınacı- 97 çeşidi buğday fidelerinde 15,41 kat serbest prolin birikimi tespit edilmiştir. Her iki çeşit fidelerde de tuz uygulamasıyla prolin miktarında meydana gelen artış önemli bulunmuştur ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 12). Tuz+ JA uygulamasıyla prolin miktarında azalma gözlenmiştir.

Korkmaz (2017), ozmoregülatör olan prolin proteininin her türlü stres faktörlerine karşı üretilerek, strese tepki olarak biriktirildiğini belirtmiştir.

Doğan ve Avu (2013), serbest  $O_2$  radikallerinin uzaklaştırılmasında prolin aminoasitlerinin görev alması nedeniyle stres şartlarında prolin miktarının arttığını belirtmiştir.

Sarabandi (2019) iki İran üzüm çeşidinde yapılan bor toksisitesinde MeJA'ın uygulanmasıyla her iki kültürün yapraklarında da prolin miktarının azaldığını gözlemlemiştir.



Şekil 4.12. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T. aestivum* L. cv. Karahan- 99, Kınacı- 97) fidelerinin serbest prolin miktarındaki değişimler (n=3)

#### 4.1.6. Gen İfadelerinin Sonuçları

Araştırmamızda gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile yapılan kuantitatif mRNA analizlerinde tuzluluk ve jasmonik asit etkileşiminin *Triticum aestivum* L. cv. Karahan-99 ve Kınacı- 97 çeşidi buğday fidelerindeki mRNA transkripsiyonları incelenmiştir. Abiyotik stresle ilişkili olduğu düşünülen toplamda 3 adet primer kullanılmış olup genlerin dizilimleri ve isimleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Primerlerin ifade olanlarıve RT-PCR analizleri sonuçlarının rölatif (misli ) değerleri grafiklerle gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmamızda kullanılan tuzluluk koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları ve ürün büyüklükleri.

Primer Adı	Sekans (5'-3')	Bağlanma Sıcaklığı C°	Referans
TaSRG-F	GAAGATGGAGGTCAGGGACA	56	Ergün; Kolukırık, 2014
TaSRG-R	AGCTCTTGCTGAGAGGCTTG		
ActinF	GTCGGTGAAGGGGACTTACA	55	Ergün; Kolukırık, 2014
ActinR	TTCATACAGCAGGCAAGCAC		

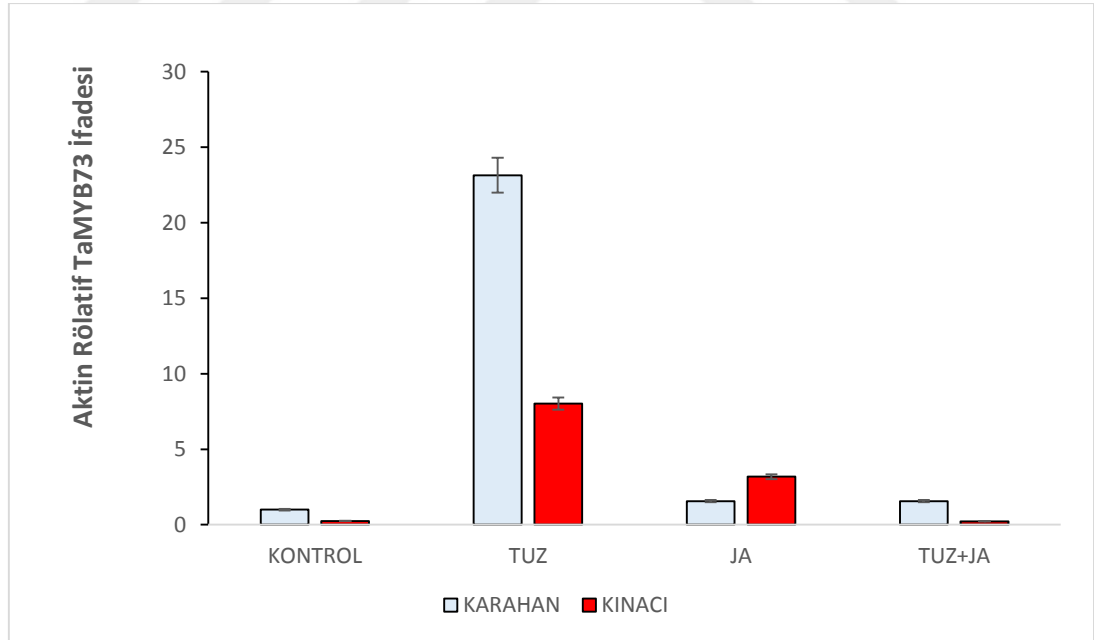
Çizelge 4.1.(Devamı) Çalışmamızda kullanılan tuzluluk koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları ve ürün büyüklükleri.

ERF1- F	TCCTGTGATGGGTGATGCTA	54	Ergün; Kolukırık, 2014
ERF1-R	AGGGCATGTCATCAAAGGTC		
MYB73-F	GACAGCTTCTGGTCGGAGAC	54	Ergün; Kolukırık, 2014
MYB73-R	CGACGACGGCGATAAACTAT		

#### 4.1.6.1 TaMYB73 Gen Sonuçları

Yapılan tez çalışmamızda Karahan-99 buğday fidelerinde TaMYB73 gen ifadesinde kontrole göre 23 kat, Kınacı-97 buğday fidesinde ise 40 kat oranında arttığı tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 13). Tuz- JA uygulamalarıyla TaMYB73 gen ifadesi miktarında ciddi bir düşüş gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ).

Liu ve ark. (2019), tuz stresinin ABA ve JA biyosentezinde yer alan enzimlerin ifadesinin artışıyla MYC ve MYB transkripsiyonu inhibe edildiğini belirtmişlerdir.

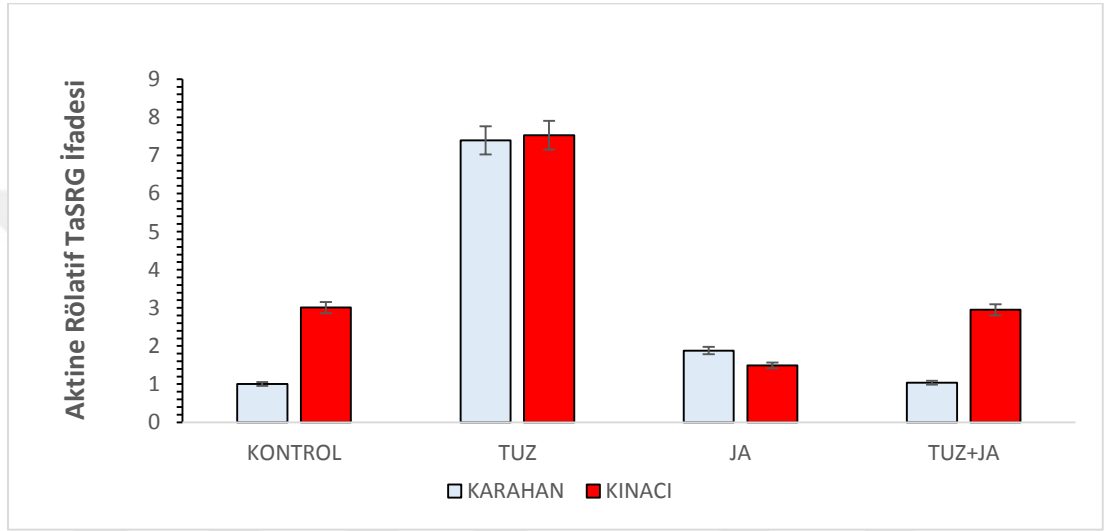


Şekil 4.13. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T. aestivum* L. cv. Karahan- 99, Kınacı- 97) fidelerinin TaMYB73 gen ifadesindeki değişimler (n=3)



#### 4.1.6.2 TaSRG Gen Sonuçları

Yapılan çalışmada TaSRG gen ifadesinde Karahan-99 ve Kınacı-97 çeşidi buğday fideleri arasında önemli fark bulunmuştur ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 14). Karahan-99 fidelerinde tuz stresinde TaSRG gen ifadesinde 7 kat, Kınacı-97 fidelerindeyse 2,50 kat artış gözlenmiştir. JA'in varlığıyla *Tasrg* gen ifadesinin aktivitesi durdurulmuştur.

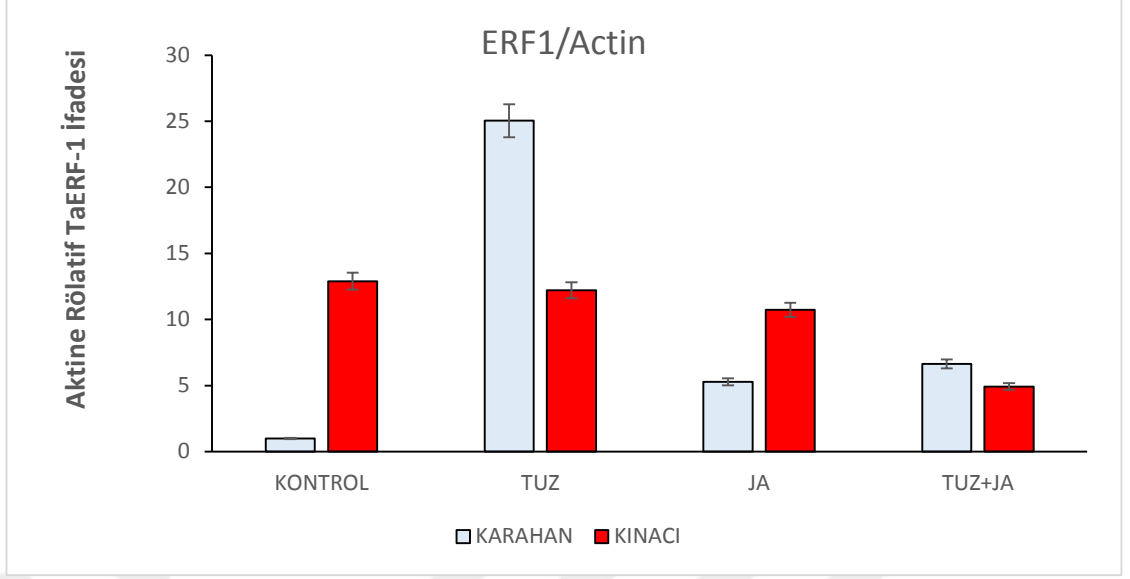


Şekil 4.14. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T. aestivum* L. cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin TaSRG gen ifadesindeki değişimler (n=3)

#### 4.1.6.3 TaERF-1 Gen Sonuçları

Çalışmamızda ERF gen ifadesinin en fazla Karahan-99 çeşidi buğday fidelerinde yapıldığı tespit edilmiştir. Tuz uygulamasıyla gen ifadesinin 25 kat arttığı gözlenirken, JA tuz etkileşimiyle 5 kat düzeyinde azalma olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ), (Ek 15). Kınacı-97 çeşidinde herhangi bir artış gözlenmemiştir.

Dey S. ve Vlot A.C (2015) APR/ERF'lerin düzenlenmesinde miRNA'ların (transkripsiyon sonrası gen ekspresyonuna baskı yapan kodlayıcı olmayan RNA'ların 20-24 nükleotidleri) rol oynadığını göstermektedir. erf genleri Arabidopsis'te TaERF1, buğdayda ise TaERF3 tuz ve kuraklık stresine toleransı artırır. ERF'ler JA ve ABA içeren fitohormonlar tarafından da düzenlenerek gen ekspresyonunu düzenlemektedir.



Şekil 4.15. Tuz ve JA uygulamaları altında yetişen buğday (*T. aestivum* L. cv. Karahan- 99, Kınacı- 97) fidelerinin TaERF gen ifadesindeki değişimler (n=3)

## 5. SONUÇ

Araştırmamızda tuzluluk stresi altında yetiştirilen buğday bitkisinin gelişimi, bazı fizyolojik özellikler ve biyokimyasal parametrelerin strese rol oynayan genlerin ifadesini belirlemek amacıyla JA uygulaması yapılmıştır. Buğday (*Triticum aestivum* L.cv. Karahan-99, Kınacı-97) fidelerinin Tuz, JA ve Tuz+JA uygulaması sonucundaki etkilerinin değişimleri değerlendirilmiştir. Belirtilen uygulamalarda yapılan analiz çalışmalarıyla parametrelerde artış ve azalışların olduğu tespit edilmiştir.

JA'in bitki savunmasında ve streslere cevap vermede önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda buğday fidelerinde Tuz'un olumsuz etkilerine karşı JA'in iyileştirici etkisi değerlendirilmiştir. Tuz stresinin bitki büyüme ve gelişmesi üzerindeki olumsuz etkileri analizlerimizle, literatürlerle ve yapılan çalışmalarla belirtilmiştir.

Çalışmamızda 200 mM NaCl içeren su kültüründe 4 gün yetiştirilen buğday fideleri ( Karahan-99, Kınacı-97) kontrol grubuna göre kök ve sürgün boy uzunluğunda, taze ve kuru ağırlıklarında önemli ölçüde azalmanın olduğunun, JA uygulamasıyla her iki buğday çeşidinde de iyileşmenin olduğu tespit edilmiştir.

Tuzluluk stresinde Karahan-99, Kınacı-97 buğday fidelerinde klorofil a, klorofil b, klorofil a+b miktarında önemli derecede azalma olduğu belirlenirken, JA uygulamasıyla kontrole göre artış olduğu belirlenmiştir.

Prolin birikimi ise tuz stresiyile her iki buğday fidelerinde de önemli miktarda artarken, Tuz+ JA uygulamasıyla azalış görülmektedir.

Çalışmamızda CAT aktivitesinin tuz uygulamasıyla arttığı görülmüştür. Tuz+JA uygulamasıyla CAT aktivitesinde azalma görülmüştür. GR aktivitesi tuz stresiyile artarken Tuz+ JA etkisiyle azalma görülmüştür.

Çalışmamızda 200 mM Tuz uygulamasıyla Kınacı-97 buğday türünde TaERF gen ifadesinde bir artış gözlenmezken, Tuz+JA uygulamasıyla TaERF gen ifadesinde ise azalma gözlenmiştir. Karahan-99 buğday türünde ise tuz uygulamasıyla TaERF gen ifadesinde artışın olduğu tespit edilmiştir. Tuz+JA uygulamasıyla çok önemli düzeyde TaERF gen ifadesinde azalma gözlenmiştir. Her iki buğday türünde de 200 mM tuz stresinde TaSRG gen ifadesinde artış, Tuz+JA uygulamasıyla TaSRG gen ifadesinde

azalış gözlenmiştir. TaMYB gen ifadesi tuz uygulamasıyla artarken, Tuz+JA uygulamasıyla TaMYB gen ifadesinde azalma görülmektedir.

Yapılan korelasyon analizi sonucuna göre özellikle Karahan-99 buğday çeşidinde tuz stresine bağlı olarak prolin değerleriyle sürgün taze ağırlık ve sürgün boyu arasında yüksek oranda negatif korelasyon görülürken, kök yaş ve klorofil a değerleriyle kök boyu arasında ise özellikle Kınacı-97 buğday çeşidinde pozitif korelasyon görülmüştür. Klorofil a ile klorofil b arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra tuz stresinde CAT ile prolin miktarı arasında pozitif ilişki görülürken, CAT ile sürgün kuru ağırlık ve sürgün yaş ağırlık arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir(Çizelge 5.1).

Sonuç olarak buğdayda tuzluluğun olumsuzluklarını ortadan kaldırmak amacıyla Tuz, JA, Tuz+JA etkileşimlerinin moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için çeşitli tuz ve JA konsantrasyonlarının çeşitlendirilmesinde, enzim ve gen aktivitelerinin belirlenmesine yönelik yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- Abdulhadi S., Saymen M., Türkmen Ö. (2017). Tuzlu toprak koşullarında kabakta arbusküler mikorhizal fungus uygulamalarının fide gelişmesine etkisi. *Manas J Agr Vet Life Sci*, 7(2), 1-12
- Akan, H., Korkut, M.M., Balos, M.M., (2008). Arat Dağı ve Çevresinde (Birecik, Şanlıurfa) Etnobotanik Bir Araştırma. Fırat Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 20 (1): 67-81
- Akgül H. (2003). Tuzluluk. *Ziraat Mühendisliği Dergisi* Sayı 340 Ankara.
- Atak M. (2014) Ekmeklik Buğday genotiplerinin çimlenme aşamasında oluşturulan tuz stresine tepkilerinin belirlenmesi. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi* 19 (1).
- Atar B. (2017). Gıdamız Buğdayın Geçmişten Geleceğe Yolculuğu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yalvaç Akademi Dergisi* 2(1): 1-12.
- Aydın İ., Atıcı Ö., (2015). Tuz stresinin bazı kültür bitkilerinde çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* cilt 3, sayı 2.
- Çetin E., S., Toy D., Adar M., Göktürk Baydar N., (2011). Tuz stresinin in vitro koşullarında bazı Amerikan asma anaçlarında sürgün gelişimi ve prolin miktarları üzerine etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 15, 1-7 .
- Chen, T. H. ve Murata, N., (2008). Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants, *Trends in Plant Science*, 13, 499-505.
- Çulha Ş., Çakırlar H., (2011). Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Journal of Sciences* (11-34).
- Delker C., Stensel I., Hause B., (2006). Jasmonate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*-enzymes, products, regulation. *Plant Biol* 297-306.
- Demiroğlu Topçu G., Çelen A. E., Kuru E., Özkan Ş.S., (2016). Farklı tuz konsantrasyonlarının kamışsı yumak ( *Festuca arundinacea* ) ve mavi ayrık (*Agropyron intermedium*) bitkilerinin çimlenme ve erken gelişme dönemindeki etkileri üzerine araştırma. *Tarla Bitkileri Merkez Arştırma Enstitüsü Dergisi* 25 (Özel sayısı-2): 219-224.
- Dey S. ve Vlot A.C., (2015). Ethylene responsive factors in the orchestration of stress responses in monocotyledonous plants. *Frontiers in Plant Science* volume 6, article 640.
- Doğan M., Avu A. (2013). Kuraklık stresine karşı bor bileşiklerinin soyada (*Glycine max* L.) büyüme parametrelerine etkisi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi* Cilt 2 (2) 1-13.
- Doğan R., Budaklı Çarpıcı E., (2015). Bazı makarnalık buğday (*Triticum turgidum* L.) genotiplerinin çimlenme döneminde tuz stresine tepkileri. *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* Cilt 29, Sayı 1, 47-55.
- Duran R. E., Coşkun Y., Savaşkan Ç., (2010). Tuzun makarnalık buğday genotiplerinde (*Triticum durum* Desf.) bazı kalitatif ve kantitatif özellikler üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 14-1, 17-22.
- El-Esawi M., (2016). Jasmonic acid: Genetic pathway, signal transduction and action in plant development and defence. *Biochem physiol* 5:2 1000e149
- Elgün, A., Ertugay, Z., (1995). Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 297 (2. Baskı), Erzurum, 481 s.

- Ergün N., Özçubukçu S., (2014). Effects of temperature heavy metal interactions, antioxidant enzyme activity and gene expression in wheat (*Triticum aestivum* L. seedling. Published in *Acta biologica Hungarica* 10.1556
- Flowers, T. S., Troke, P. F. ve Yeo, A. R., (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes, *Annual Review of Plant Physiology*, 28, 89-121.
- He Y., Fukushige H., Hildebrand D. F., Gan S., (2002) Evidence supporting a role of jasmonic acid in *Arabidopsis* leaf senescence. *American society of plant physiologists*
- Hickman R. Verk. M.C, ve ark.,(2017). Architecture and Dynamics of the jasmonic acid gene regulatory network. *Larce –scale biology article*
- Huang H., Liu Bei., Liu L., Song S., (2017). Jasmonate action in plant growth and development. *Journal of experimental botany* 68 (6), 1349-1359
- Kadioğlu A. (2011). *Bitki Fizyolojisi*, 5. Baskı. Gündüz Ofset Matbaacılık ve Yayıncılık, 419s, Trabzon.
- Kang D.J., Seo Y.J., Lee J.D., ve ark. (2005), Jasmonic acid differentially affects growth ion uptake and abscisic acid concentration in salt tolerant and salt sensitive rice cultivars. *Crop science* 191, 273-282.
- Kılıç H., Tekdal S., Kendal E. ve Aktaş H., (2012). Augmented deneme desenine dayalı ileri kademe makarnalık buğday (*Triticum turgidum ssp durum*) hatlarının biplot analiz yöntemi ilde değerlendirilmesi. *KSÜ Doğa Bil. Dergisi*, 15(4)
- Kızılaslan H.,(2004). Dünya’da ve Türkiye’de buğday üretimi ve uygulanan politikaların karşılaştırılması. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* 21 (2), 23-38
- Koç E., Üstün A.S., (2008) Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar. *Erciyer Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 24 (1-2) 82-100.
- Koçyiğit M., Özhatay N., (2009). The wild edible and miscellaneous useful plants in Yalova province (Northwest Turkey) *İstanbul Eczacılık Fakültesi*, 40 .
- Korkmaz H., Durmaz A., (2017). Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine verdiği cevaplar. *GÜFBED* : 192-207.
- Korkutal İ., Oçkun M.A. (2015). Bağcılıkta metil jasmonat (MeJA), jasmonik asit (JA) ve salisilik asitin (Sa) aşıda kallus oluşumu üzerine etkileri. *Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* A- 27
- Kotancılar G., Çelik İ., Ertugay Z., (1995). Ekmeğin besin değeri ve beslenmedeki önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi* 26 (3), 431-441
- Kumlay A.M., Eryiğit T. 2011. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: Bitki hormonları. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.* 1(2):47-56.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal Plants Used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethno-Pharmacology*, 111: 341-364.
- Larcher, W., (1995). *Physiological Plant Ecology*, Published by Springer, ISBN 0-387-09795-3, New York, 506p.
- Levitt, J.(1980). *Responses of Plant to Environmental Stress: Water, Radiation, Salt And Other Stresses*. Academic Press, New York, 365.
- Lichtenthaler H.K. (1996). Vegetation stress an introduction to the stress concept in Plants. *Journal of plant physiology*. Pages 4-14
- Liu s., Zhang P., Li C.,Xia G. (2019) The moss jasmonate ZIM- domain protein PN JAZ1 confers salinity tolerance via crosstalk with the abscisic acid signalling pathway.
- M. Feldman, : A. P. Bonjean and W. J. Angus, Ed., “Origin of Cultivated Wheat,” In *The World Wheat Book: A History of Wheat Breeding*, Intercept Ltd., London,(2001), pp. 3-56.

- Mir M.A., John R., Alyemeni M.N., Alam P., Ahmad P.,(2018) Jasmonic acid ameliorates alkaline stress by improving growth performance, ascorbate glutathione cycle and glyoxylase system in maize seedlings. Scientific reports.12;8(1):2831.
- Naneli İ., Sakin M.A., Kıral A.S.,(2015). Tokat- Kazova şartlarında bazı ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 32(1), 91-103
- Öncel I., Keleş Y., (2002). Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, Pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. C.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi cilt 23 sayı 2.
- Özberk F., Karagöz A., Özberk İ., Atlı A., (2016). Buğday genetik kaynaklarından yerel ve kültürel çeşitlerine Türkiye’de buğday ve ekmek. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi,25(2):218-233
- Parida, A.K., and Das, A.B., (2005) ‘‘Salt tolerance and salinity effects on plants: a review’’, Ecotoxicology and Environmental Safety, 60: 324-349 .
- Poustini K., Siosemardeh A., Ranjbar M. (2007). Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L. ) cultivars differing in salt tolerance. Genet resour crop evol 54:925-934.
- Qiu ZB., Guo JL., Zhu AJ., Zhang L., Zhang M., (2014). Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. Ecotoxicology and Environmental Safety 202-208.
- Rezai S., Orojloo M., Bidabadi S. S., (2013). Possible role of methyl jasmonate in protection to NaCl induced salt stress in pepper cv. ‘Green Hashem’.International journal of agriculture and crop sciences 6-7/ 1235-1238.
- Sarabandi M., Forokhzad A., Abdollahi B., Ghasemzadeh R. (2019). Biochemical and gene expression responses of two Iranian grape cultivars to foliar application of methyl jasmonate under boron toxicity conditions. Scientia Horticulturae. Pages 355-363
- Shahzad A.N. (2011), The role of jasmonic acid and abscisic acid in salt resistance of maize (*Zea mays* L.) Justus Leibig University Giessen
- Tavalli V., Karimi S. (2019) Methyl jasmonate enhances salt tolerance of almond rootstocks by regulating endogenous phytohormones antioxidant activity and gas-exchange. Journal of Plant Physiology. Pages 98-105.
- TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası 2018 Buğday Raporu. [http://www.zmo.org.tr/genel/bizden\\_detay.php?kod=30125&tipi=17&sube=0](http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=30125&tipi=17&sube=0)
- Türkiye’nin Buğday Atlası, Türkiye (Doğal Hayatı Koruma Vakfı),2016
- Vavilov N.I. (1987), Origin and geography of cultivated plants. Cambridge University Press.
- Yakıt S., Tuna L.A., (2006). Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine Ca, Mg ve K’nın etkileri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 19(1), 59-67.
- Yaşar F., Ellialtıoğlu Ş., Özpınar T., Uzal Ö., (2008). Tuz stresinin karpuzda (*Citrullus Lanatus* (Thunb.) Mansf.) antioksidan enzim (SOD, CAT, APX ve GR) aktivitesi üzerine etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi 18(1): 61-
- Yıldız M., Terzi H., Akçalı N., (2014). Bitki tuz stresi toleransında salisilik asit ve poliaminlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi FEMÜBİD 021002 (7-22)

- Yıldız M., Terzi H., Akçalı N., (2014). Tuz stresi altındaki bitkilerin metabolik yollarındaki proteom değişimleri 2014. BEÜ Fen Bilimleri Dergisi 3(1), 81-93
- Yılmaz E., Tuna A.L., Bürün B., (2011). Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdükleri tolerans stratejileri. C.B.Ü Fen Bilimleri Dergisi, 47-66.
- Zhao Y., Dong W., Zhang N. Ve ark. (2014). A wheat allene oxide cyclase gene enhances salinity tolerance via jasmonate signaling. American Society of Plant Biologists. Vol.164, pp. 1068- 1076
- Zhu JK. (2001). Plant salt tolerance. Trends Plant Sci 6(2):66-71





## ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Antakya’da doğdu. İlköğrenimini Cemalettin Tınaztepe İlköğretim okulunda okudu. Ortaokulu Fatih Sultan Mehmet İlköğretim okulunda okudu. Lise öğrenimini Kurtuluş Lisesi’nde tamamladı. 2004 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden 2008 yılında mezun oldu. 2008-2009 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Tezsiz Yüksek Lisans yaptı. 2011 yılında Mersin Üniversitesinden İş ve Meslek Danışmanı MYK Belgesini alarak, 2012 yılında Hatay Çalışma ve İş Kurumuna İş ve Meslek Danışmanı olarak atanmıştır. Halen görevini sürdürmektedir.

2015 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesinde Fen Bilimleri Enstitüsünde Tezli Yüksek Lisans eğitime başlamıştır. Evli ve iki çocuk annesidir.

## EKLER

### Ek.1

1.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99, Kınacı- 97 fidelerinin kök boyuna etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	177,445 <sup>a</sup>	7	25,349	844,976	,000**
Keşişim	1270,215	1	1270,215	42340,500	,000**
Buğday	4,507	1	4,507	150,222	,000**
Muamele (Uygulama)	159,382	3	53,127	1770,907	,000**
Hata	,480	16	,030		

\*\*  $p \leq 0,01$  önem düzeyine sahiptir, \*  $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir.

1.2. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin kök boyuna etkisinin ortalama miktarı.

KÖK BOYU		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	10,13 ± 0,06	11,23 ± 0,14
TUZ	5,07 ± 0,06	2,07 ± 0,06
JA	8,30 ± 0,11	8,07 ± 0,06
TUZ+JA	7,33 ± 0,16	6,00 ± 0,00

**Ek.2.2.1.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin kök taze ağırlığına etkisinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	44924,292 <sup>a</sup>	7	6417,756	1305,306	,000**
Keşifim	224460,042	1	224460,042	45652,890	,000**
Çeşit	11223,375	1	11223,375	2282,720	,000**
Muamele (uygulama)	32101,458	3	10700,486	2176,370	,000**
Hata	78,667	16	4,917		

\*\*  $p \leq 0,01$  önem düzeyine sahiptir, \*  $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir

**2.2.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin kök taze ağırlığına etkisinin ortalaması

<b>KÖK TAZE AĞIRLIĞI</b>		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	119,66 ± 0,33	175,66 ± 2,18
TUZ	38,33 ± 0,88	63,33 ± 2,02
JA	80,66 ± 0,33	143,33 ± 1,668
TUZ+JA	61,66 ± 0,33	91,00 ± 0,57

### Ek.3

#### 3.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin kök kuru ağırlıklarına etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	160,500 <sup>a</sup>	7	22,929	45,857	,000
Kesişim	1633,500	1	1633,500	3267,000	,000
Çeşit	,667	1	,667	1,333	,265
Muamele (uygulama)	156,500	3	52,167	104,333	,000
Hata	8,000	16	,500		

\*\* p≤0,01 önem düzeyine sahiptir, \* p≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

#### 3.2. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin kök kuru ağırlığına etkisinin ortalama miktarı

KÖK KURU AĞIRLIĞI		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	12,67± 0,33	12,00 ±0,00
TUZ	4,67 ± 0,33	6,00 ±0,00
JA	8,00 ± 0,58	8,00 ±0,58
TUZ+JA	7,00 ± 0,58	7,76 ± 0,33

#### Ek.4

**4.1.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin sürgün boy uzunluklarına etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	194,426 <sup>a</sup>	7	27,775	122,089	,000**
Kesişim	2741,344	1	2741,344	12049,863	,000**
Çeşit	1,550	1	1,550	6,815	,019**
Muamele (Uygulama)	190,305	3	63,435	278,835	,000**
Hata	3,640	16	,228		

\*\*p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \* p≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

**4.2.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin sürgün boy uzunluğuna etkisinin ortalama miktarı

SÜRGÜN BOYU		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	14,03 ± 0,57	13,83 ± 0,16
TUZ	7,13 ± 0,06	5,50 ± 0,28
JA	12,20 ± 0,15	12,00 ± 0,00
TUZ+JA	10,40 ± 0,20	10,40 ± 0,30

## Ek.5.

### 5.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin sürgün taze ağırlıkları etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Karelerinin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Karelerin Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	21171,625 <sup>a</sup>	7	3024,518	3456,592	,000**
Kesişim	151209,375	1	151209,375	172810,714	,000**
Çeşit	6767,042	1	6767,042	7733,762	,000**
Muamele (Uygulama)	14247,458	3	4749,153	5427,603	,000**
Hata	14,000	16	,875		

\*\*  $p \leq 0,01$  çok önem düzeyine sahiptir. \*  $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir.

### 5.2. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin sürgün taze ağırlığına etkisinin ortalama miktarı

SÜRGÜN TAZE AĞIRLIĞI		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	91,33 ± 0,66	130,66 ± 0,88
TUZ	25,66 ± 0,66	63,66 ± 0,33
JA	76,00 ± 0,57	104,00 ± 0,00
TUZ+JA	57,33 ± 0,33	86,33 ± 0,33

## Ek.6.

**6.1.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin sürgün kuru ağırlıkları etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	361,333 <sup>a</sup>	7	51,619	176,980	,000
Kesişim	4374,000	1	4374,000	14996,571	,000
Çeşit	42,667	1	42,667	146,286	,000
Muamele (Uygulama)	313,000	3	104,333	357,714	,000
Hata	4,667	16	,292		

\*\*  $p \leq 0,01$  çok önem düzeyine sahiptir. \*  $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir.

**6.2.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin sürgün kuru ağırlığına etkisinin ortalama miktarı

SÜRGÜN KURU AĞIRLIĞI		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	18,33 ± 0,33	19,33 ± 0,33
TUZ	7,33 ± 0,33	10,67 ± 0,33
JA	12,67 ± 0,33	16,00 ± 0,00
TUZ+JA	10,33 ± 0,33	13,33 ± 0,33

“

## Ek.7.

### 7.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin klorofil-a etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	231371,958 <sup>a</sup>	7	33053,137	26,586	,000
Kesişim	36558485,042	1	36558485,042	29405,578	,000
Çesit	10209,375	1	10209,375	8,212	,011
Muamele (Uygulama)	182651,458	3	60883,819	48,972	,000
Hata	19892,000	16	1243,250		

\*\*  $p \leq 0,01$  çok önem düzeyine sahiptir. \* $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir.

### 7.2. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin klorofil a'ya etkisinin ortalama miktarı

KLOROFİL- A		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	16,24	16.84
TUZ	14.77	13.16
JA	16,24	16.58
TUZ+JA	15.50	14.08



**Ek.8.****8.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin klorofil b etkisinin varyans analizi**

Varyans Kaynağı	Kareler	Serbestlik	Kareler	Varyans	P Değeri
	Toplamı	Derecesi	Ortalaması	Analizi	
Doğrulanmış Model	99746,158 <sup>a</sup>	7	14249,451	19,408	,000
Kesişim	14699513,195	1	14699513,195	20021,026	,000
Çeşit	8776,080	1	8776,080	11,953	,003
Muamele (Uygulama)	78821,351	3	26273,784	35,785	,000
Hata	11747,261	16	734,204		

\*\*  $p \leq 0,01$  çok önem düzeyine sahiptir. \*  $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir.

**8.2. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin klorofil b'ye etkisinin ortalama miktarı**

KLOROFİL- B		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	10.266	10.59
TUZ	9.38	8.32
JA	10.64	10.40
TUZ+JA	9.79	8.84

## Ek.9.

**9.1.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin toplam klorofil etkisini varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	568969,958 <sup>a</sup>	7	81281,423	33,719	,000
Kesişim	99303948,375	1	99303948,375	41195,699	,000
Çeşit	196023,375	1	196023,375	81,319	,000
Muamele (Uygulama)	263874,458	3	87958,153	36,489	,000
Hata	38568,667	16	2410,542		

\*\*  $p \leq 0,01$  çok önem düzeyine sahiptir. \*  $p \leq 0,05$  önem düzeyine sahiptir.

**9.2.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin klorofil a+b'ye etkisinin ortalama miktarı

KLOROFİL a+b		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	27,44	26,94
TUZ	26,27	22,30
JA	26,51	25,94
TUZ+JA	26,00	22,09

## Ek.10.

### 10.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin katalaz enzim etkisinin varyans analizi

Varyasyon Analizi	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	12,279 <sup>a</sup>	7	1,754	179,178	,000**
Kesişim	214,700	1	214,700	21931,378	,000**
Çeşit	,314	1	,314	32,024	,000**
Muamele (Uygulama)	11,718	3	3,906	398,987	,000**
Hata	,157	16	,010		

\*\* p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \*p≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

### 10.2. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin katalaz enzim etkisinin ortalama miktarı

KATALAZ		
	KARAHAN	KINACI
KONTROL	0,208 ± 0,001	0,215 ± 0,001
TUZ	0,406 ± 0,008	0,370 ± 0,005
JA	0,257 ± 0,005	0,240 ± 0,004
TUZ+JA	0,352 ± 0,002	0,308 ± 0,006

## Ek.11.

11.1. Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin glutayon redüktaz enzim etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	,907 <sup>a</sup>	7	,130	67,694	,000
Kesişim	4,849	1	4,849	2533,601	,000
Çeşit	,019	1	,019	9,714	,007
Muamele (Uygulama)	,859	3	,286	149,533	,000
Hata	,031	16	,002		

\*\* p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \*p ≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

11.2. . Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin glutatyon redüktaz enzim etkisinin ortalama miktarı.

	KARAHAN	KINACI
KONTROL	0,016 ± 0,003	0,022 ± 0,002
JA	0,043 ± 0,001	0,032 ± 0,005
TUZ	0,076 ± 0,004	0,066 ± 0,002
NaCl+JA	0,051 ± 0,001	0,045 ± 0,002

## Ek.12

**12.1.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin prolin etkisinin varyans analizi.

Varyans Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	37,380 <sup>a</sup>	7	5,340	774,849	,000
Kesişim	57,567	1	57,567	8353,137	,000
Çeşit	2,490	1	2,490	361,263	,000
Muamele (Uygulama)	34,323	3	11,441	1660,109	,000
Hata	,110	16	,007		

\*\*p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \*p ≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

**12.2.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin proline etkisinin ortalama miktarı

PROLİN		
	KARAHAN	KINACI
<b>KONTROL</b>	0,50± 0,03	0,17 ±0,01
<b>TUZ</b>	3,58±0	2,62±0,08
<b>JA</b>	0,60 ±0,02	0,27 ±0,04
<b>TUZ+JA</b>	2,78±0,04	1,84±0,05

## Ek 13

**13.1.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı- 97 fidelerinin TaMYB73 etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	1241,396 <sup>a</sup>	7	177,342	113,827	,000
Kesişim	686,619	1	686,619	440,704	,000
Çeşit	31,031	1	31,031	19,917	,000
Muamele (Uygulama)	552,375	3	184,125	118,180	,000
Hata	24,928	16	1,558		

\*\*p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \*p ≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

**13.2** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin TaMYB73 etkisinin ortalama miktarı

	MYB73/Actin	
	KARAHAN	KINACI
<b>KONTROL</b>	1 ± 0,00	0,244 ± 0,343
<b>TUZ</b>	23,14 ± 1,513	8,019 ± 0,529
<b>JA</b>	1,563 ± 0,092	3,184 ± 0,273
<b>TUZ+JA</b>	1,563 ± 0,021	0,224 ± 0,038

#### Ek.14

14.1..Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan- 99 ve Kınacı- 97 fidelerinin SRG etkisinin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler	Serbestlik	Kareler	Varyans	P Değeri
	Toplamı	Derecesi	Ortalaması	Analizi	
Doğrulanmış Model	151,696 <sup>a</sup>	7	21,671	80,827	,000
Kesişim	259,055	1	259,055	966,218	,000
Çeşit	5,014	1	5,014	18,702	,001
Muamele (Uygulama)	69,016	3	23,005	85,805	,000
Hata	4,290	16	,268		

\*\*p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \*p ≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

14.2 Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin TaSRG'e etkisinin ortalama miktarları

	SRG/Actin	
	KARAHAN	KINACI
<b>KONTROL</b>	1 ± 0,00	3,007 ± 0,247
<b>TUZ</b>	7,396 ± 0,294	7,53 ± 0,256
<b>JA</b>	1,881 ± 0,152	1,489 ± 0,034
<b>TUZ+JA</b>	1,036 ± 0,045	2,948 ± 0,489

#### Ek.15.

15.1 Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv.) Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin TaERF1'e etkisinin varyans analizi.

\*\*p≤0,01 çok önem düzeyine sahiptir. \*p ≤0,05 önem düzeyine sahiptir.

Varyans Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Varyans Analizi	P Değeri
Doğrulanmış Model	1139,927 <sup>a</sup>	7	162,847	12,089	,000
Kesişim	2323,421	1	2323,421	172,475	,000
Çeşit	2,968	1	2,968	,220	,645
Muamele (Uygulama)	798,521	3	266,174	19,759	,000
Hata	215,536	16	13,471		

**15.2.** Kontrol, NaCl, JA, NaCl+JA uygulamalarının Karahan-99 ve Kınacı-97 fidelerinin TaERF1'e etkisinin ortalama miktarları

ERF/Actin		
	KARAHAN	KINACI
<b>KONTROL</b>	1 ± 0,00	12,895 ± 3,023
<b>TUZ</b>	25,036 ± 1,332	12,205 ± 1,471
<b>JA</b>	5,278 ± 1,223	10,727 ± 2,252
<b>TUZ+JA</b>	6,636 ± 1,605	4,931 ± 1,332



		prolin	surgunkuru ağırlık	kokkuru ağırlık	surguny asagırlık	kökyasa gırlık	kokboy	surgun boy	klorofila	kloro filb	klorofi lab	ERF	SRG	MYB	CAT	GR
prolin	Correlation	1,000	-,881	-,680	-,965	-,832	-,781	-,909	-,718	-,764	-,552	,410	-,244	,119	,981	,896
surgunkuruagırlık	Correlation	-,881	1,000	,841	,853	,862	,688	,729	,617	,638	,649	-,341	,366	,075	-,900	-,835
kokkuruagırlık	Correlation	-,680	,841	1,000	,673	,663	,434	,491	,416	,385	,544	-,334	,156	,064	-,747	-,626
surgunyasagırlık	Correlation	-,965	,853	,673	1,000	,889	,851	,885	,796	,832	,674	-,427	,273	-,060	-,927	-,842
kökyasagırlık	Correlation	-,832	,862	,663	,889	1,000	,931	,822	,870	,844	,876	-,120	,649	,346	-,827	-,775
kokboy	Correlation	-,781	,688	,434	,851	,931	1,000	,860	,902	,899	,823	-,027	,658	,389	-,742	-,657
surgunboy	Correlation	-,909	,729	,491	,885	,822	,860	1,000	,830	,840	,626	-,195	,437	,065	-,881	-,798
klorofila	Correlation	-,718	,617	,416	,796	,870	,902	,830	1,000	,949	,868	-,086	,606	,295	-,695	-,633
klorofilb	Correlation	-,764	,638	,385	,832	,844	,899	,840	,949	1,000	,772	-,148	,511	,202	-,710	-,630
klorofilab	Correlation	-,552	,649	,544	,674	,876	,823	,626	,868	,772	1,000	-,006	,703	,510	-,551	-,497
ERF	Correlation	,410	-,341	-,334	-,427	-,120	-,027	-,195	-,086	-,148	-,006	1,000	,533	,707	,364	,368
SRG	Correlation	-,244	,366	,156	,273	,649	,658	,437	,606	,511	,703	,533	1,000	,823	-,270	-,308
MYB	Correlation	,119	,075	,064	-,060	,346	,389	,065	,295	,202	,510	,707	,823	1,000	,067	,091
CAT	Correlation	,981	-,900	-,747	-,927	-,827	-,742	-,881	-,695	-,710	-,551	,364	-,270	,067	1,000	,894
GR	Correlation	,896	-,835	-,626	-,842	-,775	-,657	-,798	-,633	-,630	-,497	,368	-,308	,091	,894	1,000