

**KURAKLIK TOLERANSLARI FARKLI OLAN *CİCER*  
(Nohut) GENOTİPLERİNDE ASKORBAT VE  
GLUTATYON UYGULAMALARININ ANTİOKSİDAN  
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI  
VE GENOMİK VARYASYONLARIN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**SERTAN ÇEVİK**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ  
ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MERSİN  
HAZİRAN-2009**

**“KURAKLIK TOLERANSLARI FARKLI *CİCER* (Nohut)  
GENOTİPLERİNDE ASKORBAT VE GLUTATYON  
UYGULAMALARININ ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE GENOMİK  
VARYASYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI”**

**SERTAN ÇEVİK**

**Mersin Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji  
Ana Bilim Dalı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı  
Prof.Dr.Serpil Ünyayar**

**MERSİN  
Haziran-2009**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR

Jüri Üyesi  
Doç. Dr. Ali ERGÜL

Jüri Üyesi  
Doç. Dr. Yüksel KELEŞ

Jüri Üyesi  
Doç. Dr. Gökhan CORAL

Jüri Üyesi  
Doç. Dr. Ayşe EVEREST

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 04.10.2029 tarih ve 2029:16/400 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mahir TURHAN  
Enstitü Müdürü



Not: Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

## ÖZ

Bu çalışmada, kuraklık stresi altında kuraklığa toleransları farklı olan *Cicer reticulatum* AWC611 (kuraklığa dayanıklı) ve *Cicer arietinum* ILC8617 (kuraklığa duyarlı) bitkilerinde askorbat ve glutatyon uygulamalarının antioksidan sistemleri üzerine etkileri araştırılmış ve 25 nohut çeşidinin SSR (Basit Tekrarlı Diziler) analizi ile genetik ilişkileri incelenmiştir. Nohut bitkileri 35 gün boyunca büyütüldükten sonra 10 gün süre ile kuraklık stresine maruz bırakılmışlardır. Kuraklık uygulamasının ilk üç günü kuraklık uygulanan ve uygulanmayan gruplara askorbat (12,5 mM ve 25 mM) ve glutatyon (10 mM ve 100 mM) çözeltileri yapraklara püskürtülmek suretiyle uygulanmıştır. Kuraklık stresi altındaki bitkilerde antioksidan enzim aktiviteleri (katalaz hariç) ve antioksidan madde konsantrasyonları yükselmiştir, Askorbat ve glutatyon (GSH) uygulamaları ile birlikte her iki genotipteki bitkilerin yapraklarındaki Askorbat peroksidaz aktivitesi, askorbat ve glutatyon içeriği artmış, superoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri ise azalmıştır. Kuraklığa dayanıklı olan AWC611'in enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan kapasitesinin, kuraklığa duyarlı ILC8617'den daha yüksek olduğu ve kuraklık stresi sırasında dışsal antioksidan uygulamalarına daha iyi yanıt verdiği görülmüştür. Diğer nohut genotipleriyle evrimsel ilişkisini SSR analizi ile ortaya koymak için ise iki nohut türünden toplam 25 genotip kullanılmıştır. Yeterli büyüklüğe gelen bitki yaprakları taze olarak alınıp, SSR analizleri gerçekleştirilmiştir. SSR analizi sonucunda elde edilen dendogramda; *C. reticulatum* türünün genotipleri bir hat boyunca toplanmış, *C. arietinum*'a ait olan 23 genotip ise 3 ana dallanma noktasını takip ederek dendogramı oluşturmuşlardır.

**Anahtar Kelimeler:** Nohut, kuraklık stresi, antioksidan sistem, SSR

## ABSTRACT

In this study, under drought stress conditions, the effects of ascorbate and glutathione on antioxidant system of chickpea cultivars which have different tolerance to drought conditions *Cicer reticulatum* AWC611 (drought tolerant) and *Cicer arietinum* ILC8617 (drought sensitive) were investigated, and genetic relationship of 25 chickpea cultivars were determined with SSR (Simple sequence repeats) analyze. Chickpea plants were grown for 35 days, after that plants were exposed drought stress for 10 days. For first three days of the drought stress, ascorbate (12,5 mM and 25 mM) and glutathione (10 mM and 100 mM) were applied to both groups which drought exposed and not exposed. Drought stress enhanced antioxidant enzymes activities and antioxidant concentrations in all groups (except catalase). Applications of ascorbate and glutathione (GSH) increased ascorbate peroxidase activity, ascorbate and GSH concentration. Superoxide dismutase and glutathione reductase activities decreased on the leaves of both genotypes. Enzymatic and not enzymatic antioxidant capacity of drought tolerant AWC611 was determined higher than drought sensitive ILC8617. It is determined that under drought stress the response of AWC611 to exogenous antioxidant applications was better than ILC8617. To determine evolutionary relationships of chickpea genotypes with SSR analyze, 25 genotypes used from *Cicer arietinum* and *Cicer reticulatum*. Leaves of plants were used as fresh for SSR analyses. In resulting dendrogram from SSR analysis, it has been observed that genotypes of *C. reticulatum* aligned in one line, and 23 genotypes of *C. arietinum* branched in three main lines.

**Key words:** Chickpea, drought stress, antioxidant system, SSR

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi, görüş ve önerilerinden yararlandığım, her konuda desteğini yanımda hissettiğim değerli danışmanım Prof.Dr.Serpil ÜNYAYAR'a (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) çok teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında bilgi ve görüşlerini esirgemeyen ve laboratuvarını çalışmama açan değerli danışmanım Doç.Dr.Ali ERGÜL'e (Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü) teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca gerekli olduğunda yardımcı olan Arş. Gör. F. Özlem ÇEKİÇ'e ve Arş. Gör. Ayşin Güzel DEĞER'e (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim. SSR analizlerim sırasında yardımcı olan Arş. Gör. A. Emre AKPINAR'a (Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü) Sonuçlarımın istatistiksel değerlendirilmesinde emeği olan Arş. Gör. Mehmet Ali SUNGUR'a (Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyoistatistik Bölümü), çalışmada kullandığım bitki tohumlarını elde etmemi sağlayan Prof.Dr.Cengiz TOKER'e (Akdeniz Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü) ve Abdulkadir AYDOĞAN'a (Yemeklik Tane Baklagil Islah Birimi), Yüksek lisansım boyunca hep destek olan arkadaşım Arş. Gör. Pınar KÜCE'ye (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü) çok teşekkür ederim.

Her durumda yanımda olan, desteklerini hiç esirgemeyen canım aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Yüksek lisansım boyunca maddi destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine ve Tubitak-BİDEB'e çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|  |             |
|--|-------------|
| <b>ÖZ</b>  | <b>i</b>    |
| <b>ABSTRACT</b>  | <b>ii</b>   |
| <b>TEŞEKKÜR</b>  | <b>iii</b>  |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                     | <b>iv</b>   |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>                               | <b>vii</b>  |
| <b>EKLER DİZİNİ</b>                                    | <b>viii</b> |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>                                 | <b>ix</b>   |
| <b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>                     | <b>x</b>    |
| <br>   |             |
| <b>1. GİRİŞ</b>  | <b>1</b>    |
| <br>   |             |
| <b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b>                           | <b>5</b>    |
| <br>   |             |
| 2.1. BİTKİSEL ÜRETİMDE STRES                           | 6           |
| 2.1.1. Nohut ve Kuraklık                               | 7           |
| 2.1.2. Su Kıtlığı ve Kuraklığa Direnç                  | 8           |
| <br>   |             |
| 2.2. BİTKİLERİN ANTIÖKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ         | 8           |
| 2.2.1. Bazı Antioksidan Sistem Elemanları ve İşlevleri | 10          |
| <br>   |             |
| 2.3. MİKROSATELLİT BELİRTEÇLER (MARKÖRLER)             | 14          |
| 2.3.1. Nohut İçin DNA Belirteç Sistemleri              | 14          |
| <br>   |             |
| <b>3. MATERYAL VE METOT</b>                            | <b>17</b>   |
| <br>   |             |
| 3.1. BİTKİ YETİŞTİRME KOŞULLARI                        | 17          |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.2. ANTİOKSİDAN SİSTEMİNİN ANALİZİ                            | 19        |
| 3.2.1. Enzimatik Antioksidanların Aktivite Tayini              | 19        |
| 3.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD, EC.1.15.11) aktivite tayini | 19        |
| 3.2.1.2. Askorbat peroksidaz (AP,EC.1.11.1.11) aktivite tayini | 19        |
| 3.2.1.3. Glutasyon redüktaz (GR,EC.1.6.4.2.) aktivite tayini   | 20        |
| 3.2.1.4. Katalaz (KAT, EC.1.11.1.6.) aktivite tayini           | 20        |
| 3.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar Tayini                 | 20        |
| 3.2.2.1. Askorbat miktarının belirlenmesi                      | 20        |
| 3.2.2.2. Glutasyon miktarının belirlenmesi                     | 21        |
| 3.3. ÇÖZÜNÜR PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ                      | 21        |
| 3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME                               | 22        |
| 3.5. SSR ANALİZİ   | 23        |
| 3.5.1. DNA İzolasyonu  | 23        |
| 3.5.2. PCR Reaksiyonlarının Hazırlanması                       | 26        |
| 3.4.2.1. PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı           | 26        |
| 3.5.3. Kapileri Elektroforez ve Allel Görüntülerinin Alınması  | 28        |
| 3.5.4. Genetik Analizler                                       | 28        |
| 3.5.5. Mikrosatellite (SSR) Analizleri                         | 28        |
| <b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</b>                                 | <b>30</b> |
| 4.1. BULGULAR  | 30        |
| 4.1.1. SOD Aktivitesindeki Değişimler                          | 30        |
| 4.1.2. AP Aktivitesindeki Değişimler                           | 32        |
| 4.1.3. GR Aktivitesindeki Değişimler                           | 34        |
| 4.1.4. KAT Aktivitesindeki Değişimler                          | 35        |
| 4.1.5. Askorbat Konsantrasyonundaki Değişimler                 | 37        |



|   |    |
|---|----|
| 4.1.6. GSH Konsantrasyonundaki Değişimler                   | 38 |
| 4.1.7. DNA İzolasyonu ve Ölçümleri                          | 40 |
| 4.1.8. SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntüleri | 43 |
| 4.1.9. Genetik Analizler                                    | 49 |
| <br>  |    |
| 4.2. TARTIŞMA   | 58 |
| <br>  |    |
| 4.2.1. SOD Aktivitesi                                       | 58 |
| 4.2.2. AP Aktivitesi  | 59 |
| 4.2.3. GR Aktivitesi  | 60 |
| 4.2.4. KAT aktivitesi                                       | 61 |
| 4.2.5. Askorbat Konsantrasyonu                              | 61 |
| 4.2.6. GSH konsantrasyonu                                   | 62 |
| 4.2.7. Genetik Analizler                                    | 62 |
| <br>  |    |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                                 | 64 |
| <br>  |    |
| <b>KAYNAKLAR</b>  | 65 |
| <br>  |    |
| <b>EKLER</b>  | 75 |
| <br>  |    |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>   | 88 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

| ÇİZELGE       |  | SAYFA |
|---------------|--|-------|
| Çizelge 2.1.  | Bazı ROT süpürücü enzimler ve katalizledikleri reaksiyonlar  | 13    |
| Çizelge 3.1.  | Çalışmada kullanılan nohut çeşitleri, tescil yılları ve tescilleyen kurumlar   | 17    |
| Çizelge 3.2.  | AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarına ASC ve GSH uygulamaları için oluşturulan deneme deseni  | 18    |
| Çizelge 3.3.  | Çalışmada kullanılan primerlerin baz dizilimleri, florasan renkleri ve Tm değerleri  | 27    |
| Çizelge 4.1.  | Süperoksit dismutaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları   | 31    |
| Çizelge 4.2.  | Askorbat peroksidaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları   | 33    |
| Çizelge 4.3.  | Glutatyon redüktaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları  | 35    |
| Çizelge 4.4.  | Katalaz enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları  | 36    |
| Çizelge 4.5.  | Askorbat konsantrasyonuna ait varyans analiz sonuçları   | 38    |
| Çizelge 4.6.  | Glutatyon konsantrasyonuna ait varyans analiz sonuçları  | 39    |
| Çizelge 4.7.  | Araştırmada kullanılan nohut genotiplerine ait olan DNA'ların spektrofotometrik değerleri  | 41    |
| Çizelge 4.8.  | 10 SSR lokusuna ait allel büyüklükleri baz çifti (bp)  | 50    |
| Çizelge 4.9.  | Lokuslardaki allel sayıları (N), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho) , tespit olasılığı (PI) ve sessiz allel frekansı (r) | 52    |
| Çizelge 4.10. | Lokuslara ait allel frekansları  | 53    |
| Çizelge 4.11. | Nohut çeşitlerine ait benzerlik çizelgesi  | 56    |

## EKLER DİZİNİ

| <b>EKLER</b>  | <b>SAYFA</b> |
|---|--------------|
| Ek 1. Spesifik SOD aktivitesine ait istatistik tablosu                                      | 77           |
| Ek 2. Spesifik SOD aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri | 78           |
| Ek 3. Spesifik AP aktivitesine ait İstatistik tablosu                                       | 79           |
| Ek 4. Spesifik AP aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri  | 80           |
| Ek 5. Spesifik GR aktivitesine ait istatistik tablosu                                       | 81           |
| Ek 6. Spesifik GR aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri  | 81           |
| Ek 7. Spesifik KAT aktivitesine ait istatistik tablosu                                      | 82           |
| Ek 8. Spesifik KAT aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri | 83           |
| Ek 9. AS konsantrasyonuna ait İstatistik tablosu  | 84           |
| Ek 10. AS konsantrasyonuna ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri      | 85           |
| Ek 11. GSH konsantrasyonuna ait istatistik tablosu  | 86           |
| Ek 12. GSH konsantrasyonuna ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri     |              |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| ŞEKİL       |  | SAYFA |
|-------------|--|-------|
| Şekil 2.1.  | Askorbat-glutatyon döngüsü   | 11    |
| Şekil 2.2.  | ROT süpürücü enzimler ve hücrede buldukları bölgeler   | 13    |
| Şekil 3.1.  | SSR yönteminin aşamaları   | 25    |
| Şekil 4.1.  | Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611<br>ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik SOD Aktivitesi                           | 31    |
| Şekil 4.2.  | Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611<br>ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik AP aktivitesi                            | 33    |
| Şekil 4.3.  | Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611<br>ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik GR aktivitesi                            | 34    |
| Şekil 4.4.  | Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611<br>ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik KAT aktivitesi                           | 36    |
| Şekil 4.5.  | Kuraklık, ASC veya GSH uygulanan AWC611<br>ve ILC8617'nin yapraklarındaki askorbat içeriği                                 | 37    |
| Şekil 4.6.  | Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611<br>ve ILC8617'nin yapraklarındaki GSH içeriği                                       | 39    |
| Şekil 4.7.  | Nohut genotiplerinin toplam DNA jel görüntüsü  | 40    |
| Şekil 4.8.  | NCPGR100 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü   | 44    |
| Şekil 4.9.  | NCPGR33 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü  | 44    |
| Şekil 4.10. | NCPGR42 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü  | 45    |
| Şekil 4.11. | Mavi boyayla işaretlenmiş bir lokus-allel profilinin kapileri<br>elektroforezdeki homozigot ve heterozigot allel görünümü  | 46    |
| Şekil 4.12. | Yeşil boyayla işaretlenmiş bir lokus-allel profilinin kapileri<br>elektroforezdeki homozigot ve heterozigot allel görünümü | 47    |
| Şekil 4.13. | Siyah boyayla işaretlenmiş bir lokus-allel profilinin kapileri<br>elektroforezdeki homozigot ve heterozigot allel          | 48    |
| Şekil 4.14. | Nohut genotiplerine ait genetik ilişki dendogramı  | 57    |

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                  |                                |
|------------------|--------------------------------|
| ROT              | : Reaktif oksijen türleri      |
| AA               | : Askorbik asit                |
| AP               | : Askorbat peroksidaz          |
| DHA              | : Dehidroaskorbat              |
| DHAR             | : Dehidroaskorbat redüktaz     |
| GR               | : Glutasyon redüktaz           |
| GSH              | : Redükte glutasyon            |
| GSSG             | : Okside glutasyon             |
| MDHA             | : Monodehidroaskorbat          |
| MDHAR            | : Monodehidroaskorbat redüktaz |
| KAT              | : Katalaz                      |
| $^1\text{O}_2$   | : Tekli oksijen                |
| $\text{O}_2^-$   | : Süperoksit radikali          |
| $\cdot\text{OH}$ | : Hidroksil radikali           |
| PCR              | : Polimeraz zincir reaksiyonu  |
| PVP              | : Polivinil polipirrolidon     |
| SOD              | : Süperoksit dismutaz          |
| SSR              | : Basit tekrarlı diziler       |

## 1.GİRİŞ

Nohut Türkiye'nin Güneydoğusu ile Suriye'nin bir kısmını kapsayan bölgeden köken almış olan bir baklagildir [1]. Nohut % 25,3 - 28,9 gibi yüksek bir oranda protein içeren tohumu nedeniyle oldukça değerlidir [2]. Avustralya, Güney ve Kuzey Amerika ve Güney Asya'daki en az 33 ülkede yetiştirilen nohut bitkisi [3], dünyadaki en önemli üçüncü baklagil ürünüdür [3, 4]. Ekili alanların yaklaşık olarak % 15'ini oluşturur ve 58 milyon ton/yıl olan dünya bakliyat üretimine % 14 (7,9 milyon ton/yıl)'lük bir katkıda bulunmaktadır [1]. 17,861,356 hektar ekili alana sahip olan Türkiye'de ise baklagiller 1,722,921 hektar ile ekili alanların yaklaşık olarak % 10'luk bir kısmını oluştururlar ve Türkiye'de yetiştirilen baklagiller içerisinde de nohut en fazla üretimi yapılan ikinci baklagil ürünüdür [5]. Türkiye'de su sıkıntısı olan alanlarda tahılların yerini almaktadır [1].

Çevresel stresler bitkilerde ürün kaybına yol açmaktadır. Bu stresler çeşitlidir ve genelde ürün ya da bölgelere özgüdür. Bu streslerden bazıları kuraklık, tuz, sıcaklık, mineral madde kıtlığı, metal kirliliği, UV radyasyonu olarak sıralanabilir [6]. Çevresel streslerin bazıları oksidatif hasara neden olabilirler [7, 8]. Kuraklık bitkilerde çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik yanıtların oluşmasına neden olan çok yönlü bir abiyotik stres faktörüdür [9, 10]. En yaygın çevresel stres faktörlerinden biri olan kuraklık neredeyse bütün metabolik işlevleri etkilemekte [7] ve ürün kaybına neden olmaktadır [11]. Dünyada ekili alanların yaklaşık olarak üçte biri ya sürekli olarak su sıkıntısı çekmekte ya da periyodik olarak su stresine maruz kalmaktadır [1, 12]. Kurak ve yarı kurak koşullarda yetiştirilen nohut bitkisinde kuraklık ürün verimliliğini kısıtlayan en önemli etkendir ve özellikle ürün verme dönemlerinde nohut üretimi kuraklık nedeni ile önemli derecede azaltılmaktadır [1, 4].

Oksijen toksisitesi aerobik yaşamın doğasında olan bir özelliktir. Bitkiler tarafından üretilen oksijenin yaklaşık olarak % 1'i çeşitli hücre organellerinde reaktif oksijen türlerine (ROT) dönüştürülmektedir [13, 14]. ROT oksijenin kısmen indirgenmiş formlarıdır. Bunlar oksijenin tekli oksijen formu ya da bir, iki yada üç

elektronun oksijene taşınması ile oluşan süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikalının ( $OH^-$ ) oluşumu ile meydana gelirler [7]. ROT'un hücre içerisindeki düzeyi; oluşum hızları, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi maddelerle reaksiyona girme oranları, potansiyel parçalanma hızları ve enzimler ve/veya enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılma hızları ile düzenlenmektedir [15]. ROT'un detoksifiye edilerek ortadan kaldırılması bir çok biyomolekülün oksidatif hasardan korunması için gereklidir [4, 16]. Çünkü ROT lipid peroksidasyonuna, proteinlerin parçalanmasına ve nükleik asit hasarına neden olmaktadır [7, 8]. rOT'Un neden olduğu hasarı azaltmak yada önlemek için bitkiler; flavonoid, karetenoid, tokoferol, glutatyon ve askorbat gibi enzimatik olmayan ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), peroksidaz (PO), askorbat peroksidaz (AP), glutatyon redüktaz (GR) ve polifenol oksidaz (PPO) gibi enzimatik bileşiklerden oluşan bir antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir [17, 18, 19]. Bu sistem tüm bitki hücrelerinde bulunmaktadır [17]. ROT'dan etkin bir şekilde korunmak için bu antioksidan sistem elemanları arasında iyi bir iş birliği gereklidir [8].

ROT'un üretimi kuraklık, tuzluluk, düşük ve yüksek sıcaklık gibi çeşitli abiyotik streslerle karşı karşıya kalındığında artar [7, 20]. Oksijen radikallerinin üretiminin artmasına yanıt olarak antioksidan savunma sisteminin kapasitesi de artırılır [17]. Kuraklık stresi altında enzimlerin ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivite dereceleri bazı bitki türleri arasında çok çeşitli olabilir ve hatta aynı türün farklı çeşitleri arasında bile değişebilir [4]. Son yıllarda yapılan çalışmalar, antioksidan sistem yanıtlarının türe ve dokuya özgü olduğunu göstermiştir [15].

Oksidatif stres toleransını arttırmak için, askorbik asit gibi hücrel enzim substratlarının seviyesini arttırmak iyi bir yaklaşım olabilir. Askorbik asit hidrojen peroksidin enzimatik olarak ortadan kaldırılmasının döngüsel yolunda primer substrat olarak rol oynayan, küçük ve suda çözünebilen antioksidan moleküldür [9]. Askorbatın bitkilerde, hücre bölünmesi, hücre duvarı genişlemesi ve diğer bazı gelişim olayları gibi birden fazla durumda rol aldığı gösterilmiştir [17]. Örneğin;

*Arabidopsis thaliana*'da dışarıdan askorbik asit ilave edilmeksizin askorbik asit biyosentezinin durdurulması anormal gelişmeye yol açmaktadır [21]. Fotosentetik ökaryotlarda yaygın olarak bulunan askorbatın çeşitli işlevleri olsa da bir antioksidan olarak ele alınır [16]. Askorbat, süperoksit radikali, tekli oksijen, ozon ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini doğrudan ortadan kaldırma kapasitesine sahiptir [7, 16, 17]. Ayrıca bitki hücrelerinin hem sitoplazmalarında hem de kloroplastlarında bol miktarda bulunan bir enzim olan askorbat peroksidazın hidrojen peroksiti enzimatik olarak ortadan kaldırması sırasında indirgeyici olarak görev almaktadır [16, 22].

Glutasyon oksidatif strese karşı korumada önemli bir moleküldür [23]. Glutasyon abiyotik ve biyotik streslere karşı yanıtta, glutasyon-askorbat döngüsünde ve bitkilerde protein tiyol-disülfid indirgenmesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır [15]. Glutasyon, çevresel stresler ve adaptatif yanıtlar arasında doğrudan bağlantı kurabilmektedir [23].

Bitki türlerinin yetiştiriciliği açısından sahip olduğu ekolojik koşulları ile dünya tarımında önemli bir yeri olan Türkiye, bitki gen kaynaklarının çeşitliliği açısından da zengin bir genetik potansiyele sahiptir. Bitki gen kaynaklarımızın zenginliği kadar şüphesiz bunların tanımlanması ve korunması da büyük önem taşımaktadır. Bitki türlerinde yapılan tanımlama çalışmalarına bakıldığında morfolojik özelliklere dayalı tanımlamaların ön plana çıktığı görülmektedir. Ancak bilindiği üzere bu tür tanımlamaların yetersizliği (çevresel koşullardan etkilenmesi, incelemeyi yapan araştırmacıya göre farklılık göstermesi, tanımlamada kullanılan kriterlerin azlığı gibi) dünyada ve ülkemizde bu yöntemlerin yavaş yavaş terk edilmesine ve araştırmalarda kesin sonuç veren DNA tanımlayıcıların kullanılmasına neden olmuştur. DNA düzeyindeki farklılıkları değişik hassaslık oranlarında ortaya çıkaran DNA belirteçler (markör) ise; son yıllarda öncelikli olarak AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeats) teknikleri ile uygulama bulmuştur [24].



Bu çalışmanın iki hedefi bulunmaktadır; bunlardan ilki, kuraklık toleransları farklı olan iki nohut türünde dışsal askorbat ve glutatyon uygulamalarının, kuraklık stresi altındaki bitkilerin antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerini ortaya koymaktır. Kuraklık stresi sonucunda bitkilerde oluşabilecek fizyolojik ve biyokimyasal hasarların dışsal askorbat ve glutatyon uygulamaları ile nasıl değişeceğini araştırmaktır. İkincisi ise, bu iki nohut türünde kuraklık toleransları farklı olan 25 çeşit arasındaki genetik ilişkiyi DNA belirteçlerinden SSR tekniği kullanarak göstermektir. Bununla birlikte, stres çalışmalarımızda kullanılacak olan çeşitlerin kimlik tanımlarını belirleyerek doğal materyal ile çalışmak ve strese dayanıklılık ile genetik ilişki arasında bir bağın olup olmadığını araştırmaktır.

## 2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Nohut Hindistan, Ortadoğu ve Afrika'nın bir kısmını kapsayan alanda çok uzun sreden beri yetiştirilen bir üründür. Yaklaşık olarak 7400 yıl önce ilk yetiştiriciliği bugünkü Türkiye sınırları içersinde yapılmıŐtır [25]. Yüksek miktarda protein içeriği nedeni ile oldukça önemli bir baklagil ürünüdür [2, 25, 26 ]. Nohut dünya'da kuru fasulye ve bezelyeden sonra yetiştirilen en önemli üçüncü baklagildir (FAO,2006) [27].

Akdeniz bitkileri, özellikle yazları, gün ortasında yüksek ışık, sıcaklık stresi ve kuraklık gibi çeşitli stres koşullarına maruz kalmaktadırlar [28]. Akdeniz bitkisi olan nohut yarı kurak ve kurak koşullarda yetiştirilen bir bitkidir. Yarı kurak ve kurak alanlarda karşı karşıya kalınan en önemli problemlerden bir tanesi ekimi yapılan bitkilere yeterli suyun ulaŐtırılamamasıdır [1]. Nohut ise derin kök sistemi sayesinde, toprağın daha derin kısımlarından suyu alarak kuraklık koşullarına karşı koyabilmektedir [4]. Buna rağmen, kuraklık nohut verimliliğini etkileyen en önemli stres faktörüdür [1].

## 2.1.BİTKİSEL ÜRETİMDE STRES

Bitkiler yaşamları süresince hem doğal hem de tarımsal koşullar altında değişik stres koşulları ile karşı karşıya kalırlar [29, 30]. Stres altında yetişen bitkilerin gelişimleri, metabolizmaları ve verimlilikleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Moran ve ark. [13], Fazeli ve ark. [8] kuraklık stresinin bitkilerde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal yanıtların oluşmasına neden olarak, metabolik işlevlerini etkilediklerini rapor etmişlerdir. Kuraklık, yetersiz beslenme, tuzluluk, düşük ve yüksek sıcaklık, toprak ve atmosfer kirliliği, radyasyon gibi etmenler bitkisel üretimde verimi sınırlayan abiyotik streslerdir [29]. Hava sıcaklığı gibi bazı etmenler yalnızca birkaç dakikalığına stres oluştururken; topraktaki su içeriği gibi diğer bazı stresler ise günlerce sürebilir [30]. Çevresel stresler bitkilerde çeşitli fizyolojik ve moleküler yanıtların oluşmasına neden olmaktadır [10, 31].

Bitkisel üretimde stres, bitkilerin yaşadığı ortamda bir veya birden fazla etkenin, büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyerek, verim düşüklüğü ile sonuçlanan bir dizi gerileme olarak algılanmaktadır [29, 30]. Stres genellikle bitkinin yaşayabilirlik, verimlilik, büyüme ya da primer özümleme işlemlerine dayanılarak ölçülmektedir. Bu parametrelerin tümü bitkilerin büyümesi ile ilişkilidir [30]. Dünya üzerindeki ekilebilir alanlar stres faktörlerine göre sınıflandırıldığında doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi % 26'lık payıyla en büyük dilimi oluşturmaktadır [32]. Kuraklığa maruz kalan tarım alanları yaklaşık % 50 oranında ürün kaybına uğrar [20, 33, 34].

### 2.1.1.Nohut ve Kuraklık

Kuraklık, dünyanın farklı bölgelerinde nohut üretimini sınırlayan en önemli abiyotik strestir. Dünyadaki nohut üretiminin % 90'dan fazlası yağışın az olduğu yerlerde yapılır. Bu nedenle ürünün miktarı büyük ölçüde kullanılabilir suyun bulunmasına bağlıdır [36]. Nohutun kuraklığa toleransının çok iyi olduğu bilinmesine rağmen, kuraklık nohutta verimi düşürür ve toplam elde edilecek ürün miktarını azaltır [1, 27]. Kuraklığın dünya nohut (*Cicer arietinum* L.) üretiminde yaklaşık olarak 3,3 milyon ton ürün kaybına yol açtığını rapor edilmiştir [35].

Nohutta kuraklığa tolerans araştırmalarının hedefi ekstrem koşullar altında bitkinin hayatta kalmasını sağlayabilmekten ziyade, mevsimsel olarak artan su kıtlığında ürün üretiminin artırılması amaçlamaktadır [37]. Bu da erken olgunlaşma ve gelişmiş kök sistemi gibi stresten kaçınma mekanizmaları üzerine odaklanılmasını sağlamıştır [27, 38, 39].

Küresel ısınma dolayısıyla, birçok küresel iklim bilimci dünyanın bir çok bölgesinde kuraklığın artacağını bildirmiştir. Bu nedenle su stresine karşı bitkinin vereceği yanıtlar günümüzde giderek artan bir öneme sahip olmuştur [27]. Bitkiler yaşamları süresince birçok stres faktörü ile karşılaşmaktadırlar. Bitki üzerinde ender olarak tek başlarına etki yapabilen bu stres faktörleri, genellikle etkilerini eş zamanlı olarak gerçekleştirmektedirler [32]. Küresel anlamda kuraklık; yüksek sıcaklık ve radyasyon ile birlikte bitkileri ve ürün verimliliğini etkileyen en önemli faktör haline gelir [40].

Dünyanın birçok yerinde su kaynaklarının en büyük kullanıcısı tarımdır. Artan kuraklık ve kirlilik ile birlikte, yakın gelecekte su zor bulunan bir madde haline gelecektir. Bu nedenle tarımda yetiştiricilik ve gelişmiş su yönetimi için bitkiler üzerine etki eden kuraklık stresinin daha iyi anlaşılması çok önemlidir [27].

## 2.1.2.Su Kıtlığı ve Kuraklığa Direnç

Kuraklığa direnç mekanizmaları birkaç tipe ayrılmaktadır. Bunlar;

1-Kurumanın ertelenmesi: Dokudaki suyu koruyabilme yeteneğidir.

Kurumanın ertelenme mekanizmaları; suyu harcamayanlar ve suyu harcayanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Suyu harcamayanlar onu koruyarak kullanırlar. Bu bitkiler yaşamlarının sonraki dönemlerinde kullanmak üzere suyun bir bölümünü korurlar. Suyu harcayanlar ise aşırı miktarda su kullanırlar [30].

2-Kurumaya karşı tolerans: Su kaybı sırasında metabolik işlevin devam ettirilmesi yeteneğidir [30].

3-Kuraklıktan kaçış: Kuraklık oluşmadan önce, yağmurlu mevsim sırasında yaşam döngüsünün tamamlanması olayıdır. Saeed ve Francis [41], Saeed ve ark. [42] Laing ve Fischer [43] geç olgunlaşan genotiplerin yağışlı koşullara daha iyi adapte olduğunu, daha erken olgunlaşan genotiplerin ise stresli koşullara daha iyi uyum sağladığını göstermişlerdir.

## 2.2.BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Kuraklık en yaygın çevresel streslerden bir tanesidir ve neredeyse tüm bitki işlevlerini etkiler [7]. ROT'lar hem stres altındaki hem de stres altında olmayan bitkilerde üretilir [44]. Ancak çevresel stres sırasında bitkilerdeki ROT miktarı artar ve bu da bitkilerde oksidatif hasarın ortaya çıkmasına yol açmaktadır [7, 9, 45]. Nayyar ve ark. [4], Eyidoğan ve Öz [2] su ve tuz stresi altında yetişen bitkilerde ROT'ların miktarının arttığını rapor etmişlerdir. Biyokimyasal olarak stres, hücre metabolizmasında ROT oluşumunun artmasıyla karakterize edilmektedir. Kloroplastlardaki karbon özümlemesi sırasında indirgeyicilerin (NADPH) tüketimi ve elektron taşıma zincirinin ihtiyaç duyduğu ve fotosistem I bölgesinde üretilen elektron alıcıları arasındaki dengesizlik, elektronların alternatif bir alıcıya

aktarılmasına neden olmaktadır. Bu alıcı genellikle moleküler oksijendir ve böylece reaktif oksijen türleri oluşur [46]. Hücresel ortamda ROT'ların miktarı, oksidatif hasara karşı çok önemli bir koruma sağlayan antioksidan sistem ile belirlenir [15]. ROT'un neden olduğu hasarı azaltmak ya da önlemek için bitkiler; flavonoid, karetenoid, tokoferol, glutasyon ve askorbat gibi enzimatik olmayan ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), peroksidaz (PO), askorbat peroksidaz (AP), glutasyon redüktaz (GR) ve polifenol oksidaz (PPO) gibi enzimatik bileşiklerden oluşan bir antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir [17, 18, 28]. Bu sistem tüm bitki hücrelerinde bulunmaktadır [17]. Oksidatif stres sırasında hücre içi antioksidan sistemin aktivitesi değişmektedir ve bu durum çeşitli araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir. [7, 8, 18].

Hücrelerin antioksidan savunma kapasiteleri antioksidanların miktarı ve koruyucu pigmentleri ile belirlenmektedir. Antioksidan içeriğindeki değişiklikler bitki metabolizması üzerindeki çevresel stresin göstergesi olabilir [7].

Reaktif oksijen türlerini süpürücü antioksidan enzimlerin aktiviteleri ve seviyeleri farklı çevresel streslere toleransları ile uygunluk göstermektedir [7]. Artan antioksidan enzim aktiviteleri ile çevresel strese karşı direnç arasındaki ilişki literatürde birçok kez rapor edilmiştir [15, 18, 47]. ROT'ları ortadan kaldırma kapasitesinin su stresine tolerans ile ilgili olduğu ve strese dayanıklı genotiplerin ROT'ları ortadan kaldırma yeteneklerinin duyarlı genotiplere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur [4]. Türkan ve ark [18], Ünyayar ve ark [7] ve Sairam ve ark [47] kuraklığa daha dayanıklı olan türlerin duyarlı türlere oranla daha yüksek enzim aktivitesine sahip olduklarını bulmuşlardır. Strese maruz kalan bitkilerin antioksidan enzim aktiviteleri genellikle stres koşullarına karşı dayanıklılığın bir göstergesi olarak kabul edilir [7].

### 2.2.1. Bazı Antioksidan Sistem Elemanları ve İşlevleri

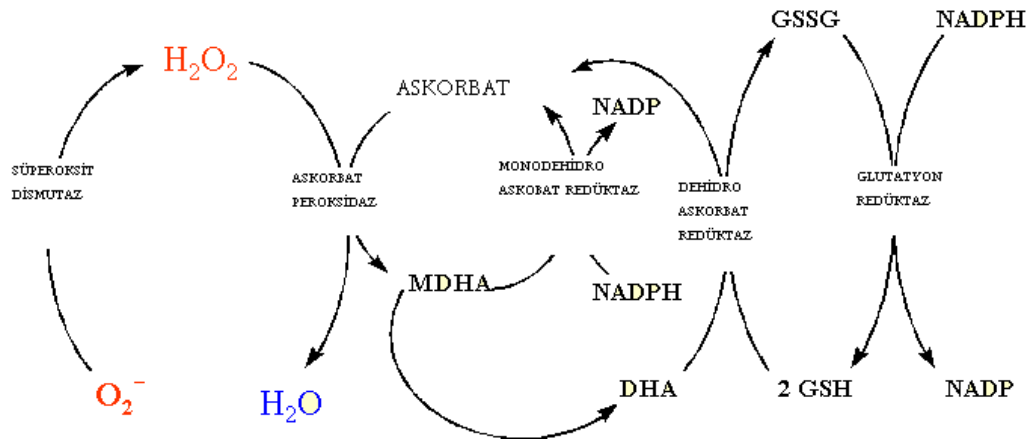
Süperoksit radikalini oksijen ve hidrojen perokside dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD) (Şekil 2.1) [13, 45, 48], reaktif oksijen türlerine karşı hücre içindeki ilk savunma hattını oluşturmaktadır [44, 48].

Bitki hücrelerinde serbest radikallerin ana süpürücüsü SOD'dır. Süperoksit radikali elektron taşıma zincirinin olduğu her hücre kısmında üretilir ve bundan dolayı reaktif oksijen türleri mitokondri, kloroplast, mikrozom, glioksizom, peroksizom ve sitosol gibi hücrenin farklı bölgelerinde oluşabilir (Şekil 2.2). Böylece SOD enzimine tüm bu hücre içi bölgelerde rastlamak mümkündür. Tüm bu hücre içi bölgeler süperoksit radikalini oluşturduğu yerler olsa da kloroplastlar, mitokondri ve peroksizomlar en önemli reaktif oksijen üretim yerleridir. Fosfolipid zarların süperoksit radikallerine karşı geçirgen olmadığı gösterilmiştir. Bu, SOD'un süperoksit radikallerini oluşturduğu yerlerde süpürdüğünün bir göstergesidir [44].

SOD'ın kullandığı kofaktöre bağlı olarak üç izoenzimi bulunur; demir SOD (FeSOD), bakır-çinko SOD (Cu/Zn SOD) ve manganaz SOD (MnSOD). Bunlar hücrenin farklı kısımlarına yerleşmişlerdir [44]. FeSOD kloroplastlarda, MnSOD mitokondri ve peroksizomlarda, Cu/Zn SOD ise kloroplast, sitosol ve hücrearası boşlukta bulunur [44, 45]. Bununla birlikte, son zamanlarda *Streptomyces*'in aktif merkezinde nikel barındıran yeni bir SOD belirlenmiştir. Bu izoenzimlerin duyarlılıkları birbirlerinden farklıdır [48].

Askorbat-glutasyon döngüsü (Şekil 2.1) oksidatif strese karşı antioksidan savunma sisteminde anahtar rol oynamaktadır [28, 46]. Bu döngünün enzimatik mekanizmasında, dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), glutasyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve askorbat peroksidaz (AP) gibi enzimler yer almaktadır [49]. SOD'un katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan ve güçlü bir oksidan olan  $H_2O_2$  [17, 27, 50] ; DNA ve proteinlerde hasara, stomaların kapanmasına, lipid peroksidasyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olur [50, 51].  $H_2O_2$ 'nin hücrede birikmesi, katalaz ya da askorbat-glutasyon döngüsü ile önlenir

[50]. Oluşan  $H_2O_2$  katalaz veya DHAR ve askorbat peroksidaz işbirliği ile süpürülür. Bu işlemlerde askorbat kullanılır ve işlemler sonucunda yeniden oluşturulur. Askorbat peroksidaz  $H_2O_2$ 'yi suya indirgemek için spesifik elektron vericisi olarak askorbattan yararlanarak  $H_2O_2$ 'nin süpürülmesinde önemli bir rol oynar, bu reaksiyona MDHA (Monodehidroaskorbat) oluşumu eşlik eder. MDHA, MDHAR ile askorbik asite dönüştürülür ya da enzimatik olmayan bir yolla askorbik asit ve DHA'ya dönüştürülür [17, 28]. MDHAR bitki hücrelerinde her yerde görülebilen bir enzimdir ve MDHA'yı askorbata indirgerken NADPH'ı kullanır [13].



Şekil 2.1 Askorbat-Glutatyon döngüsü

$H_2O_2$  askorbat-glutatyon döngüsü ile hızlı bir şekilde enzimatik bir yolla indirgenebilir. Bununla birlikte, bitkiler ayrıca askorbata bağlı bir reaksiyon ile  $H_2O_2$ 'i indirgeyen ve reaksiyon sonucunda su ve MDHA oluşturan AP izoenzimlerini de içermektedirler [52]. AP birçok hücre içi kısımlarda işlev görmektedir; bunlar içerisinde sitosol, kloroplastlar, mitokondriler ve peroksizomlar bulunmaktadır. Ayrıca hücre duvarında da bu enzimin aktif olduğu rapor edilmiştir [50]. Peroksizomlar ve mitokondriler katalaz enzimini de içermektedir. Farklı hücre kısımlarında  $H_2O_2$ 'i dağıtan bu enzim, örneğin peroksizom zarında ve sitosolde  $H_2O_2$ 'leri yakalamaktadır. Bu da fotosentez ve fotosolunum oranının yüksek olduğu durumlarda önem kazanmaktadır [53].



Bitkilerde, antioksidanlar metabolik ve çevresel etmenler nedeni ile üretilen ROT'a karşı koruma sağlarlar. Çok yaygın küçük molekülü antioksidanlar olan askorbat ve glutatyon bir çok işleve sahiptir. Bunlar antioksidan görevlerinin dışında fotosentezde, redoks sinyalinde, patojen savunmasında, metal ve ksenobiyotik detoksifikasyonunda ve büyümenin düzenlenmesinde rol almaktadır [54]. Askorbatın birçok işlevi olmasına rağmen bunların birçoğu henüz net olarak anlaşılamamıştır. Askorbat-eksik *A. thaliana* mutant vtel askorbatın savunma sistemindeki rolünün anlaşılması için birçok kanıt sağlamıştır [53].

Askorbik asit en fazla çalışılan ve en güçlü antioksidanlardan bir tanesidir. Birçok bitki hücresinde, organeller ve apoplastta belirlenmiştir [48]. Askorbik asit seviyesi türlerde, çeşitlerde hatta aynı türün dokularında bile değişebilir [21]. Fizyolojik koşullar altında yapraklar ve kloroplastlarda çoğunlukla indirgenmiş formda bulunur, ve hücre içi konsantrasyonu milimolar düzeyinde olabilir. Askorbik asit süperoksiti, hidroksil radikallerini ve tekli oksijeni doğrudan doğruya süpürebilir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i askorbat peroksidaz reaksiyonuyla suya indirgeyebilir [48].

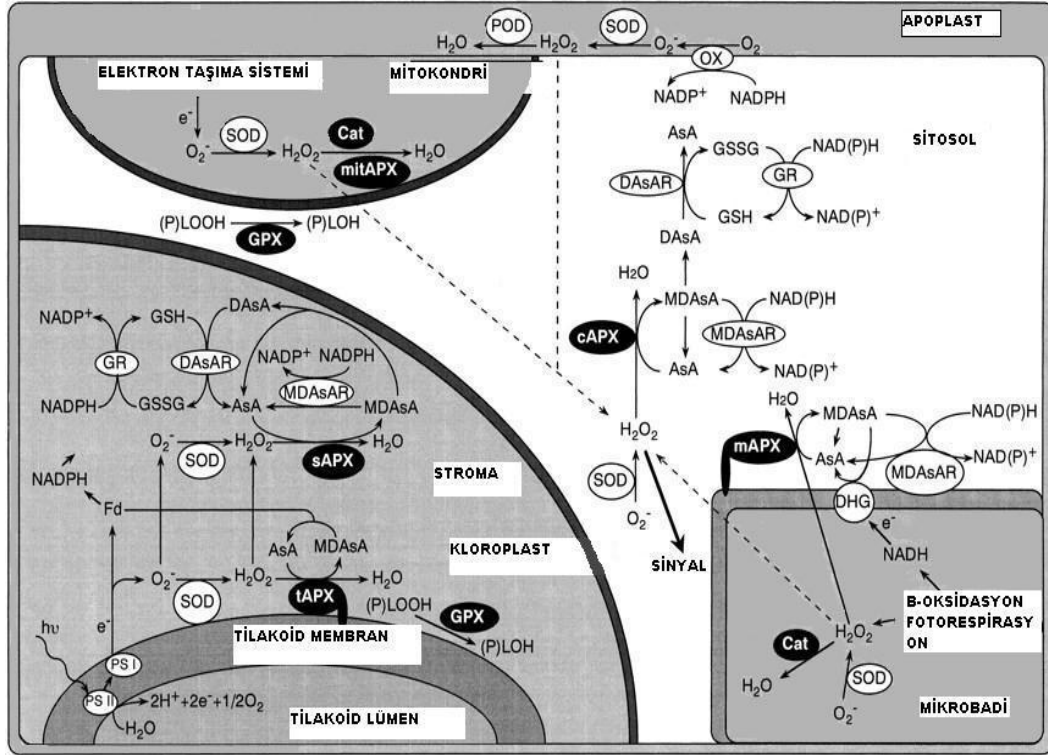
Diğer bir güçlü antioksidan molekülü olan glutatyon bitki dokularında bol miktarda bulunan bir bileşiktir [48]. Glutatyon bitkilerde büyük oranda kullanılan oksidatif stres belirteçidir ve bitki metabolizmasında çok yönlü işlev görmektedir [46, 48]. Birçok işlevinin yanı sıra glutatyon, ROT'u kontrol altında tutan hücresel antioksidatif savunma sisteminin esas bileşenidir. Antioksidatif savunma ve redoks reaksiyonları bitkilerin buldukları çevreye alışmalarında önemli bir rol oynar. Bu da glutatyonu uygun bir stres göstergesi yapar [46]. Mitokondri, vakuol, endoplazmik retikulum ve sitozol gibi hücrenin neredeyse tüm kısımlarında bulunur, okside formu ile birlikte redoks dengesini korurlar [48].

Son yıllarda glutatyonun hücresel ve moleküler olarak sentezinde, hücre içi rollerinde ve bu rollerin anlaşılmasında önemli gelişmeler olmuştur. Glutatyonunun hücresel bölgelerde antioksidan rollerinin olduğu gösterilmiştir [46, 48]. Glutatyon sitotoksik olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i süpürür ve enzimatik olmayan bir yol ile tekli oksijen, süperoksit radikali ve hidroksil radikali gibi diğer ROT ile reaksiyona girer.

Antioksidatif savunma sisteminde glutasyonun esas rolü, askorbat-glutasyon döngüsü yolu ile, diğeri bir güçlü suda çözünebilir antioksidan olan askorbik asidi yeniden oluşturmaktır [48].

Çizelge 2.1. Bazı ROT süpürücü enzimler ve katalizledikleri reaksiyonlar [48].

| Enzim               | EC Numarası | Katalizlediği reaksiyon                              |
|---------------------|-------------|--|
| Süperoksit dismutaz | 1.15.1.1    | $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \leftrightarrow 2H_2O_2 + O_2$ |
| Katalaz             | 1.11.1.6    | $2H_2O_2 \leftrightarrow O_2 + 2H_2O$                |
| Askorbat peroksidaz | 1.11.1.11   | $AA + 2H_2O_2 \leftrightarrow DHA + 2H_2O$           |
| Glutasyon redüktaz  | 1.6.4.2     | $NADPH + GSSG \leftrightarrow NADP^+ + 2GSH$         |



Şekil 2.2. ROT süpürücü enzimler ve hücrede buldukları bölgeler

### 2.3. MİKROSATELLİT BELİRTEÇLER (MARKÖRLER)

Mikrosatellit belirteçler (markörler); 2-6 baz uzunluğunda kısa tekrar dizileri olup, yüksek organizasyonlu canlılarda genoma özgünlük göstermektedir [27, 55] , kısa nükleotid dizilerinin iki ya da daha fazla sayıda hatta binlerce kez arka arkaya düzenli bir şekilde dizilmesi ile oluşmuş DNA dizileridir [55]. Moleküler belirteçler özel karakterlerin kontrol genlerinin genetik indikatörleridir [56]. Ökaryot genomunun her yerinde bulunabilirler [55]. Özel DNA fragmentleridir ve ilgili genin içinde ya da etrafında bulunurlar, bulunmaları kolaydır. Bir kere belirteç bulunduğu zaman bitki materyali belirtecin varlığı ya da yokluğu yönünde test edilebilir [56].

Bir mikrosatellit olan basit tekrar dizi (SSR) belirteçleri, DNA tabanlı moleküler belirteçlerdir. Tekrarlanabilir olmaları, polimorfik olmaları, ko-dominant olmaları, PCR tabanlı olmaları kolayca bir türe uygulanmaları ve radyoaktif olmamaları gibi çeşitli avantajlara sahiptir [27]. Genetik kimlik tanımlarını belirleyen tek belirteç özelliğine sahip SSR belirteçleri başta genetik tanımlama olmak üzere, moleküler evrim, genetik haritalama gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Basit tekrar dizileri PCR tabanlı ko-dominant belirteçlerdir, oldukça polimorfiktirler ve verdiği allellerin sayısı ve frekansı nedeni ile oldukça bilgi vericidir [56].

#### 2.3.1. Nohut İçin DNA Belirteç Sistemleri

Bitki yetiştiriciliğinde, moleküler belirteçler bir popülasyondaki genetik varyasyonları vermesi, istenilen örneğin izlenmesi ya da taranması ve istenilen genotiplerin seçimi gibi birçok amaç için kullanılabilir [56]. Nohuttaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi nohut yetiştiriciliği ve gen kaynaklarının korunması, özellikle hibrit bitkilerin ebeveynlerinin seçimi önemlidir [57].

Nohut'un tarımsal önemine rağmen, nohut üretimi hala düşüktür ve geleneksel yetiştirme metotları ürün yetiştiriciliğinde çok önemli bir ürün artışına neden olmamıştır. Moleküler belirteç destekli yetiştirme metotları nohutta potansiyel ürün yetiştiriciliği için umut vermektedir. Bununla birlikte, diğer önemli baklagillerle

kıyaslandığında nohut için üretilen mikrosatellit belirteçlerin sayısı oldukça azdır ve nohutun genom analizi ve genetik harita oluşumu için daha çok belirtece ihtiyaç vardır [27].

Genetik ayırım için gerekli olan kriterler farklı olabilir; bu kriterler morfolojik özellikler ya da moleküler belirteçler olabilmektedir. Moleküler belirteçler türler ve populasyonlar arasındaki genetik değişimin evrimi ve karakterizasyonunda kullanılan önemli araçlardır. DNA tabanlı belirteçlerin sayısı bitkilerde etkili bir genetik varyasyon belirlenmesi için uygundur. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) ve çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi (AFLP) birçok bitki türüne başarılı bir şekilde uygulanmış ve önemli bilgiler sağlamıştır. Ancak bu teknikler yavaş ve pahalıdır, geniş ölçüde populasyonların genetik çalışmalarındaki genetik varyasyonların ölçümü için uygun değildir, dominant olmaları, çok sayıda bölgeyi taramaları ve genetik kimlik özelliği göstermemeleri nedeni ile kullanımı sınırlıdır. Son zamanlarda, düşük miktarlarda DNA gerektiren PCR tabanlı rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) ve basit tekrar dizi (SSR) belirteçleri geliştirilmiştir. SSR belirteçleri oldukça polimorfiktir fakat primer dizaynı için nükleotid bilgisi gerektirmektedir [57].

Son yıllarda moleküler belirteçlerin kullanımı tarım bitkilerinin yetiştiriciliğini abiyotik ve biyotik streslere karşı kolaylaştırmaktadır. Moleküler belirteç teknolojisi nohutun genetik haritasının çıkartılmasına olanak vermiştir, bu sayede tarımsal olarak önemli genlerin seçimi ve klonlanması mümkün olmuştur [27].

Kültüre alınmış olan nohut türleri sınırlı genetik polimorfizme sahiptir [58, 59]. İzoenzimler, restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi ve rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) gibi yaygın olarak kullanılan belirteçler [60], genelde nohuttaki intraspesifik varyasyonları ortaya çıkaramadığı için kullanımı sınırlıdır [27, 60].

SSR belirteçleri fasulye, soya fasulyesi ve bezelye gibi yaygın yetiştirilen tahıl türleri için oluşturulmuştur. Son yıllardaki çalışmalar ile *Cicer arietinum*'dan polimorfik mikrosatellit sekanslarının karakterizasyonunun ve tanımlanmasının yapıldığını rapor edilmiştir [27, 55, 61] .

Son yıllarda, bitki yetiştiriciliğinde moleküler belirteçlerin kullanımı artmıştır. Moleküler belirteç teknolojisinin kurulması ve genetik haritaların oluşturulması belirteç destekli seçim ve nohuttaki dirençlilik genlerinin pozisyonel klonlanması için arzu edilen durumlardır. Kültüre alınmış olan nohutların genetik polimorfizm dereceleri oldukça düşüktür. Bu nedenle temel olarak *C.arietinum* çeşitlerinin, *C.reticulatum* ya da *C.echinospoermum* gibi yabancı akrabaları ile kıyaslanması ile moleküler çalışmalar yapılmaktadır [59].

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1.BİTKİ YETİŞTİRME KOŞULLARI

Fizyolojik analizler için Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde kültürü yapılan ve daha önce Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden alınan kuraklığa duyarlı *Cicer arietinum* ILC8617, ve kuraklığa dayanıklı yabancı nohut *C.reticulatum* AWC 611 kullanılmıştır. Ayrıca SSR analizleri için aynı üniversiteden elde edilen ILC8617, ICC4958, AWC611, AWC612 ve Ankara, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden elde edilen 21 nohut çeşidi kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bitkiler iklim odasında ve kontrollü şartlar altında (16 / 8 gün/gece ışık periyodu,  $23 \pm 2$  °C,  $480 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddeti, %  $65 \pm 5$  nem) yetiştirildi. Fideler belirli bir büyüklüğe geldikten sonra (35 gün) bunlardan ILC8617 ve *C.reticulatum* AWC611'in yaprakları solana kadar (10 gün) kuraklık stresine maruz bırakıldı. Stres uygulamasından önce bir grup bitkinin yapraklarına yapraklar tamamen ıslanana kadar askorbat (AS; 12.5 ve 25 mM) ve diğer grubun yapraklarına glutatyon (GSH; 10 ve 100 mM) püskürtüldü (Çizelge 3.2). Kuraklık uygulamasından sonra fidelerin yaprakları sıvı azotta dondurulduktan sonra enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan analizlerine kadar -70 °C'de saklandı. SSR analizi için bütün bitkilerden örnekler taze olarak alınarak kullanıldı.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan nohut çeşitleri, tescil yılları ve tescilleyen kurumlar

| Sıra No | Çeşit Adı           | Tescil Yılı | Çeşit Sahibi Kuruluş                       |
|---------|---------------------|-------------|--|
| 1       | Canitez 87          | 1987        | Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü       |
| 2       | İnci                |             |  |
| 3       | Akçin 91            | 1991        | Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü |
| 4       | ILC482 Güney Sarısı | 1992        | Güneydoğu Tarımsal Araştırma Enstitüsü     |
| 5       | İzmir 92            | 1992        | Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü.          |
| 6       | Menemen 92          | 1992        | Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü           |

|    |              |      |  |
|----|--------------|------|--|
| 7  | Aydın 92     | 1992 | Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü           |
| 8  | Damla 89     | 1994 | Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü     |
| 9  | Aziziye      | 1995 | Doğuanadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü   |
| 10 | Diyar 95     | 1995 | Güneydoğu Tarımsal Araştırma Enstitüsü     |
| 11 | Gökçe        | 1997 | Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü |
| 12 | Sarı 98      | 1998 | Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü           |
| 13 | Cevdetbey 98 | 1998 | Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü           |
| 14 | Küsmen 99    | 1999 | Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü |
| 15 | Uzunlu 99    | 1999 | Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü |
| 16 | Er 99        | 1999 | Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü |
| 17 | Işık         |      |  |
| 18 | Çağatay      | 2001 | Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü     |
| 19 | Dikbaş       | 2006 | TARM                                       |
| 20 | Taek Sağel   | 2006 | Türkiye Atom Enerjisi Kurumu               |
| 21 | Yaşa 05      | 2005 | Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü       |
| 22 | AWC 611      |      |  |
| 23 | AWC 612      |      |  |
| 24 | ILC 8617     |      |  |
| 25 | ICC 4958     |      |  |

Çizelge 3.2. AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarına AS ve GSH uygulamaları için oluşturulan deneme deseni

| Uygulama grubu | AS konsantrasyonu (mM) |      |    | GSH konsantrasyonu (mM) |    |     |
|----------------|------------------------|------|----|-------------------------|----|-----|
| Kontrol        | 0                      | 12.5 | 25 | 0                       | 10 | 100 |
| Kurak          | 0                      | 12.5 | 25 | 0                       | 10 | 100 |

## 3.2. ANTIÖKSİDAN SİSTEMİNİN ANALİZİ

### 3.2.1. Enzimatik Antioksidanların Belirlenmesi

#### 3.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD, EC.1.15.11) aktivite tayini

SOD aktivitesi Beyer ve Fridovich [62]'e göre yapıldı. Bunun için 1 g yaprak dokusu 5 mL fosfat tamponu ile homojenize edildi. Tampon 0,1 mM EDTA ve 100 mg PVP içermektedir. Saf ekstrakt +4°C'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. 2,4 mL fosfat tamponu, 1 mL sodyum karbonat, 200 µL L-Methionin, 200 µL nitro blue tetrazolium (NBT), 150 µL enzim ve 150 µL ribofilavin eklenerek reaksiyona başlatıldı. Örnekler 10 dk süreyle 25 °C ışık altında tutuldu. Spesifik enzim aktivitesi U/mg protein olarak belirlendi. Bir birim SOD aktivitesi 560 nm'de spektrofotometrede (Perkin-Elmer Lambda EZ210) ölçülen NBT redüksiyon hızının % 50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı olarak belirlendi. Unit, 25 °C'de 1 dk 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim (SOD) miktarını gösterecektir.

#### 3.2.1.2. Askorbat peroksidaz (AP,EC.1.11.1.11) aktivite tayini

AP aktivitesi Bonnet vd. [63]'e göre yapıldı. 150 mg yaprak dokusunun 200 mM (pH:7.8) HEPES, 2 mM EDTA, 5mM MgCl<sub>2</sub>, ve 4 mM sodyum askorbat içeren 1,5 mL ekstraksiyon ortamında homojenize edildi. Saf ekstrakt 4 °C'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. Reaksiyon karışımı 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH:7), 500 µM askorbat, 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ekstrakt içerecektir. 290 nm'de absorbanstaki düşüş; okside olan askorbat ölçülmüştür. AP spesifik aktivitesi (nmol.dk<sup>1</sup>.mg<sup>1</sup> protein) 290 nm'de askorbat için 2.8 µM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı.



### 3.2.1.3. Glutasyon redüktaz (GR,EC.1.6.4.2.) aktivite tayini

GR aktivitesi Calberg ve Mannervik [64]'e göre yapıldı. 1 g yaprak dokusu 5 mL potasyum fosfat tamponu (pH:7 ve 0,1 mM EDTA ) ve 100 mg PVP eklenerek homojenize edildi. Saf ekstrakt 4 °C'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. 3 mL 'lik UV küvet içerisinde 1,5 mL fosfat tamponu, 150 µM NADPH<sub>2</sub>, 150 µL okside glutasyon (GSSG), 1 mL H<sub>2</sub>O ve 200 µL ekstraktın eklenmesiyle reaksiyona başlatıldı. 1 dk süreyle 340 nm'de absorbanstaki azalma ölçüldü. Sonuçlar 1 dakikada oksitlenen NADPH<sub>2</sub>'nin µmol dk<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> protein değeri olarak hesaplandı.

### 3.2.1.4. Katalaz (KAT, EC.1.11.1.6.) aktivite tayini

Katalaz aktivitesi, Aebi [65]'e göre yapıldı. 1 g yaprak dokusu 5 mL potasyum fosfat tamponu (pH:7 ve 0,1 mM EDTA) ile 100 mg PVP eklenerek homojenize edildi. Reaksiyon 2.8 mL potasyum fosfat tamponu (pH:7 EDTA içermez), 80 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.5M) ve 120 µL enzim ekstraktının karıştırılması ile başlatıldı. Katalaz aktivitesi 240 nm'de 30 sn içindeki absorbansın azalması ile belerilendi ve sonuçlar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dk<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> protein olarak hesaplandı.

## 3.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanların Belirlenmesi

### 3.2.2.1. Askorbat miktarının belirlenmesi

Sıvı azotta donmuş yaprak örnekleri (1 g) 0.1 M soğuk sodyum asetat tamponunda (pH:3) homojenize edildi. Elde edilen homojenat 4 °C'de 5 dk. 7.000 g'de santrifüjlendi. Daha sonra süpernatant askorbat analizi için kullanıldı. Toplam askorbat ditiyotreitöl'ün dehidroaskorbatı askorbata indirilmesi ile elde edildi. Kromatografik ayırım Agilent 1100 HPLC analitik sistem kullanılarak yapıldı. Toplam askorbat 0.1 M sodyum asetat tamponu (pH: 5) kullanılarak 1.2 mL. min<sup>-1</sup> isokrotik akış hızı ve C18 kolon (250 x 4.6 mm) ile, UV dedektörde 264 nm'de analiz edildi [66].

### 3.2.2.2. Glutasyon miktarının belirlenmesi

Toplam glutasyon (redükte form GSH ve okside form GSSG) Hawrylak and Szymanska[67]'e göre sıvı azotta dondurulmuş yaprak örneklerinden ekstrakte edildi. Örnekler soğutulmuş havanda 2 vol/g 5 %'lik 5-sulfosalisilik asit (Standart) homojenize edildi. Homojenizasyondan sonra örnekler 10000 g'de 10 dk santrifüjlendi. Elde edilen supernatan toplam glutasyon analizi için kullanıldı. Bunun için, 700 µL günlük olarak tampon hazırlandı [545 µL 143 mM sodyum fosfat tamponu, 5 µL 6.3 mM Na<sub>4</sub>-EDTA (Merck) pH 7.5 ve 150 µL 0.248 mg/mL NADPH (Sigma)] ve üzerine 100 µL 6 mM DTNB (Sigma) ve 175 µL ultra saf su eklendi. Elde edilen solusyon sıcak su banyosunda 30 °C'de, 15 dakika tutuldu. Daha sonra, reaksiyonu başlatmak için 25 µL süpernatant ve 5 µL glutasyon redüktaz (Baker's yeast 168 U/mg protein, Sigma) ilave edildi. Sabit bir renk oluşana kadar örnekler bir kaç dakika bekletildi ve 412 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Toplam glutasyon içeriği redükte glutasyon (L-GSH Sigma) standart eğrisinden hesaplandı.

### 3.3. ÇÖZÜNÜR PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ

Çözünür protein miktarı, Lowry metodu[68] ile ölçüldü. 1 g taze yaprak dokusu 5 mL fosfat tamponu ile homojenize edildi. Saf ekstrakt 4 °C'de, 5 dk, 16000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. 1 mL örnek 50 °C'de su banyosuna alındı ve 10 dakika bekletildi. Üzerine 0,9 mL A solüsyonu [100 mL distile suda 0,2 g sodyum-potasyum tartarat ile 10 g sodyum karbonat (NaCO<sub>3</sub>)] eklendi ve 50 °C'de 10 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda tüpler su banyosunda çıkartıldı ve soğuyuncaya kadar oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. Üzerine 0,1 mL B solüsyonu [100 mL suda 0,2 g sodyum-potasyum tartarat ile 1 g bakır sülfat-5 sulu (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O)] eklendi. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Üzerine 3 mL C solüsyonu (1 mL Folin-Ciocolteu 15 mL su ile seyreltildi) eklenip karıştırıldı ve 50 °C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edildi. Tüpler su banyosundan çıkartılıp oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ultra saf su ile hazırlanmış kontrole karşı spektrofotometrik olarak 650 nm'de ölçüm yapıldı. Örneklerdeki protein miktarları Bovine Serum Albumine (BSA) ile hazırlanmış standart eğriden hesaplandı. Protein

tainlerinin yapılmasının amacı sentezlenen enzimlerin birim protein başına düşen miktarlarının yani spesifik aktivitelerinin saptanmasıdır.

### 3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel analizler Statistica 6.0 paket programında yapıldı. Değerlerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tüm değerlerin normal dağılım gösterdikleri sonucuna ulaşıldı. Değerlerin nohut türleri ve uygulamalar bakımından karşılaştırılması amacıyla iki yönlü varyans analizi testi kullanıldı. Farklı grupların belirlenmesinde ise Turkey HSD (Honestly Significant Difference) değeri hesaplandı.

### 3.5.SSR ANALİZİ

Yapılan çalışmada kullanılan yöntem Şekil 3.1.'de gösterildiği gibi aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır.

- DNA izolasyonu ve ölçümleri
- PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR
- Kapiller elektroforez
- Allel görüntülerinin alınması
- Genetik analizler

#### 3.5.1.DNA İzolasyonu

Genç yaprak dokularından DNA izolasyonu Lefort ve ark. [69]'nın protokolüne göre aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi. DNA kalite ve miktarının ölçülmesi amacıyla % 1'lik agaroz jel NanoDrop ND-1000 spektrofotometre kullanıldı.

- Bir miktar genç yaprak ve sürgün uçları alınarak sıvı azotta ezildi,
- Ezilen materyalden 150 mg alınarak 2 mL'lik ependorf tüplerine konuldu,
- Tüplerin üzerine 1 mL ekstraksiyon solüsyonu eklendi,
- Örnekler 65 °C'de su banyosunda ara sıra çalkalanarak bekletildi,
- Oda sıcaklığında 15 dk soğuması beklendikten sonra, örnekler üzerine 0,7 mL kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek iyice karıştırıldı ve ardından 30 dk buz üzerinde bekletildi,
- 10 dk 4 °C'de 14000 g'de santrifüj edildi,
- Üst sıvı yeni, temiz bir tüpe aktarıldı,
- Üzerine 0,8 mL isopropanol eklendi,
- Örnekler bir gece -20 °C'de bekletildi,
- 10 dk 14000 g'de santrifüj edildi, ve üst sıvı atıldı
- Alt katı (pellet) üzerine 1 ml % 70'lik etanol eklendi ve 5-10 sn sonra döküldü,

- Etanol uzaklaştırdıktan sonra, DNA 50-100 µL distile su ile çözüldü,
- Her 100 µL için 3 µL RNaz eklendi, 15 dk 37 °C 'de bekletildikten sonra RNA uzaklaştırıldı

#### Ekstraksiyon Solüsyonu

2mL TRİS (50mM, pH:8,0)

4mL EDTA (50mM, ph:8,0)

10mL LiCl (4M)

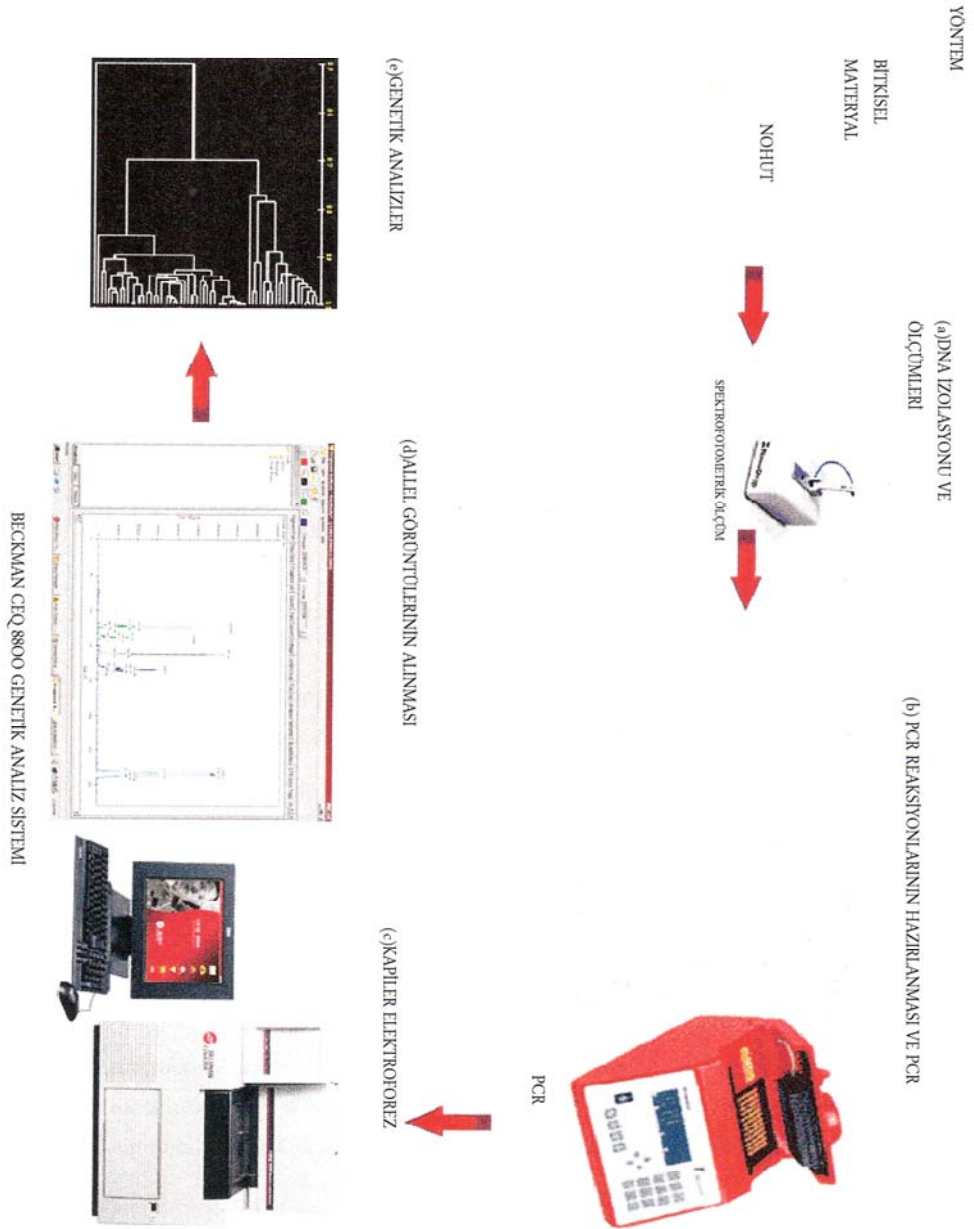
1gr CTAB (Cetytimethylamoniumbromide) (% 1)

2gr (Polyvynilprolidone) PVP (% 2)

0,5mL TWEEN 20 (% 0,5)

% 0,2 β-merkapto etanol

Kloroform/İsoamil alkol; (24:1) (hacim:hacim)



Şekil.3.1.SSR yönteminin aşamaları

### 3.5.2.PCR Reaksiyonlarının Hazırlanması

PCR reaksiyonu; 15-200 ng DNA, floresan olarak işaretlenmiş 5 pmol ileri (forward) primer, 5 pmol ters (revers) primer, 0,5 mM toplam dNTP, 0,5 ünite Go Taq DNA polimeraz (Promega), 3µL tampon 5X olmak üzere toplamda 15 µL'de gerçekleştirilmiştir.

#### 3.5.2.1.PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı

1. 94 °C'de 3 dk
2. 94 °C'de 1 dk
3. 58-66 °C'de 1 dk
4. 72 °C'de 2 dk
5. 72 °C'de 10 dk olmak üzere 35 döngü olarak uygulanmıştır.

PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri % 2'lik agaroz jelde kontrol edildikten sonra, amplifikasyonu gerçekleşmiş örneklerde kapileri elektroforez aşamasına geçilmiştir.

Çalışmada, Çizelge 3.3'de baz dizileri, kullanılan floresan boya ve Tm değerleri belirtilen 10 SSR primeri kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primerlerin baz dizilimleri, florasın renklere ve Tm değere [75]

| No | Lokus Adı | Primer dizileri (5'.....3') | İşaretleme Boyası | Tm (°C) |
|----|-----------|-----------------------------|-------------------|---------|
| 1  | NCPGR40F  | TGAACGAATCATGGCAAGAG        | MAVİ              | 64      |
|    | NCPGR40R  | GCCCTCCTTCTTGCTTACAA        |                   | 63      |
| 2  | NCPGR93F  | CAAAGTTTGTGCTAGGATTC        | YEŞİL             | 58      |
|    | NCPGR93R  | GAAGATCTCCGACGATGATA        |                   | 59      |
| 3  | NCPGR36F  | GTGGAGCCAAAAATCGACAT        | SİYAH             | 64      |
|    | NCPGR36R  | AACTTTATTTTCATTTGTCCATCAA   |                   | 61      |
| 4  | NCPGR34F  | TGGAAGGTGTTTTAGTGGGTG       | MAVİ              | 64      |
|    | NCPGR34R  | GACTAACTGGCCCCAAAA          |                   | 64      |
| 5  | NCPGR33F  | ACATCTTGAAGTGCCCCAAC        | YEŞİL             | 64      |
|    | NCPGR33R  | TGCAAGCAGACGGTTACAAG        |                   | 64      |
| 6  | NCPGR21F  | TCTACCTCGTTTTTCGTGCC        | SİYAH             | 64      |
|    | NCPGR21R  | TTGCTCCTTCAACAAAACCC        |                   | 64      |
| 7  | NCPGR100F | CCATTTTCTACAATCTCATGTCT     | MAVİ              | 59      |
|    | NCPGR100R | GTAGAAAGAGCCAAGAGGCA        |                   | 61      |
| 8  | NCPGR42F  | CCCCTAGTAGCAAATATTTTGACC    | YEŞİL             | 62      |
|    | NCPGR42R  | TTTGAATGCATTTCTTCATAGCA     |                   | 63      |
| 9  | NCPGR28F  | TGATGGAAGGTGATGTGGAA        | SİYAH             | 64      |
|    | NCPGR28R  | GAGGGGGAACGTTTTCTTT         |                   | 63      |
| 10 | NCPGR27F  | ACCCATTTTGGGTTTTCT          | MAVİ              | 63      |
|    | NCPGR27R  | TGCATCCAACCTGTTGTCTTG       |                   | 64      |



### 3.5.3. Kapileri Elektroferez ve Allel Görüntülerinin Alınması

Çalışmada Beckman CEQ 8800 Genetik Analiz Sistemi kullanılmıştır. Çeşitlerin PCR ürünleri (2-4 $\mu$ L) 20  $\mu$ L SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltilmiştir. Üzerine 0,4  $\mu$ L size standart-400 eklendikten sonra, CEQ 8800 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroferez edilmiştir. Daha sonra her bir lokusa ait pikler; tipleri ve renkleri göz önüne alınarak heterozigot ve homozigot olarak görüntülenmiştir. Her lokustaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir.

### 3.5.4. Genetik analizler

Bir freeware program olan IDENTITY 1.0 [70] yazılım programı kullanılarak her lokustaki allellerin sayısı (n), allele frekansı, beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho), sessiz (null) allellerin frekansı (r) ve tespit olasılığı (Identity of probability(PI)) değerleri Paetkau ve ark. [71] tarafından belirtildiği şekilde tespit edilmiştir. Benzer çeşitler ve ebeveyn tayini için de Identity programı kullanıldı. Bowcock ve ark. [72]'de açıklandığı gibi, paylaşılan allellerin oranı, ps'nın (1-(ps)) opsiyonu (option'ı) kullanılarak genetik uzaklık Microsat (versiyon 1.5) programı ile hesaplanmıştır [73], daha sonra bu veriler Microsoft Excel'de benzerlik matrisine dönüştürülmüştür. Dendogram ise; Unweighted Pair-Group Method of the Arithmetic Average (UPGMA)'e bağlı NTSYS-pc (Numerical Taxonomy System) software 2.02g versiyonu kullanılarak oluşturulmuştur [74].

### 3.5.5. Mikrosatellite (SSR) Analizleri

PCR amplifikasyonları ve kapillari elektroferez koşulları genel olarak aşağıda verildiği şekilde gerçekleştirildi;

15 ng DNA, 5 pmol her bir primer, 0.5 mM dNTP, 0.5 ünite GoTaq DNA Polimeraz (1.5mM MgCl<sub>2</sub> içeren) (Promega) olacak şekilde 10  $\mu$ L hacimde

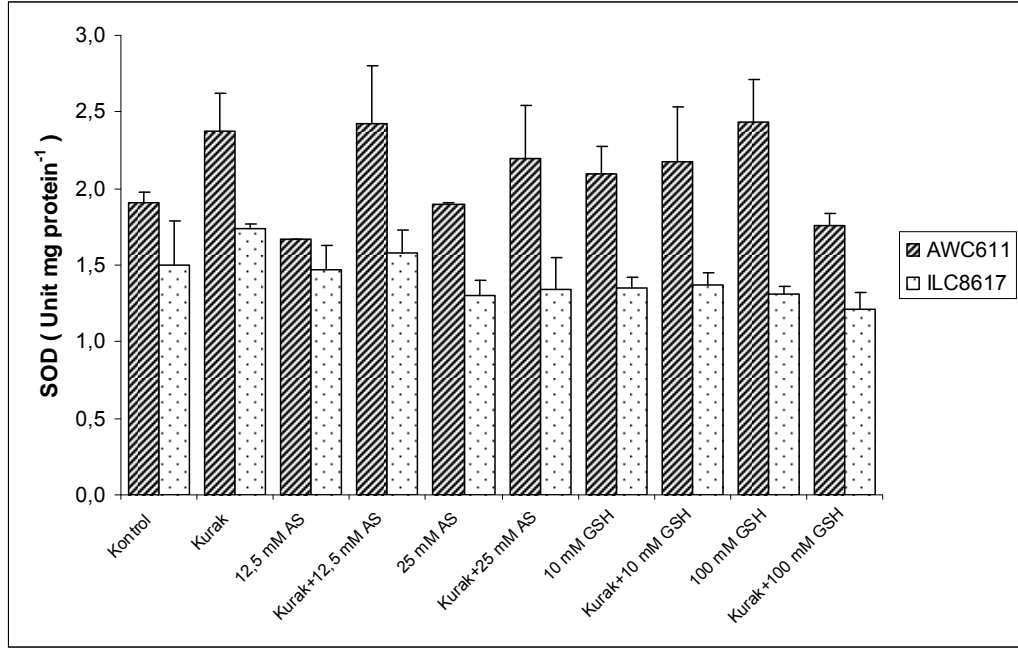
gerçekleştirilmiştir. Nohutta başta Sathy ve ark. [75] olmak üzere değişik araştırmacılar tarafından geliştirilen 10 veya 15 SSR lokusu kullanılmıştır. Araştırmada ileri (forward) primerler D2 (siyah), D3 (yeşil), D4 (mavi) WellRED floresan boya ile işaretlenmiş olarak kullanıldı (Prologo, Paris, France). PCR koşulları, 94°C'de 3 dk, 94°C'de 1 dk, 55-60°C'de 1 dk 72°C'de 2 dk 35 döngü olarak uygulanırken, son yazılım ise 72°C 'de 10 dk olarak gerçekleştirildi. PCR ürünleri işaretlemede kullanılan floresan boyalara göre belirli oranlarda SLS (sample loading solution) ile seyreltikten sonra, Genomelab DNA Standart Kit-600 eklenerek, CEQ 8800XL capillary DNA analiz sisteminde (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) elektroforez yapıldı. Her bireyin allel sayısı her SSR lokusu için Beckman CEQ fragment analysis software kullanılarak belirlendi ve bir çeşit her reaksiyonda 3 defa koşturularak referans niteliğinde kullanıldı.

## 4.BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1.BULGULAR

#### 4.1.1.SOD Aktivitesindeki Değişimler

Bu çalışmada, kuraklığa toleransları farklı olan her iki nohut türünde de kuraklık stresinin kontrol grubunda spesifik SOD aktivitesini arttırdığı bulunmuştur. Bu artışın kuraklığa dayanıklı olan AWC611’de ( $2,38 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}^{-1}$ ) kuraklığa duyarlı olan ILC8617’ye ( $1,74 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}^{-1}$ ) göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Kuraklık stresi uygulanmayan ve 12,5 mM askorbat uygulanan bitkilerde enzim aktivitesi kontrol gruplarına göre az da olsa azalmıştır. 12,5 mM askorbat uygulanan ve kuraklığa maruz bırakılan AWC611’de spesifik SOD aktivitesi belirgin bir şekilde artmıştır. 25 mM askorbat uygulanan AWC611’de SOD aktivitesi değişmezken, ILC8617’de kontrol grubuna göre azalmıştır. Kuraklık stresine maruz bırakılan ve 25 mM askorbat uygulanan duyarlı ILC8617’de SOD aktivitesi aynı kalırken, dayanıklı AWC611’de kontrol grubuna ve askorbat kontrolüne göre belirgin bir artış meydana gelmiştir. Hem kontrol hem de kuraklık stresi uygulanan ILC8617’de 10 mM ve 100 mM GSH uygulamaları uygulama görmemiş kontrole göre aynı derecede azalma göstermiştir. Bununla birlikte, her iki GSH konsantrasyonunun uygulanması (100 mM+kuraklık stresi hariç) iyi sulanmış ya da kuraklığa maruz bırakılmış AWC611’de SOD aktivitesinin kontrole göre belirgin bir şekilde artmasına neden olmuştur (Şekil 4.1). En belirgin artış iyi sulanan ve 100 mM GSH uygulanan bitkilerde görülmüştür ( $2,43 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}^{-1}$ ). SOD aktiviteleri bakımından her iki nohut türü için, uygulamalar ( $P<0,001$ ) ve Tür+Uygulamalar ( $P<0,05$ ) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.1)



Şekil 4.1. Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik SOD Aktivitesi

Çizelge 4.1. Süperoksit dismutaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları | Serbestlik Derecesi | Kareler Toplamı | Kareler Ortalaması | F Değeri | Prob     |
|----------------------|---------------------|-----------------|--------------------|----------|----------|
| Tür                  | 1                   | 6,8424          | 6,8424             | 172,896  | 0,000*** |
| Uygulama             | 9                   | 1,7963          | 0,1996             | 5,043    | 0,000*** |
| Tür+Uyg.             | 9                   | 0,9156          | 0,1017             | 2,571    | 0,019*   |
| Hata                 | 40                  | 26180           | 0,0396             |          |          |

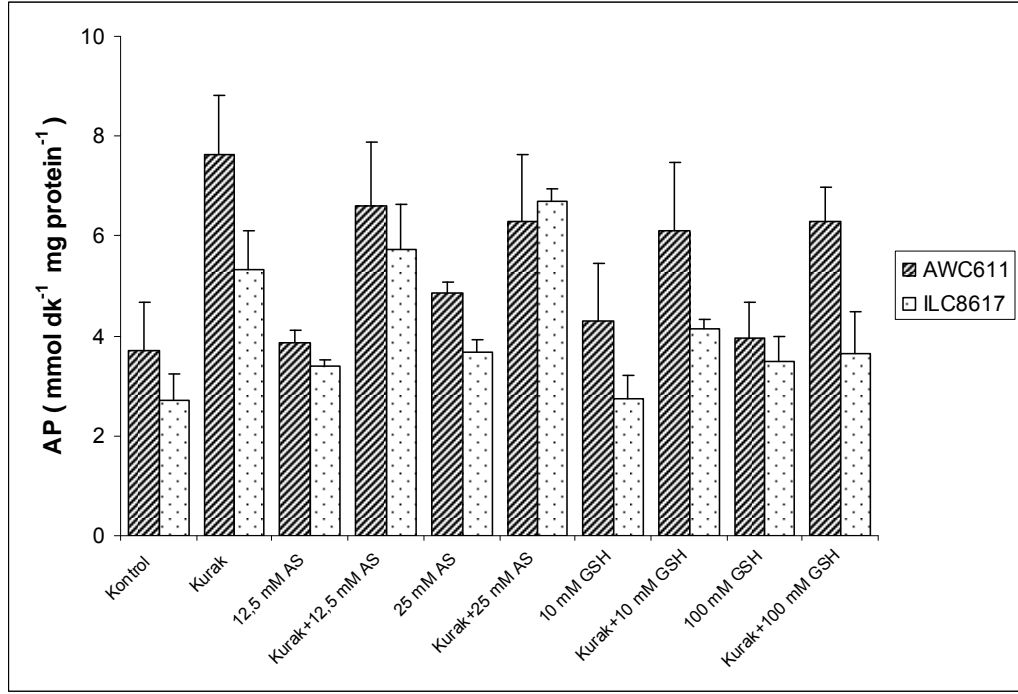
\*İstatistiksel olarak % 5 düzeyinde önemli (p<0,05)

\*\*\*İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (p<0,001)

#### 4.1.2. AP Aktivitesindeki Değişimler

Her iki nohut türünde de kuraklık stresi spesifik AP aktivitesini yaklaşık olarak iki kat arttırmıştır. İyi sulanan ve 12,5 mM askorbat uygulanan ILC8617'de enzim aktivitesi iyi sulanan kontrol gruplarına göre az da olsa artış gösterirken (3,39 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>), AWC611'de hemen hemen aynı kalmıştır. Kuraklığa maruz bırakılan ve 12,5 mM veya 25 mM askorbat uygulanan ILC8617'de iyi sulanmış kontrol gruplarına göre AP aktivitesi belirgin bir şekilde artmıştır (sırasıyla 5,74 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>, 6,71 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>, P<0,001 ). Bununla birlikte, 12,5 mM askorbat uygulanan AWC611'de kuraklık stresi enzim aktivitesini arttırmış ve 25 mM askorbat uygulamasında da aynı artış görülmüştür (sırasıyla 6,59 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>, 6,31 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>). En yüksek AP aktivitesi kuraklığa maruz bırakılan AWC611'de görülürken (7,64 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>), ILC8617'de kuraklık stresinde 25 mM askorbat uygulandığında belirlenmiştir (6,71 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>).

İyi sulanmış ve 10 mM veya 100 mM glutatyon uygulanmış olan her iki nohut türünde AP aktiviteleri kontrol gruplarına göre önemli değişiklikler göstermemiştir. Kuraklık stresine maruz bırakılan ve 10 mM ve 100 mM glutatyon uygulanan AWC611'de iyi sulanmış bitkilere göre AP aktivitesi belirgin bir şekilde artmıştır (sırasıyla 6,09 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>, 6,30 mmol mg<sup>-1</sup> protein dk<sup>-1</sup>). AP aktiviteleri bakımından her iki nohut türü ve uygulamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,001).



Şekil 4.2. Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik AP aktivitesi

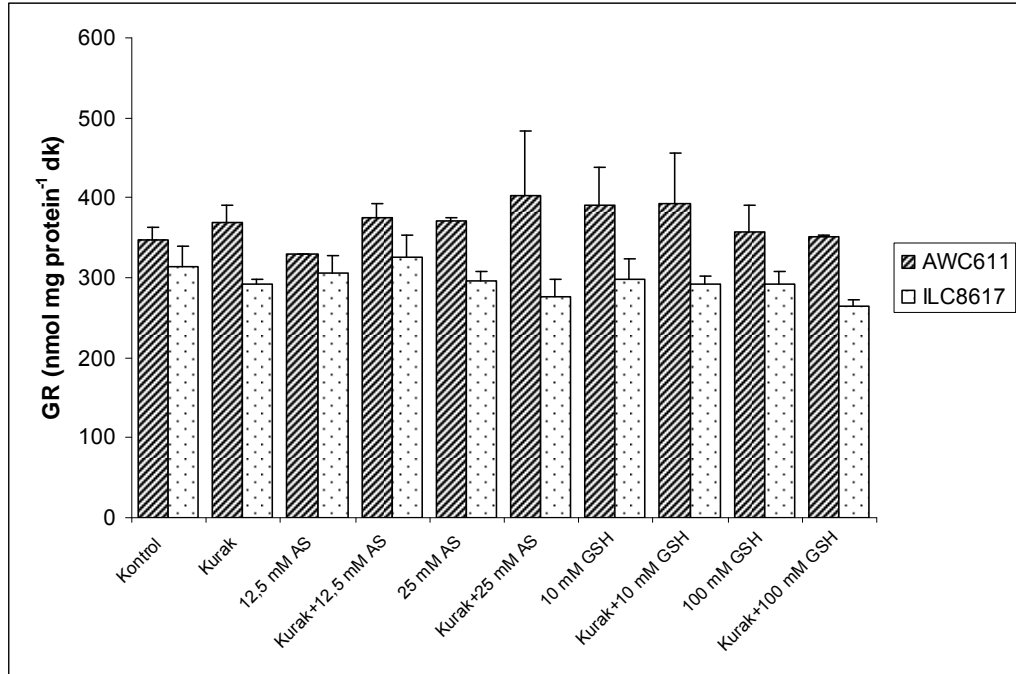
Çizelge 4.2. Askorbat peroksidaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları | Serbestlik Derecesi | Kareler Toplamı | Kareler Ortalaması | F Değeri | Prob     |
|----------------------|---------------------|-----------------|--------------------|----------|----------|
| Tür                  | 1                   | 21,850          | 21,850             | 33384    | 0,000*** |
| Uygulama             | 9                   | 88,344          | 9,816              | 14998    | 0,000*** |
| Tür+Uyg.             | 9                   | 11,728          | 1,303              | 1991     | 0,066    |
| Hata                 | 40                  | 26,180          | 0,655              |          |          |

\*\*\*İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli ( $p < 0,001$ )

#### 4.1.3. GR Aktivitesindeki Değişimler

Kuraklık stresi sırasında askorbat veya glutatyon uygulamaları GR aktivitesinde az artış ve azalmalara neden olmuştur. Kuraklık stersine maruz bırakılan AWC611’de 25 mM askorbat veya 10 mM glutatyon uygulamaları GR aktivitesini iyi sulanmış kontrol gruplarına göre attırmıştır (sırasıyla 403,44 Unit  $\text{mg}^{-1}$  protein $^{-1}$ , 392,17 Unit  $\text{mg}^{-1}$  protein $^{-1}$ ). En yüksek aktivite 25 mM askorbat uygulamasında görülmüştür. ILC8617’de glutatyon uygulamaları iyi sulanmış veya kuraklığa maruz bırakılmış gruplarında enzim aktivitesini belirgin şekilde değiştirmemiştir. GR aktiviteleri bakımından her iki nohut türü arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0,001$ ), uygulamalar arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.



Şekil 4.3. Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik GR aktivitesi

Çizelge 4.3. Glutasyon redüktaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları

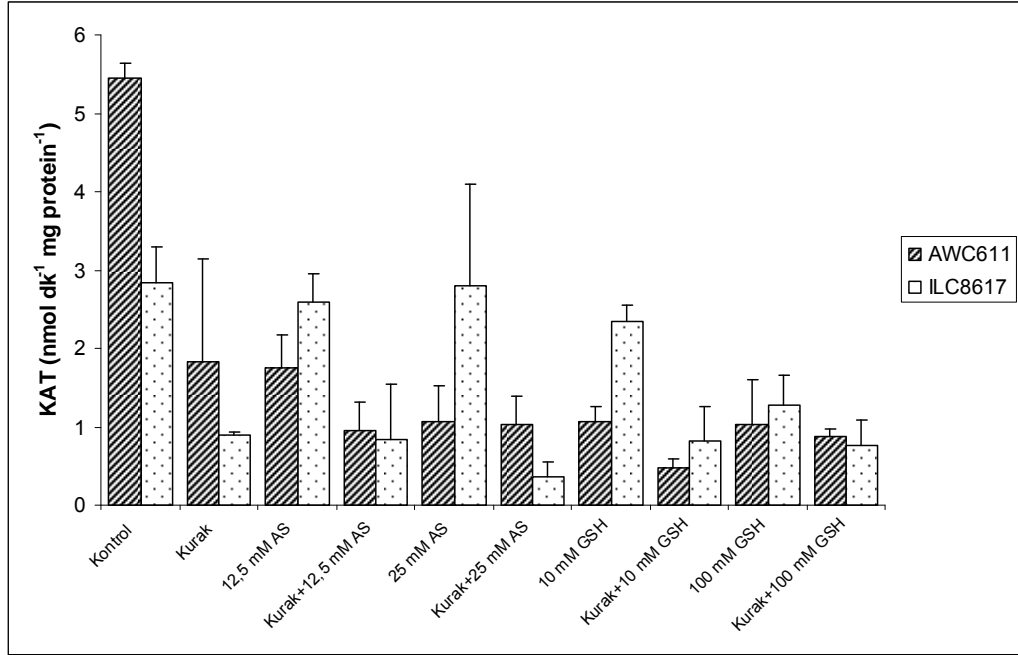
| Varyasyon Kaynakları | Serbestlik Derecesi | Kareler Toplamı | Kareler Ortalaması | F Değeri | Prob     |
|----------------------|---------------------|-----------------|--------------------|----------|----------|
| Tür                  | 1                   | 0,080525        | 0,080525           | 86,382   | 0,000*** |
| Uygulama             | 9                   | 0,008956        | 0,000995           | 1,068    | 0,407    |
| Tür+Uyg.             | 9                   | 0,013509        | 0,001502           | 1,610    | 0,145    |
| Hata                 | 40                  | 26180           | 0,655              |          |          |

\*\*\*İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli ( $p<0,001$ )

#### 4.1.4. Katalaz Aktivitesindeki Değişimler

İyi sulanmış kontrol AWC611'de KAT aktivitesinin ( $5,45 \text{ nmol dk}^{-1}, \text{ mg protein}^{-1}$ ,  $P<0,001$ ) hem kendi hem de ILC8617'nin bütün uygulama gruplarına göre oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Kuraklığa maruz bırakılan ve askorbat veya glutasyon uygulanan AWC611'de KAT aktiviteleri iyi sulanmış kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 5-5,5 kat azalmıştır. ILC8617'de ise her iki askorbat konsantrasyonunun uygulandığı gruplarda iyi sulanmış kontrol gruplarına göre KAT aktivitesi belirgin bir değişiklik göstermezken (sırasıyla  $2,59 \text{ nmol mg}^{-1} \text{ protein dk}^{-1}$ ,  $2,79 \text{ nmol mg}^{-1} \text{ protein dk}^{-1}$ ), kuraklığa maruz bırakılanlarda yaklaşık olarak 2-2,5 kat azalmıştır. 10 ve 100 mM glutasyon uygulamaları her iki nohut türünde de iyi sulanmış kontrol gruplarına göre KAT aktivitesini belirgin bir şekilde azalmasına neden olmuştur. En düşük KAT aktivitesi kuraklığa maruz bırakılan ve 10 mM glutasyon uygulanan AWC611'de görülmüştür ( $0,48 \text{ nmol mg}^{-1} \text{ protein dk}^{-1}$ ). KAT aktiviteleri bakımından her iki nohut türü arasındaki farklar önemli bulunmazken, uygulamalar ve tür x uygulamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ ).





Şekil 4.4. Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarındaki spesifik KAT aktivitesi

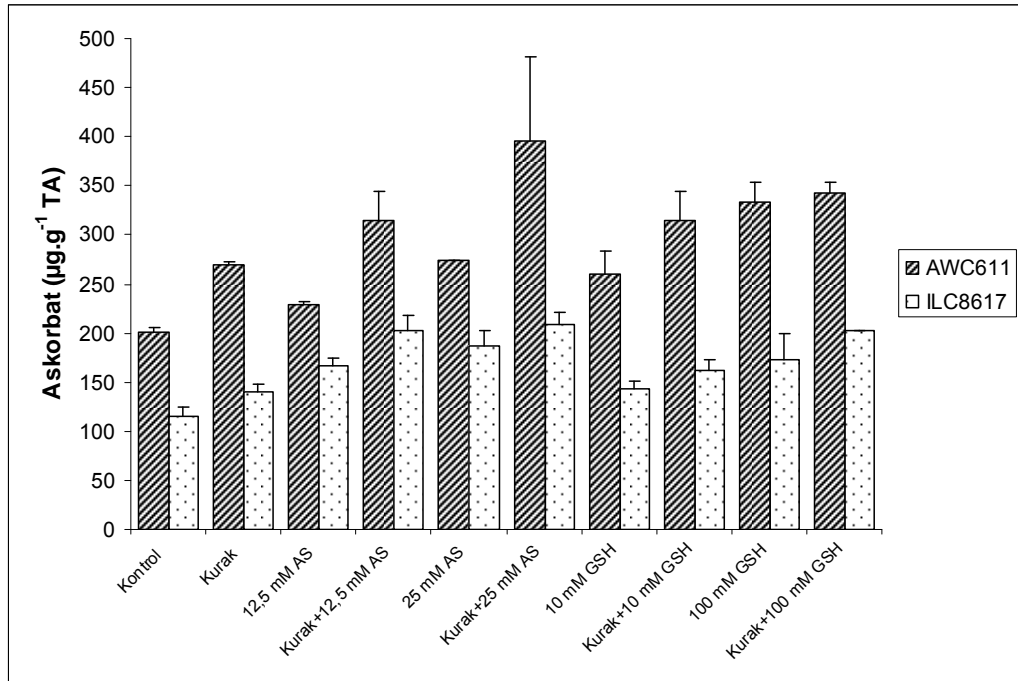
Çizelge 4.4. Katalaz spesifik enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları | Serbestlik Derecesi | Kareler Toplamı | Kareler Ortalaması | F Değeri | Prob     |
|----------------------|---------------------|-----------------|--------------------|----------|----------|
| Tür                  | 1                   | 0,0008          | 0,0008             | 0,0027   | 0,959    |
| Uygulama             | 9                   | 59,9843         | 6,6649             | 22,7803  | 0,000*** |
| Tür+Uyg.             | 9                   | 20,4038         | 2,2671             | 7,7488   | 0,000*** |
| Hata                 | 40                  | 11,7029         | 0,2926             |          |          |

\*\*\*İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (p<0,001)

#### 4.1.5. Askorbat Konsantrasyonundaki Değişimler

Kuraklık stresi her iki nohut türünde de askorbat (AS) miktarının artmasına neden olmuştur. İyi sulanmış veya kuraklığa maruz bırakılmış bitkilerde, uygulanan AS konsantrasyonuna bağlı olarak askorbat miktarı artış göstermiştir. Kuraklık stresine maruz bırakılan AWC611'e 25 mM AS uygulandığında en yüksek askorbat artışı olmuştur ( $396,20 \mu\text{g gr}^{-1}\text{TA}^{-1}$  ve  $P<0,001$ ). İyi sulanmış AWC611'e 10 mM glutatyon uygulanması ILC8617'ye göre AS miktarının daha fazla artmasına yol açmıştır. İyi sulanmış veya glutatyon uygulanmış olan AWC611'de glutatyon konsantrasyonlarına bağlı olarak AS miktarları ILC8617'ye göre daha belirgin bir şekilde artmıştır. AS miktarı bakımından her iki nohut türü, uygulamalar arasındaki farklar ( $P<0,001$ ) ve tür x uygulamalar arasındaki farklar ( $P<0,01$ ) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 4.5. Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarındaki askorbat içeriği

Çizelge 4.5. Askorbat konsantrasyonuna ait varyans analiz sonuçları

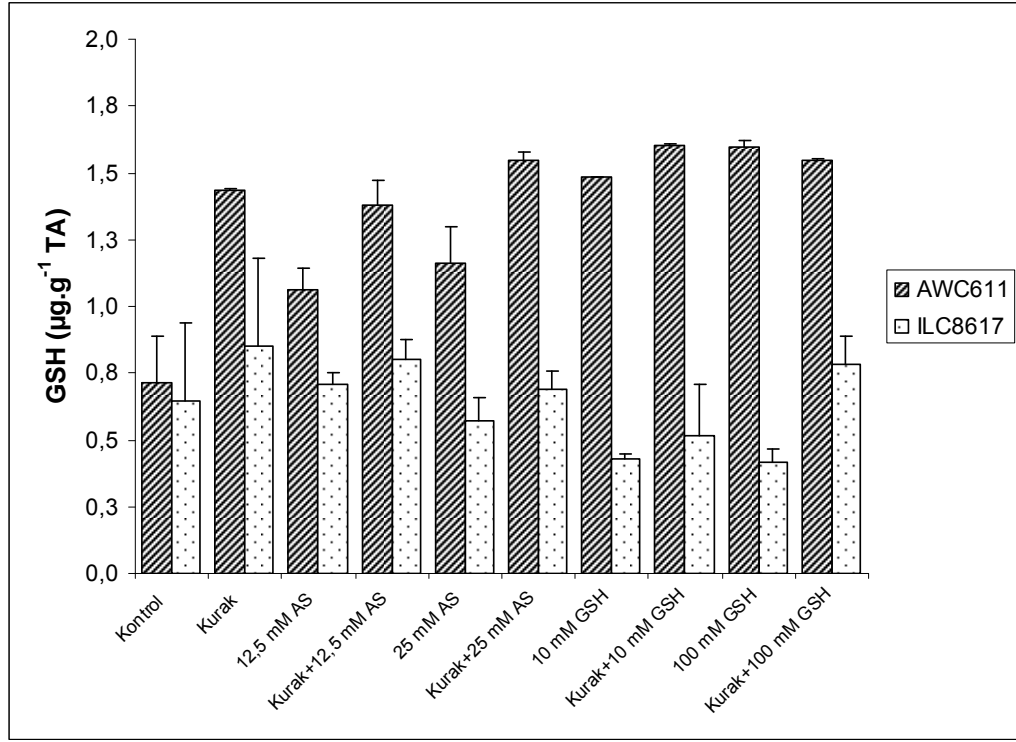
| Varyasyon Kaynakları | Serbestlik Derecesi | Kareler Toplamı | Kareler Ortalaması | F Değeri | Prob     |
|----------------------|---------------------|-----------------|--------------------|----------|----------|
| Tür                  | 1                   | 228526          | 228526             | 387006   | 0,000*** |
| Uygulama             | 9                   | 95765           | 10641              | 18020    | 0,000*** |
| Tür+Uyg.             | 9                   | 19927           | 2214               | 3750     | 0,002**  |
| Hata                 | 40                  | 23620           | 590                |          |          |

\*\*İstatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli(p<0,01)

\*\*\*İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli(p<0,001)

#### 4.1.6. GSH Konsantrasyonundaki Değişimler

GSH miktarı AWC611'nin bütün uygulama gruplarında özellikle kuraklık stresine maruz bırakılan uygulama gruplarında ILC8617'ye göre belirgin bir artış göstermiştir. Kuraklık stresi GSH miktarını iyi sulanmış kontrol grubuna göre ILC8617'de belirgin bir şekilde artırırken ( $0,8520 \mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$ ,  $P<0,001$ ), AWC611'de bu artış yaklaşık olarak iki kat gerçekleşmiştir ( $1,4420 \mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$ ,  $P<0,001$ ). ILC8617'de askorbat uygulamaları glutasyon miktarını iyi sulanmış ve 25 mM askorbat uygulama grubu hariç, az da olsa arttırmıştır. Bu nohut türünde 25 mM askorbat uygulaması glutasyon miktarının azalmasına neden olmuştur ( $0,5720 \mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$ ). En yüksek glutasyon miktarı kuraklığa maruz bırakılan ve 10 mM GSH uygulanan ve iyi sulanan ve 100mM GSH uygulanan AWC611'de belirlenmiştir (sırasıyla  $1,6020 \mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$ ,  $1,6020 \mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$ ,  $P<0,001$ ).



Şekil 4.6. Kuraklık, AS veya GSH uygulanan AWC611 ve ILC8617'nin yapraklarındaki GSH içeriği

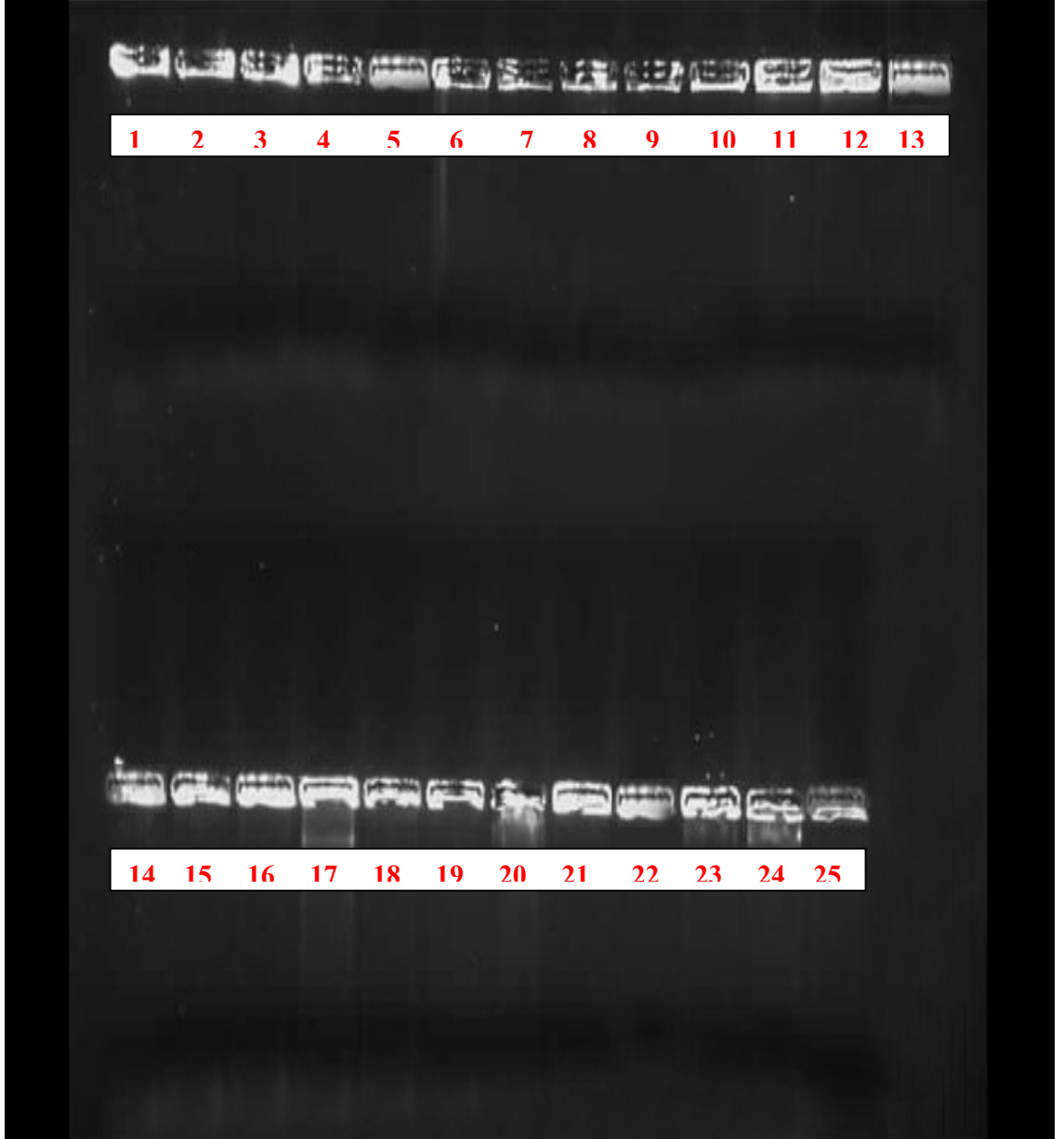
Çizelge 4.6. Glutasyon konsantrasyonuna ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları | Serbestlik Derecesi | Kareler Toplamı | Kareler Ortalaması | F Değeri | Prob     |
|----------------------|---------------------|-----------------|--------------------|----------|----------|
| Tür                  | 1                   | 7,59485         | 7,59485            | 456,655  | 0,000*** |
| Uygulama             | 9                   | 1,24429         | 0,13825            | 8,313    | 0,000*** |
| Tür+Uyg.             | 9                   | 1,64056         | 0,18228            | 10,960   | 0,000*** |
| Hata                 | 40                  | 0,66526         | 0,01663            |          |          |

\*\*\*İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (p<0,001)

#### 4.1.7. DNA İzolasyonu ve ölçümleri

Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların agaroz jel görüntüleri Şekil 4.7. 'de spektrofotometrik değerleri ise Çizelge 4.7.'de sunulmuştur.



Şekil 4.7. Nohut çeşitlerinin toplam DNA jel görüntüsü

Çizelge 4.7. Araştırmada kullanılan nohut çeşitlerine ait olan DNA'ların spektrofotometrik değerleri

| Örnek no | ng/µL   | A260   | A280   | 260/280 | 260/230 |
|----------|---------|--------|--------|---------|---------|
| 1        | 1971,37 | 39,427 | 21,381 | 1,84    | 1,36    |
| 1        | 1560,96 | 31,219 | 16,342 | 1,91    | 1,39    |
| 1        | 1614,36 | 32,287 | 16,948 | 1,91    | 1,4     |
| 2        | 2949,41 | 58,988 | 29,949 | 1,97    | 1,63    |
| 2        | 3114,51 | 62,29  | 32,207 | 1,93    | 1,55    |
| 2        | 2932,5  | 58,65  | 29,963 | 1,96    | 1,61    |
| 3        | 4271,46 | 85,429 | 43,259 | 1,97    | 1,77    |
| 3        | 4365,91 | 87,318 | 44,25  | 1,97    | 1,78    |
| 3        | 4315,59 | 86,312 | 43,838 | 1,97    | 1,77    |
| 4        | 3801,74 | 76,035 | 38,485 | 1,98    | 1,77    |
| 4        | 3768,59 | 75,372 | 37,032 | 2,04    | 1,82    |
| 4        | 3481,94 | 69,639 | 34,036 | 2,05    | 1,85    |
| 5        | 2410,37 | 48,207 | 24,076 | 2       | 1,61    |
| 5        | 2318,38 | 46,368 | 23,199 | 2       | 1,61    |
| 5        | 2339,84 | 46,797 | 23,604 | 1,98    | 1,59    |
| 6        | 1638,94 | 32,779 | 18,548 | 1,77    | 1,24    |
| 6        | 1442,77 | 28,855 | 15,605 | 1,85    | 1,24    |
| 6        | 1564,31 | 31,286 | 17,363 | 1,8     | 1,23    |
| 7        | 2995,15 | 59,903 | 30,113 | 1,99    | 1,62    |
| 7        | 3178,62 | 63,572 | 32,054 | 1,98    | 1,58    |
| 7        | 4297,57 | 85,951 | 50,16  | 1,71    | 1,23    |
| 8        | 1305,28 | 26,106 | 13,383 | 1,95    | 1,25    |
| 8        | 1335,07 | 26,701 | 13,988 | 1,91    | 1,17    |
| 8        | 1241,27 | 24,825 | 12,727 | 1,95    | 1,23    |
| 9        | 2036,69 | 40,734 | 23,423 | 1,71    | 1,12    |
| 9        | 1499,22 | 29,984 | 15,661 | 1,94    | 1,32    |
| 9        | 1991,8  | 39,836 | 23,155 | 1,72    | 1,12    |
| 10       | 1996,36 | 39,927 | 20,79  | 1,92    | 1,37    |
| 10       | 2027,01 | 40,54  | 21,282 | 1,9     | 1,35    |

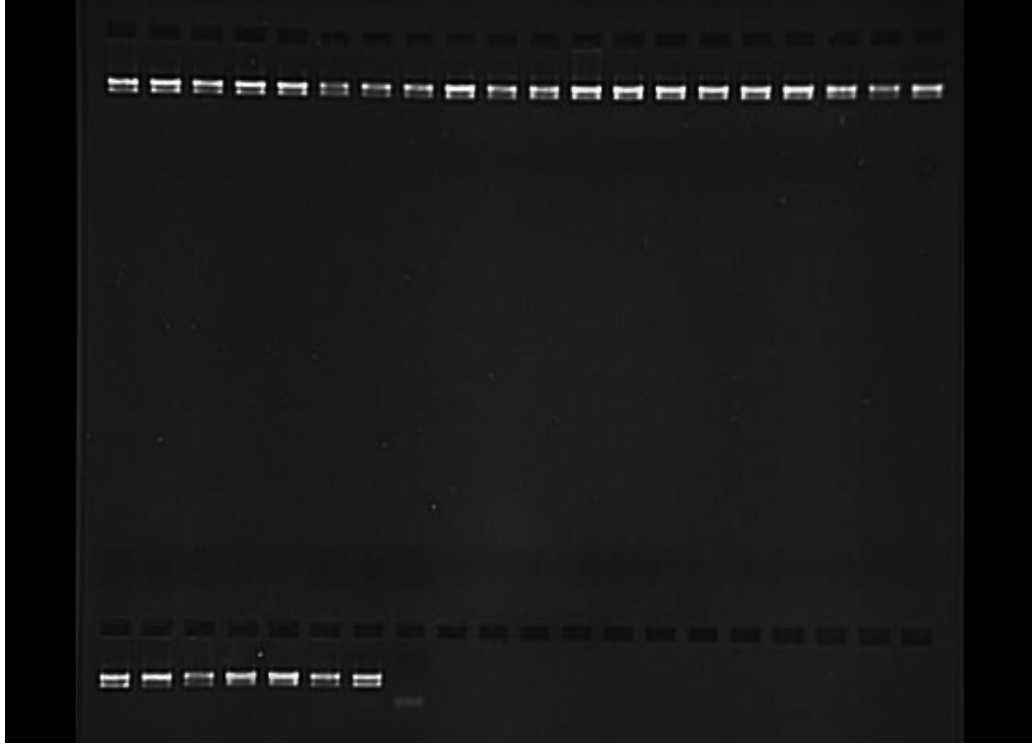
|    |         |        |        |      |      |
|----|---------|--------|--------|------|------|
| 10 | 1983,85 | 39,677 | 20,624 | 1,92 | 1,37 |
| 11 | 4256,75 | 85,135 | 49,858 | 1,71 | 1,25 |
| 11 | 3609,88 | 72,198 | 38,911 | 1,86 | 1,46 |
| 11 | 3311,53 | 66,231 | 34,434 | 1,92 | 1,6  |
| 12 | 1848,11 | 36,962 | 20,498 | 1,8  | 1,01 |
| 12 | 1840    | 36,8   | 20,763 | 1,77 | 0,93 |
| 12 | 1943,89 | 38,878 | 21,601 | 1,8  | 1,00 |
| 13 | 2194,9  | 43,898 | 22,799 | 1,93 | 1,15 |
| 13 | 2412,47 | 48,249 | 25,146 | 1,92 | 1,15 |
| 13 | 2191,54 | 43,831 | 22,696 | 1,93 | 1,15 |
| 14 | 3056,75 | 61,135 | 32,055 | 1,91 | 1,51 |
| 14 | 3211,86 | 64,237 | 34,469 | 1,86 | 1,27 |
| 14 | 3124,87 | 62,497 | 32,958 | 1,9  | 1,51 |
| 15 | 3408,97 | 68,179 | 33,879 | 2,01 | 1,64 |
| 15 | 3500,97 | 70,019 | 35,688 | 1,96 | 1,58 |
| 15 | 3360,62 | 67,212 | 33,389 | 2,01 | 1,65 |
| 16 | 2708,1  | 54,162 | 30,036 | 1,8  | 1,26 |
| 16 | 2314,09 | 46,282 | 25,14  | 1,84 | 1,27 |
| 16 | 2560,96 | 51,219 | 28,251 | 1,81 | 1,24 |
| 17 | 3464,43 | 69,289 | 35,646 | 1,94 | 1,52 |
| 17 | 3453,75 | 69,075 | 35,395 | 1,95 | 1,53 |
| 17 | 3549,92 | 70,998 | 36,565 | 1,94 | 1,51 |
| 18 | 3871,32 | 77,426 | 42,771 | 1,81 | 1,3  |
| 18 | 3583,92 | 71,678 | 38,96  | 1,84 | 1,44 |
| 18 | 3090,65 | 61,813 | 32,524 | 1,9  | 1,5  |
| 19 | 1155,18 | 23,104 | 11,661 | 1,98 | 1,07 |
| 19 | 1136,96 | 22,739 | 11,606 | 1,96 | 1,03 |
| 19 | 1200,43 | 24,009 | 12,335 | 1,95 | 1,02 |
| 20 | 2682,11 | 53,642 | 29,952 | 1,79 | 1,03 |
| 20 | 1671,27 | 33,425 | 17,024 | 1,96 | 1,31 |
| 20 | 1677,89 | 33,558 | 17,063 | 1,97 | 1,31 |

|    |         |        |        |      |      |
|----|---------|--------|--------|------|------|
| 21 | 2583,85 | 51,677 | 26,629 | 1,94 | 1,38 |
| 21 | 2544,88 | 50,898 | 26,118 | 1,95 | 1,38 |
| 21 | 2597    | 51,94  | 26,824 | 1,94 | 1,36 |
| 22 | 1967,83 | 39,357 | 20,268 | 1,94 | 1,5  |
| 22 | 1892,42 | 37,848 | 19,267 | 1,96 | 1,56 |
| 22 | 2097,32 | 41,946 | 21,798 | 1,92 | 1,17 |
| 23 | 1701,61 | 34,032 | 16,233 | 2,1  | 1,34 |
| 23 | 1444,77 | 28,895 | 14,502 | 1,99 | 1,26 |
| 23 | 1501,25 | 30,025 | 14,744 | 2,04 | 1,28 |
| 24 | 1287,73 | 25,755 | 12,718 | 2,03 | 1,08 |
| 24 | 714,04  | 14,281 | 8,026  | 1,78 | 1,12 |
| 24 | 1271,55 | 25,431 | 12,571 | 2,02 | 1,06 |
| 25 | 839,85  | 16,797 | 9,26   | 1,81 | 1,11 |
| 25 | 774,46  | 15,489 | 8,341  | 1,86 | 1,13 |
| 25 | 782,51  | 15,65  | 8,49   | 1,84 | 1,12 |

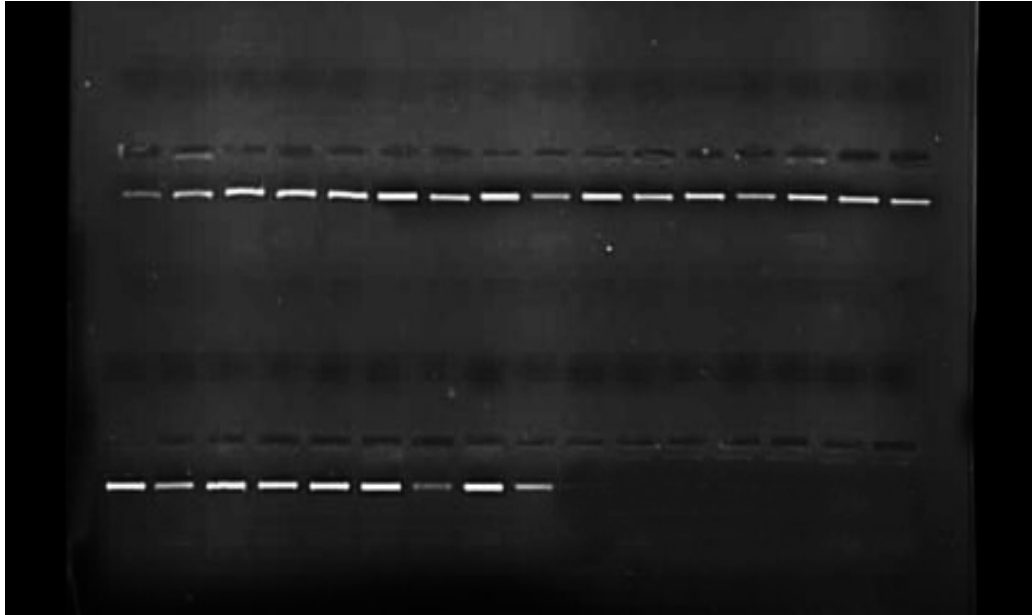
#### 4.1.8. SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntüleri

Bazı SSR lokuslarına ait PCR sonrası örnek jel görüntüleri Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10 'da gösterilmiştir.

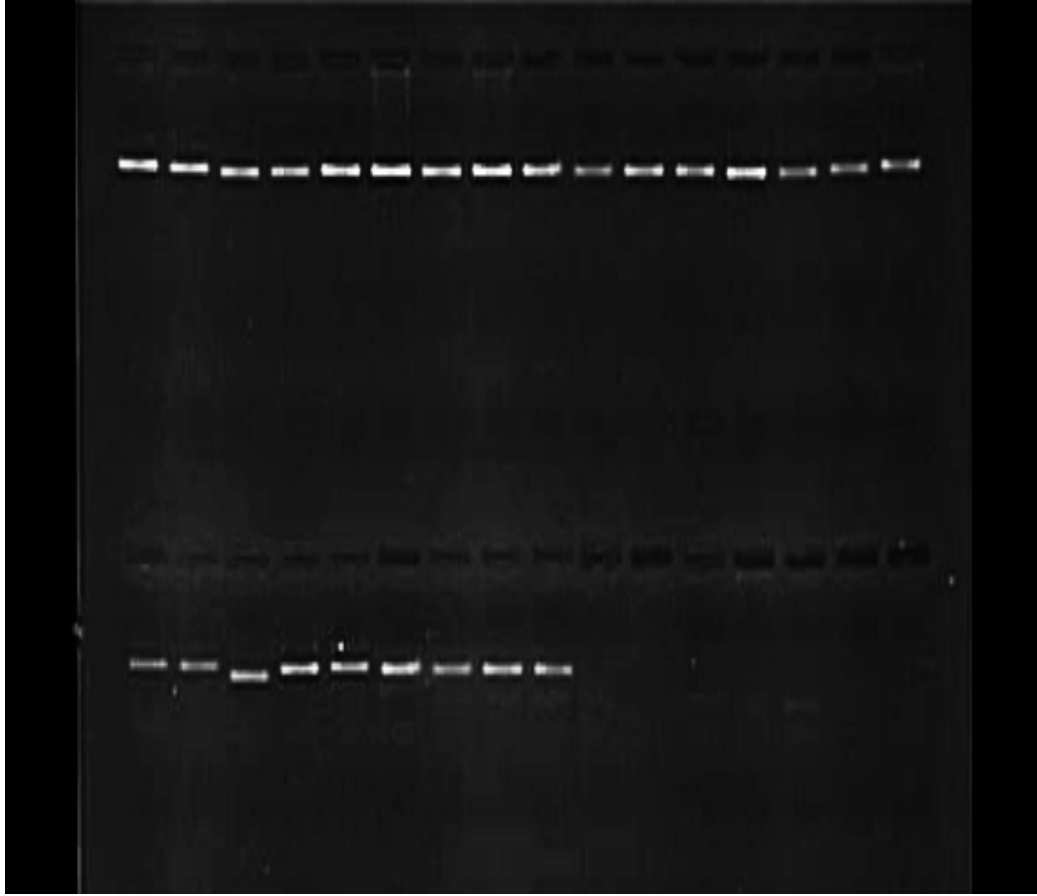




Şekil 4.8. NCPGR100 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



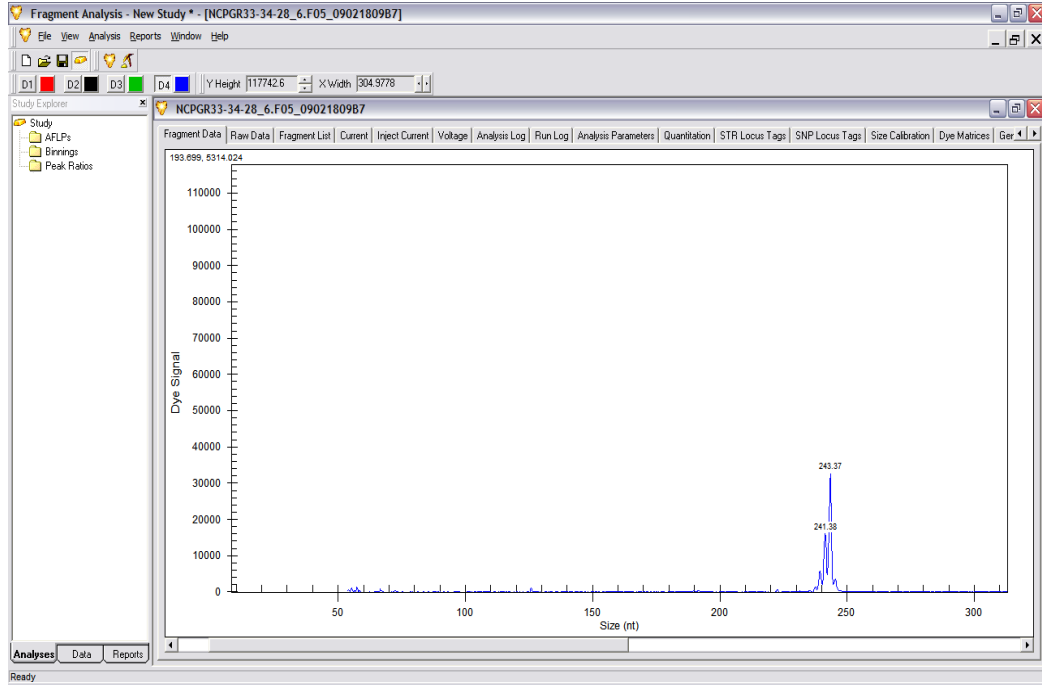
Şekil 4.9. NCPGR33 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



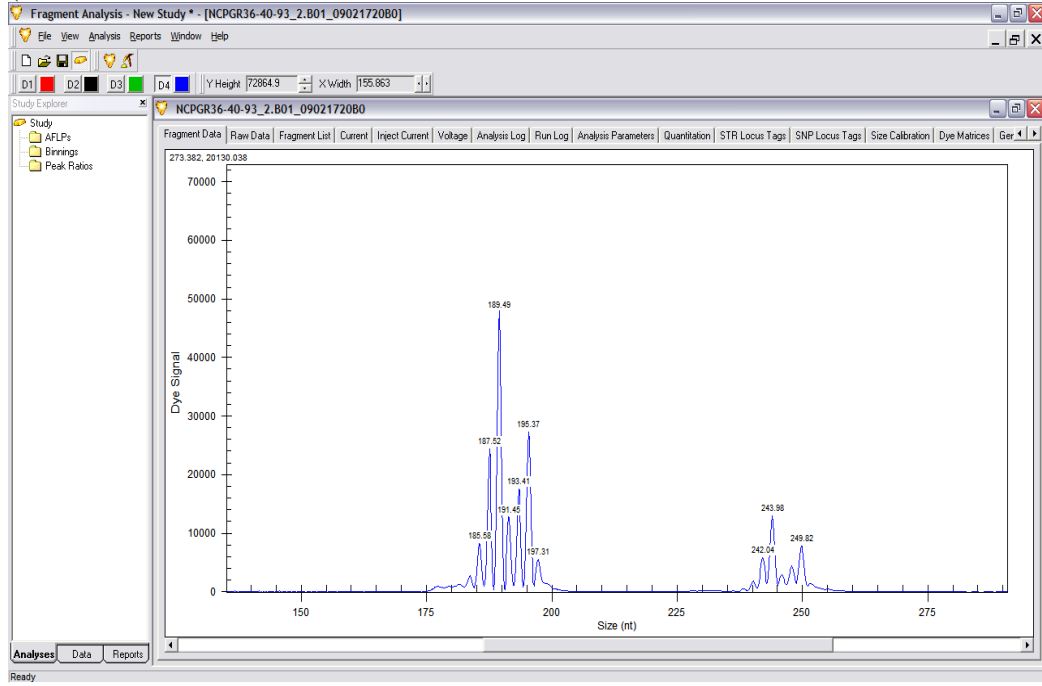
Şekil 4.10. NCPGR42 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü

Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki farklı görünüşleri Şekil 4.11 , Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.

(A)

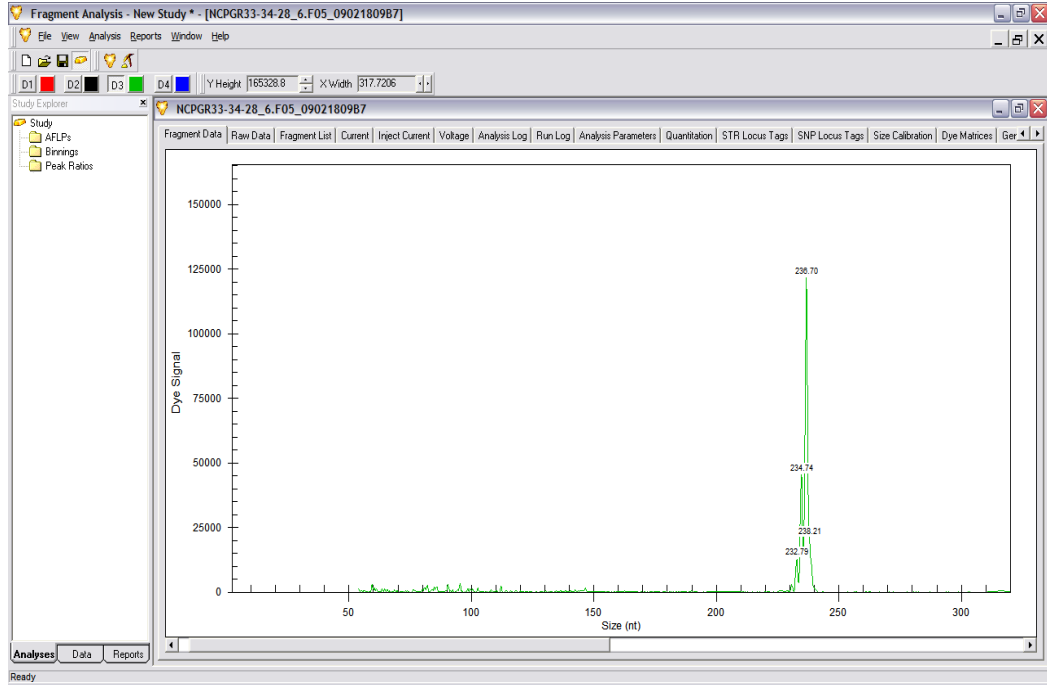


(B)

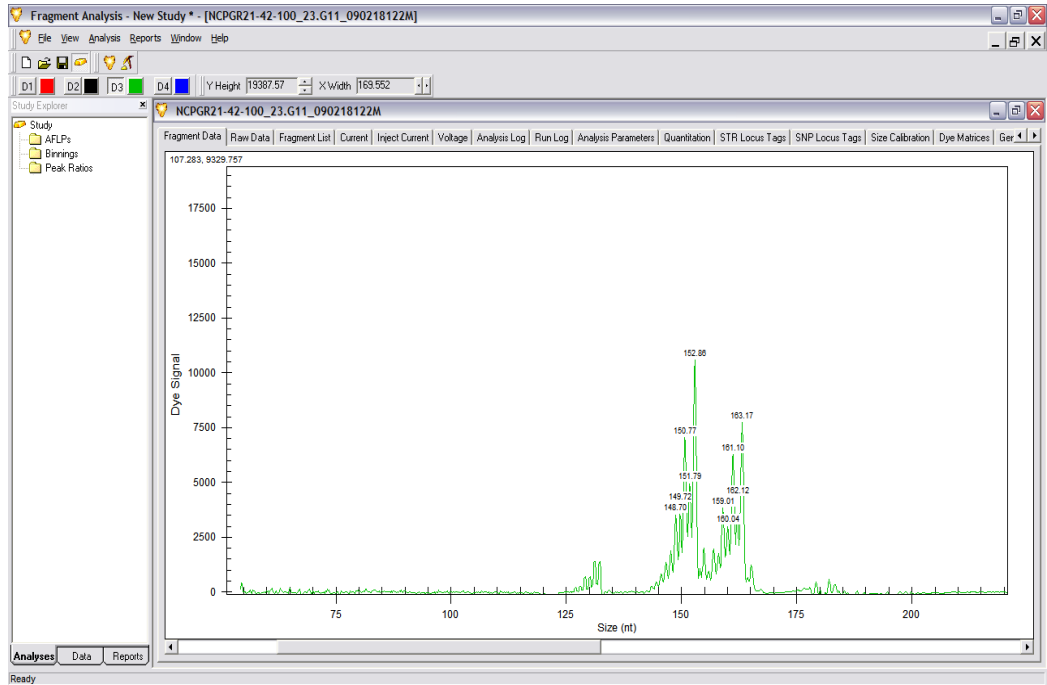


Şekil 4.11. Mavi boyayla işaretlenmiş bir Lokus-allel profilinin kapileri elektroferezdeki homozigot (A) ve heterozigot (B) allel görünümü

(A)

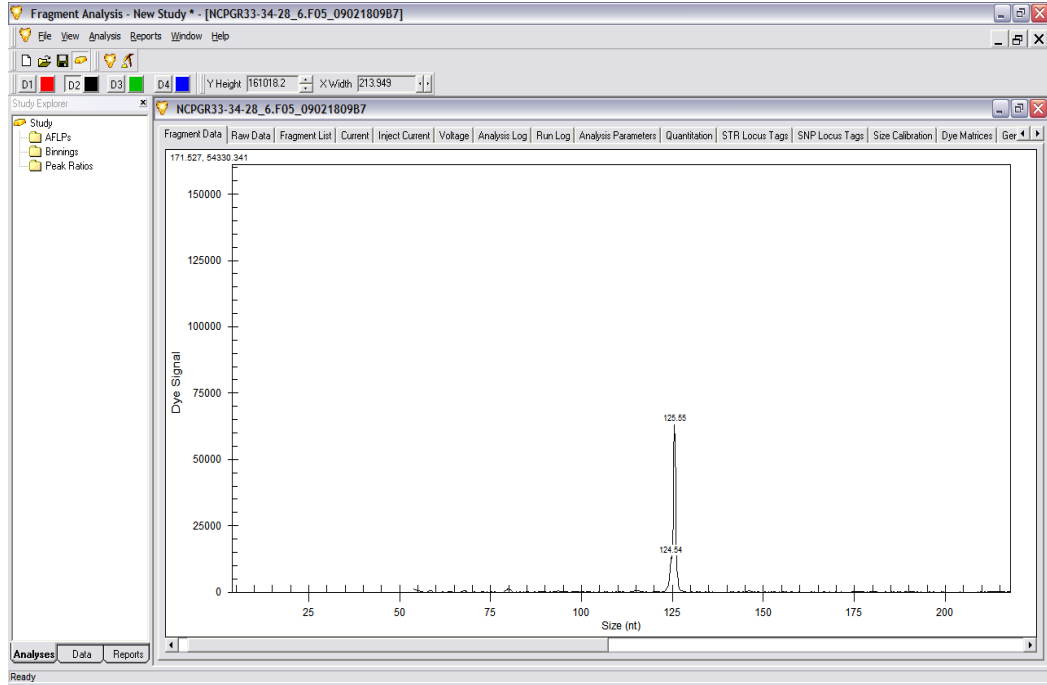


(B)

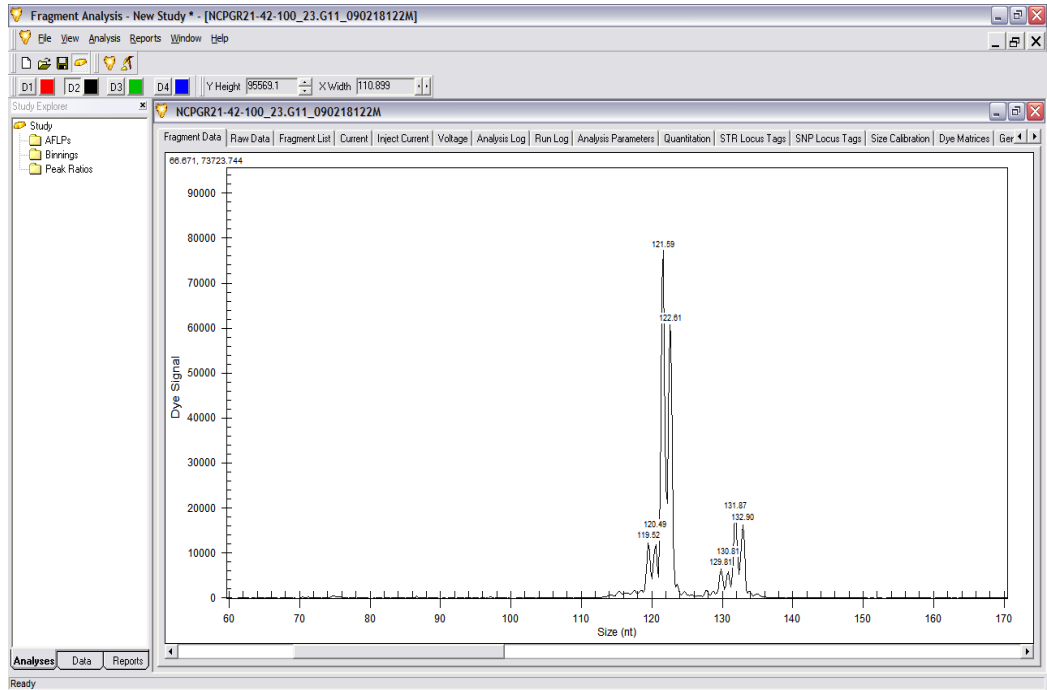


Şekil 4.12. Yeşil boyayla işaretlenmiş bir Lokus-allel profilinin kapileri elektroforezdeki homozigot (A) ve heterozigot (B) allel görünümü

(A)



(B)



Şekil 4.13. Siyah boyayla işaretlenmiş bir Lokus-allel profilinin kapileri elektroferezdeki homozigot (A) ve heterozigot (B) allel görünümü

#### 4.1.9. Genetik Analizler

Araştırmada 10 SSR lokusuna ait allel büyüklükleri baz çifti (bp) olarak izelge 4.8’de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. 10 SSR lokusuna ait allel büyüklükleri baz çifti (bp)

| No | Çeşitler    | NCPGR36 | NCPGR40 | NCPGR93 | NCPGR28 | NCPGR33 |     |     |     |     |         |
|----|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|-----|-----|-----|-----|---------|
| 1  | Canitez     | 203     | 203     | 189     | 244     | 301     | 301 | 222 | 222 | 240 | 240     |
| 2  | İnci        | 201     | 203     | 195     | 250     | 287     | 287 | 222 | 222 | 240 | 240     |
| 3  | Akçin 91    | 192     | 199     | 191     | 246     | 303     | 303 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 4  | ILC482      | 203     | 203     | 195     | 250     | 303     | 303 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 5  | İzmir 92    | 203     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 236 | 236     |
| 6  | Menemen92   | 203     | 203     | 191     | 246     | 297     | 297 | 222 | 222 | 236 | 236     |
| 7  | Aydın 92    | 201     | 203     | 191     | 246     | 297     | 297 | 222 | 222 | 236 | 236     |
| 8  | Damla 89    | 201     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 9  | Aziziye     | 203     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 236 | 236     |
| 10 | Diyar 95    | 201     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 236 | 236     |
| 11 | Gökçe       | 201     | 203     | 189     | 244     | 297     | 303 | 222 | 222 | 240 | 244     |
| 12 | Sarı 98     | 203     | 203     | 191     | 246     | 297     | 297 | 222 | 222 | 236 | 236     |
| 13 | Cevdetbey98 | 203     | 203     | 191     | 246     | 297     | 297 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 14 | Küsmen99    | 201     | 203     | 189     | 244     | 287     | 287 | 222 | 222 | 246 | 246     |
| 15 | Uzunlu 99   | 201     | 203     | 189     | 244     | 297     | 303 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 16 | Er 99       | 203     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 240 | 240     |
| 17 | Işık        | 203     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 240 | 240     |
| 18 | Çağatay     | 203     | 203     | 189     | 244     | 301     | 301 | 222 | 222 | 242 | 242     |
| 19 | Dikbaş      | 203     | 203     | 189     | 244     | 297     | 297 | 222 | 222 | 240 | 240     |
| 20 | Taek Sağel  | 203     | 203     | 191     | 246     | 297     | 303 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 21 | Yaşa 05     | 203     | 203     | 189     | 244     | 299     | 299 | 222 | 222 | 240 | 240     |
| 22 | AWC611      | 203     | 203     | 191     | 246     | 303     | 303 | 216 | 216 | 236 | 236     |
| 23 | AWC612      | 192     | 199     | 191     | 246     | 305     | 305 | 216 | 222 | 224 | 236 248 |
| 24 | ILC 8617    | 203     | 203     | 189     | 189     | 301     | 301 | 222 | 222 | 244 | 244     |
| 25 | ICC4958     | 203     | 203     | 191     | 191     | 317     | 317 | 222 | 222 | 236 | 236     |

| No | Çeşitler    | NCPGR34 |     | NCPGR21 |     | NCPGR42 |     | NCPGR27 |     | NCPGR100 |         |
|----|-------------|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|----------|---------|
| 1  | Canitez     | 241     | 241 | 157     | 157 | 179     | 185 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 2  | İnci        | 241     | 241 | 153     | 153 | 179     | 185 | 276     | 276 | 261      | 264     |
| 3  | Akçin 91    | 239     | 239 | 147     | 147 | 179     | 189 | 272     | 272 | 261      | 264     |
| 4  | ILC482      | 241     | 241 | 151     | 151 | 173     | 173 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 5  | İzmir 92    | 239     | 239 | 151     | 151 | 181     | 187 | 276     | 276 | 261      | 264     |
| 6  | Menemen92   | 243     | 243 | 147     | 147 | 181     | 181 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 7  | Aydın 92    | 241     | 241 | 147     | 147 | 179     | 187 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 8  | Damla 89    | 239     | 239 | 149     | 49  | 181     | 185 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 9  | Aziziye     | 239     | 239 | 151     | 151 | 181     | 189 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 10 | Diyar 95    | 239     | 239 | 147     | 147 | 179     | 185 | 272     | 272 | 261      | 264     |
| 11 | Gökçe       | 239     | 239 | 147     | 147 | 179     | 189 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 12 | Sarı 98     | 239     | 239 | 145     | 147 | 185     | 185 | 272     | 272 | 261      | 264     |
| 13 | Cevdetbey98 | 239     | 239 | 147     | 147 | 181     | 189 | 272     | 272 | 261      | 264     |
| 14 | Küsme99     | 237     | 239 | 147     | 147 | 179     | 179 | 278     | 278 | 261      | 264     |
| 15 | Uzunlu 99   | 239     | 239 | 147     | 151 | 177     | 181 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 16 | Er 99       | 241     | 241 | 147     | 147 | 179     | 179 | 278     | 278 | 261      | 264     |
| 17 | Işık        | 241     | 241 | 147     | 147 | 177     | 177 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 18 | Çağatay     | 243     | 243 | 151     | 151 | 173     | 173 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 19 | Dikbaş      | 241     | 241 | 147     | 147 | 179     | 179 | 278     | 278 | 261      | 264     |
| 20 | Taek Sağel  | 239     | 239 | 147     | 147 | 185     | 185 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 21 | Yaşa 05     | 239     | 239 | 155     | 159 | 177     | 185 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 22 | AWC611      | 233     | 233 | 153     | 157 | 161     | 161 | 270     | 274 | 248      | 261 271 |
| 23 | AWC612      | 243     | 243 | 123     | 133 | 153     | 163 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 24 | ILC 8617    | 241     | 241 | 151     | 151 | 167     | 173 | 274     | 274 | 261      | 264     |
| 25 | ICC4958     | 241     | 241 | 151     | 151 | 185     | 193 | 274     | 274 | 261      | 264     |



SSR lokuslarındaki genetik parametreler; allel sayıları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları, tespit olasılığı değeri ve sessiz allel frekansı Çizelge 4.9 'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. Lokuslardaki allel sayıları (N), Beklenen heterozigotluk (He), Gözlenen Heterozigotluk (Ho) , Tespit olasılığı (PI) ve Sessiz allel frekansı (r)

| Lokuslar | Allel sayıları (N) | Beklenen heterozigotluk (He) | Gözlenen heterozigotluk (Ho) | Tespit olasılığı(PI) değeri | Sessiz allel frekansı(r) |
|----------|--------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| NCPGR36  | 4                  | 0,368                        | 0,36                         | 0,482                       | 0,006                    |
| NCPGR40  | 6                  | 0,773                        | 0,92                         | 0,160                       | -0,082                   |
| NCPGR93  | 7                  | 0,692                        | 0,12                         | 0,188                       | 0,338                    |
| NCPGR28  | 2                  | 0,112                        | 0,04                         | 0,806                       | 0,065                    |
| NCPGR33  | 5                  | 0,702                        | 0,08                         | 0,265                       | 0,365                    |
| NCPGR34  | 5                  | 0,620                        | 0,04                         | 0,366                       | 0,358                    |
| NCPGR21  | 10                 | 0,691                        | 0,20                         | 0,208                       | 0,290                    |
| NCPGR42  | 11                 | 0,848                        | 0,60                         | 0,074                       | 0,134                    |
| NCPGR100 | 3                  | 0,519                        | 1,00                         | 0,577                       | -0,316                   |
| NCPGR27  | 5                  | 0,568                        | 0,04                         | 0,297                       | 0,337                    |
| TOPLAM   | 58                 |                              |                              |                             |                          |
| Ortalama | 5,8                | 0,589                        | 0,340                        | 0,342                       |                          |

10 SSR lokusu ile genetik analizler sonucu toplam 58 allel elde edilmiş ve ortalama allel sayısı 5,8 olarak bulunmuştur. Heterozigotluk değerlendirildiğinde beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) ortalamaları ise sırasıyla 0,589 ve 0,340 olarak belirlenmiştir. SSR lokuslarına ait her bir He ve Ho değerleri göz önüne alındığında NCPGR36, NCPGR93, NCPGR28, NCPGR33, NCPGR34, NCPGR21, NCPGR42 ve NCPGR27 lokuslarının beklenen heterozigotluk oranı, gözlenen heterozigotluk oranına göre yüksek bulunmuşken, NCPGR40 ve NCPGR100 lokuslarında gözlenen heterozigotluk beklenen heterozigotluğa göre daha yüksek bulunmuştur.

Allel sayıları dikkate alındığında en yüksek allel NCPGR42 (11 allel) lokusunda elde edilmiştir, bunu 10 allel ile NCPGR21 ve 7 allel ile NCPGR93 izlemiştir. En düşük allel ise NCPGR28 ( 2 allel) lokusunda elde edilmiş, bunu 3 allel ile NCPGR100 ve 4 allel ile NCPGR36 izlemiştir. PI değerlerinin tamamı Seft ve ark. [76] tarafından belirlenen 0,05 değerinin üzerinde elde edilmiş, null allerleri ise negatif ile 0,365 arasında değişmiştir.

Her bir lokustaki allel sayılarının oranlarını gösteren frekans değerleri Çizelge 4.10 'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. Lokuslara ait allel frekansları

| No | NCPGR36 | Allel Frekansı | NCPGR40 | Allel Frekansı | NCPGR93 | Allel Frekansı |
|----|---------|----------------|---------|----------------|---------|----------------|
| 1  | 191     | 0,04           | 189     | 0,30           | 287     | 0,08           |
| 2  | 199     | 0,04           | 191     | 0,20           | 297     | 0,50           |
| 3  | 201     | 0,14           | 195     | 0,04           | 299     | 0,04           |
| 4  | 203     | 0,78           | 245     | 0,26           | 301     | 0,12           |
| 5  |         |                | 247     | 0,16           | 303     | 0,18           |
| 6  |         |                | 249     | 0,04           | 305     | 0,04           |
| 7  |         |                |         |                | 317     | 0,04           |

Çizelge 4.10 (Devam)

| No | NCPGR28 | Allel Frekansı | NCPGR33 | Allel Frekansı | NCPGR34 | Allel Frekansı |
|----|---------|----------------|---------|----------------|---------|----------------|
| 1  | 216     | 0,06           | 236     | 0,34           | 233     | 0,04           |
| 2  | 222     | 0,94           | 240     | 0,30           | 237     | 0,02           |
| 3  |         |                | 244     | 0,30           | 239     | 0,46           |
| 4  |         |                | 246     | 0,04           | 241     | 0,40           |
| 5  |         |                | 248     | 0,02           | 243     | 0,08           |

Çizelge 4.10 (Devam)

| No | NCPGR21 | Allel<br>Frekans | NCPGR42 | Allel<br>Frekans | NCPGR100 | Allel<br>Frekans |
|----|---------|------------------|---------|------------------|----------|------------------|
| 1  | 123     | 0,02             | 153     | 0,02             | 261      | 0,50             |
| 2  | 133     | 0,02             | 161     | 0,04             | 265      | 0,48             |
| 3  | 145     | 0,02             | 163     | 0,02             | 271      | 0,02             |
| 4  | 147     | 0,48             | 167     | 0,02             |          |                  |
| 5  | 149     | 0,04             | 173     | 0,10             |          |                  |
| 6  | 151     | 0,26             | 177     | 0,08             |          |                  |
| 7  | 153     | 0,06             | 179     | 0,24             |          |                  |
| 8  | 155     | 0,02             | 181     | 0,14             |          |                  |
| 9  | 157     | 0,06             | 185     | 0,20             |          |                  |
| 10 | 159     | 0,02             | 187     | 0,12             |          |                  |
| 11 |         |                  | 191     | 0,02             |          |                  |

Çizelge 4.10 (Devam)

| No | NCPGR27 | Allel<br>Frekans |
|----|---------|------------------|
| 1  | 270     | 0,02             |
| 2  | 272     | 0,16             |
| 3  | 274     | 0,62             |
| 4  | 276     | 0,08             |
| 5  | 278     | 0,12             |

Lokuslardaki her bir allele ait frekans dağılımına bakıldığında; NCPGR28 lokusunda 0,94 allel frekans ile 222, NCPGR33 lokusunda 0,34 allel frekans ile 236, NCPGR34 lokusunda 0,46 allel frekans ile 239, NCPGR36 lokusunda 0,78 allel frekans ile 203, NCPGR40 lokusunda 0,3 allel frekans ile 189, NCPGR93 lokusunda 0,5 allel frekans ile 297, NCPGR21 lokusunda 0,48 allel frekans ile 147, NCPGR42 lokusunda 0,24 allel frekans ile 179, NCPGR100 lokusunda 0,5 allel frekans ile 261 ve NCPGR27 lokusunda 0,62 allel frekans ile 274 allelleri en sık rastlanılan alleller olmuştur (Çizelge 4.10).

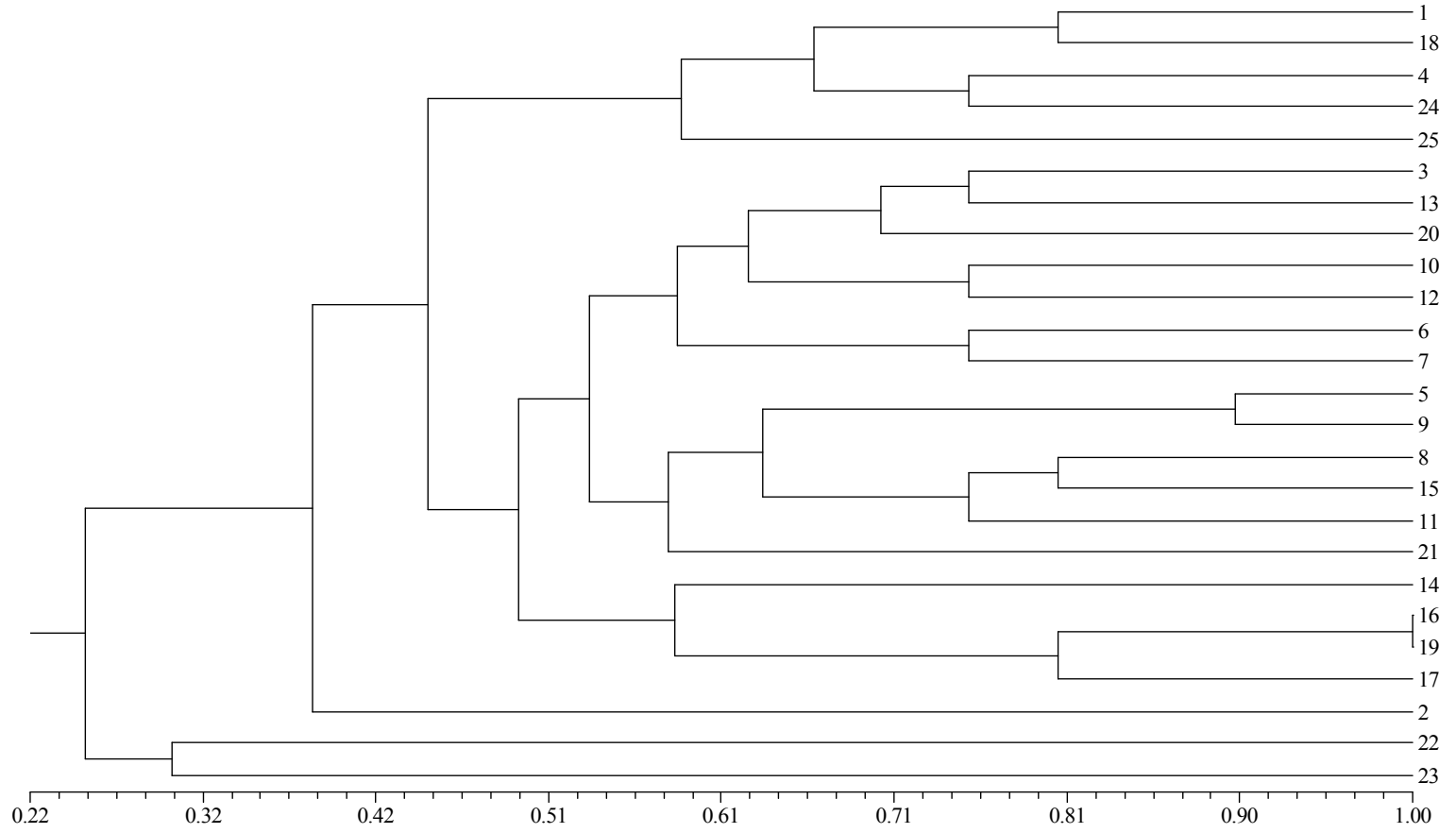
Nohut çeşitlerine ait benzerlik çizelgesi, Çizelge 4.11’de, genetik ilişki dendogramı ise Şekil 4.14’te sunulmuştur.

Sonuçlarımıza göre Er99 ve Dikbaş çeşitleri sinonim (Farklı isimle adlandırılıp genetik açıdan aynı olan) olarak tespit edilmiştir, bu çeşitler haricinde en yüksek benzerlik oranı % 90 ile İzmir ve Aziziye çeşitler arasında görülmüştür. Bunları takiben % 80 benzerlik oranıyla Canitez ve Çağatay, Damla89 ve Uzunlu99, Gökçe ve Uzunlu99, Işık ve Dikbaş, Çağatay ve ILC8617 gelmektedir (Çizelge 4.11)

Genetik ilişki dendogramı (Şekil 4.14) farklı dallanmalar göstermiştir. İlk ayırımında *C.reticulatum* ve *C.arietinum* türlerine ait çeşitler farklı iki alt grup oluşturmuşlardır. Daha sonra *C.arietinum* çeşitleri kendi aralarında 4 ana dallanma ve bunları takiben meydana gelen dallanmalarla küçük alt gruplara ayrılmıştır.

Çizelge 4.11. Nohut Çeşitlerine Ait Benzerlik Çizelgesi

|    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    | 17    | 18    | 19    | 20    | 21    | 22    | 23    | 24    | 25    |  |  |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| 1  | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 2  | 0,550 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 3  | 0,250 | 0,250 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 4  | 0,500 | 0,450 | 0,400 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 5  | 0,400 | 0,350 | 0,350 | 0,400 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 6  | 0,400 | 0,250 | 0,400 | 0,400 | 0,550 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 7  | 0,500 | 0,450 | 0,500 | 0,450 | 0,500 | 0,750 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 8  | 0,500 | 0,350 | 0,400 | 0,450 | 0,600 | 0,500 | 0,500 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 9  | 0,500 | 0,250 | 0,350 | 0,500 | 0,900 | 0,650 | 0,600 | 0,700 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 10 | 0,450 | 0,400 | 0,550 | 0,250 | 0,650 | 0,550 | 0,650 | 0,650 | 0,650 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 11 | 0,550 | 0,400 | 0,600 | 0,450 | 0,550 | 0,500 | 0,650 | 0,700 | 0,650 | 0,700 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 12 | 0,350 | 0,300 | 0,550 | 0,300 | 0,600 | 0,650 | 0,600 | 0,500 | 0,600 | 0,750 | 0,450 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 13 | 0,300 | 0,250 | 0,750 | 0,400 | 0,600 | 0,650 | 0,600 | 0,600 | 0,600 | 0,650 | 0,600 | 0,750 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 14 | 0,400 | 0,450 | 0,400 | 0,250 | 0,400 | 0,350 | 0,450 | 0,450 | 0,400 | 0,600 | 0,600 | 0,350 | 0,400 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 15 | 0,450 | 0,300 | 0,500 | 0,550 | 0,600 | 0,500 | 0,500 | 0,800 | 0,700 | 0,600 | 0,800 | 0,450 | 0,600 | 0,500 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 16 | 0,650 | 0,500 | 0,350 | 0,400 | 0,500 | 0,500 | 0,600 | 0,450 | 0,500 | 0,600 | 0,600 | 0,450 | 0,500 | 0,650 | 0,450 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 17 | 0,700 | 0,450 | 0,300 | 0,500 | 0,500 | 0,600 | 0,650 | 0,550 | 0,600 | 0,550 | 0,650 | 0,450 | 0,500 | 0,450 | 0,600 | 0,800 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 18 | 0,800 | 0,450 | 0,200 | 0,700 | 0,500 | 0,400 | 0,450 | 0,450 | 0,600 | 0,350 | 0,500 | 0,300 | 0,300 | 0,350 | 0,500 | 0,600 | 0,700 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 19 | 0,650 | 0,500 | 0,350 | 0,400 | 0,500 | 0,500 | 0,600 | 0,450 | 0,500 | 0,600 | 0,600 | 0,450 | 0,500 | 0,650 | 0,450 | 1,000 | 0,800 | 0,600 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |  |  |
| 20 | 0,450 | 0,300 | 0,650 | 0,550 | 0,450 | 0,650 | 0,600 | 0,650 | 0,550 | 0,550 | 0,700 | 0,700 | 0,750 | 0,400 | 0,700 | 0,450 | 0,550 | 0,400 | 0,450 | 1,000 |       |       |       |       |       |  |  |
| 21 | 0,650 | 0,400 | 0,300 | 0,400 | 0,500 | 0,400 | 0,350 | 0,600 | 0,600 | 0,500 | 0,600 | 0,450 | 0,400 | 0,400 | 0,600 | 0,500 | 0,650 | 0,600 | 0,500 | 0,550 | 1,000 |       |       |       |       |  |  |
| 22 | 0,250 | 0,150 | 0,250 | 0,300 | 0,250 | 0,400 | 0,350 | 0,150 | 0,300 | 0,200 | 0,200 | 0,350 | 0,250 | 0,100 | 0,200 | 0,150 | 0,200 | 0,200 | 0,150 | 0,350 | 0,200 | 1,000 |       |       |       |  |  |
| 23 | 0,250 | 0,150 | 0,350 | 0,250 | 0,200 | 0,500 | 0,400 | 0,250 | 0,300 | 0,200 | 0,250 | 0,300 | 0,250 | 0,150 | 0,250 | 0,150 | 0,250 | 0,250 | 0,150 | 0,350 | 0,250 | 0,300 | 1,000 |       |       |  |  |
| 24 | 0,650 | 0,350 | 0,300 | 0,750 | 0,450 | 0,400 | 0,450 | 0,500 | 0,550 | 0,300 | 0,450 | 0,300 | 0,400 | 0,300 | 0,550 | 0,450 | 0,550 | 0,800 | 0,450 | 0,500 | 0,450 | 0,200 | 0,250 | 1,000 |       |  |  |
| 25 | 0,550 | 0,400 | 0,250 | 0,600 | 0,500 | 0,550 | 0,600 | 0,400 | 0,600 | 0,400 | 0,350 | 0,500 | 0,350 | 0,250 | 0,400 | 0,400 | 0,500 | 0,600 | 0,400 | 0,500 | 0,450 | 0,350 | 0,350 | 0,600 | 1,000 |  |  |



Şekil 4.14. Nohut çeşitlerine ait genetik ilişki dendogramı

## 4.2. TARTIŞMA

### 4.2.1. SOD Aktivitesi

Bitkiler reaktif oksijen türlerine karşı gelişmiş bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Antioksidan savunma sistemi ROT'un üretimini sınırlayarak ve ortadan kaldırarak savunma gerçekleştirir [50]. Antioksidan sistem elmanı olan süperoksit dismutaz (SOD) hücre içerisinde ROT'a karşı ilk savunma basamağını oluşturmaktadır [15, 44, 48]. SOD süperoksit radikalini hızlı bir şekilde hidrojen peroksit'e dönüştürür [13, 45]. Reaktif oksijen türlerinin miktarının kuraklık koşullarında arttığı bilinmektedir [77].

Srivalli ve ark [78], Kukreja ve ark [79] SOD aktivitesinin su stresine yanıt olarak arttığını rapor etmişlerdir. Aynı şekilde Eyidogan ve Öz [2] nohut bitkisinde yaptıkları çalışmada kuraklık stresinin SOD aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır. Ghorbanli ve ark [80] kuraklığa toleransları farklı olan iki nohut kültürünün kuraklık stresine yanıtlarını incelemiş ve kuraklığa daha dayanıklı olan kültürün daha yüksek SOD aktivitesine sahip olduklarını bulmuşlardır. Fazeli ve ark [8] kuraklığa duyarlılıkları farklı olan iki susam bitkisinde kuraklığın her iki kültürde de SOD aktivitesini arttırdığını, kuraklığa daha dayanıklı olan kültürde SOD aktivitesinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Selote ve Khanna-Chopra [81] kuraklığa daha dayanıklı olan pirinç bitkisinde duyarlı tiple karşılaştırdıklarında daha yüksek SOD aktivitesi bulmuşlardır. Çalışmamızda da benzer şekilde kuraklığa dayanıklı AWC611'de kuraklık stresinde SOD aktivitesi kuraklığa duyarlı olan ILC8617'ye göre daha yüksek bulunmuştur. Daha yüksek enzim aktiviteleri kuraklık koşulları altında o kültürün daha etkili olduğunu gösterir. Aynı şekilde Türkan ve ark [18] fasulye bitkisinde, Ünyayar ve ark [7] domateste kuraklık stresinin SOD aktivitesini belirgin bir şekilde arttırdığını ve bu artışın kuraklığa daha dayanıklı olanlarda duyarlı türlere oranla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. SOD aktivitesindeki bu artış reaktif oksijen türlerinin artmasına yanıt olarak ortaya çıkmış olabilir. Kuraklık stresine yanıt olarak bitkiler stomalarını kapatırlar [82]. Kuraklığa dayanıklı türlerin, kuraklık stresine yanıt olarak duyarlı türlere oranla daha fazla sayıda stoma kapattığı

rapor edilmiştir [18]. Kapanan stoma sayısına bağlı olarak yapraklardan alınan CO<sub>2</sub> miktarı azalacaktır [17, 18]. Bu durum ROT'un miktarını arttırarak antioksidan sistemin aktivitesini arttırabilir [18].

Çalışmamızda iyi sulanmış bitkilere askorbat uygulandığında SOD aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Benzer bulgular Dolatabadian ve ark [17]'nin kanola ile yaptıkları çalışmada da elde edilmiştir. Tuz stresine maruz bırakılan bitkilerin yapraklarına askorbat uygulandığında SOD aktivitesi azalmıştır [26, 83] ROT normal hücre metabolizması sırasında da üretilir ve askorbat bu ROT'u doğrudan ortadan kaldırarak, SOD aktivitesinin düşmesine yol açmış olabilir [17, 83].

GSH'da askorbatla birlikte antioksidan sistem elemanlarından. Kattab [15] tuz stresine maruz bırakılan ve GSH uygulanan kanola bitkilerinde SOD aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. Çalışmamızda askorbat ve GSH uygulanan gruplarda (100mM GSH hariç) kuraklık stresinin SOD aktivitesini arttırdığı bulunmuştur.

#### 4.2.2. AP Aktivitesi

AP bitki hücrelerinde hidrojen peroksitin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ana süpürücüsüdür ve askorbatı substrat olarak kullanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya dönüştürür. AP'nin çeşitli çevresel streslerde aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir [84].

Nayyar ve ark [4] AP aktivitesinin kuraklığa dayanıklı bitkilerde duyarlı olanlara göre çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu artış özellikle KAT aktivitesinin azalmaya başladığı zaman görülmüştür. AP aktivitesi muhtemelen KAT aktivitesinin hücrelerde azalması sonucunda, hücrelerdeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarına bağlı olarak tetiklenmiş olabilir [2, 4]. Zhang ve Kirkham [84] su stresine dayanıklı pirinç genotipinde, duyarlı olanlar ile karşılaştırıldığında dayanıklı olanlarda AP aktivitesinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Sairam ve ark [47]'da buğday çeşitlerinde kuraklık stresinin AP aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır. Kuraklığa dayanıklı olan bitkilerde AP aktivitesi duyarlı olanlara oranla daha yüksek



bulunmuştur. Bu sonuçlar, çalışmamızın bulguları ile benzerlik göstermektedir. Eyidogan ve Öz [2] nohut bitkisinin yapraklarındaki AP aktivitesinin tuz stresi ile birlikte belirgin bir şekilde arttığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar; nohut bitkisinin yapraklarında kuraklık veya tuz stresi gibi çevresel streslerde hidrojen peroksitin fazla üretildiği kısımlarda AP aktivitesinin artmasıyla, katalaz işlevinin azalacağı söylenebilir.

Bashor ve Dalton [16] iyi sulanmış soya fasulyesi bitkilerine askorbat uygulandığında AP aktivitesinin arttığını rapor etmişlerdir. Zabalza ve ark [82] ise bezelye bitkisinde kuraklık stresinin AP aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır. Bulgularımıza göre askorbat uygulaması her iki nohut türünde de AP aktivitesini özellikle kuraklık stresinde belirgin bir şekilde arttırmıştır. AP askorbat-glutasyon döngüsünün enzimlerinden biridir. Askorbatı kullanarak  $H_2O_2$ 'nin suya dönüşümünü katalizlemektedir. Askorbat uygulaması ile hücredeki askorbat konsantrasyonu artmış ve AP aktivitesi de buna bağlı olarak artış göstermiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak, strese maruz bırakılan bitkilere GSH uygulamasının AP aktivitesini önemli derecede arttırdığı rapor edilmiştir [15]. GSH uygulaması antioksidan enzimlerin ve antioksidan maddelerin aktivitelerini arttırarak oksidatif strese karşı dayanıklılıkta koruyucu bir rol oynar [15].

#### 4.2.4. GR aktivitesi

GR okside glutasyon (GSSG)'u GSH'a dönüştürerek oksidatif strese karşı korunmada anahtar bir rol oynamaktadır. Türkan ve ark [18] kuraklık stresinin GR aktivitesini arttırdığı bulmuşlardır ve bu artışın kuraklığa dayanıklı bitkilerde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda askorbat ve GSH uygulamalarının özellikle kuraklık stresine maruz bırakılan dayanıklı bitkilerde GR aktivitesini kontrole göre belirgin bir şekilde arttırmıştır. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından çeşitli bitkilerde elde edilmiştir [4, 7]. Kuraklık stresi ve GSH uygulaması ile birlikte hücrelerdeki GSH içeriği yükselmiştir. GSH içeriğinin yükselmesiyle birlikte GR aktivitesi de artmış olabilir.

#### 4.2.3. KAT Aktivitesi

Katalaz hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüşümünü katalizler. Kattab [15] su stresine maruz bırakılan şalgam bitkilerinde KAT aktivitesinin belirgin bir şekilde azaldığını bulmuştur. Çalışmamızda kuraklık stresi her iki nohut türünde de diğer araştırmacıların bulgularına benzer olarak KAT aktivitesini azaltmıştır [26]. Katalaz aktivitesindeki bu azalma oksidatif stres sırasında oluşan  $H_2O_2$ 'nin bu enzim tarafından tamamen ortadan kaldırılamadığını veya antioksidan savunma sisteminde KAT'ın daha az etkili olduğunun göstergesi olabilir.

Eyidogan ve Öz [2] nohut bitkisinin tuz stresine yanıtlarını inceledikleri bir çalışmada, kuraklık stresinin KAT aktivitesini düşürdüğünü bulmuşlardır. Bu sonuçlar, bulgularımızla benzerlik göstermektedir. Askorbat-glutasyon döngüsü hidrojen peroksidin süpürülmesinde primer yollardan biridir [26]. Askorbat ve GSH uygulamaları katalaz aktivitesini her iki türde de belirgin bir şekilde azaltmıştır. Bu uygulamalar ile ortamdaki hidrojen peroksit miktarı azalmış ve buna bağlı olarak katalaz aktivitesi de düşmüş olabilir.

#### 4.2.5. Askorbat Konsantrasyonu

Askorbik asit kloroplastlarda üretilen oksidatif stres ürünlerinin süpürülmesinde görev almaktadır [26]. Bununla birlikte tekli oksijen ve süperoksit radikallerini de doğrudan ortadan kaldırır [26].

Çeşitli bitkilerde kuraklık stresine bağlı olarak askorbik asit seviyesinin arttığı rapor edilmiştir [85]. Kuraklığa dayanıklı olan buğday bitkilerinde duyarlı olanlarla karşılaştırıldığında daha yüksek askorbat içerdikleri bulunmuştur [86]. Diğer bazı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda da, kuraklığa dayanıklı olan nohutta benzer bulgular elde edilmiştir [4, 10]. Çalışmamızda da benzer şekilde, kuraklık stresi AWC611'de (kuraklığa dayanıklı) ILC8617'ye (kuraklığa duyarlı) göre daha yüksek seviyede askorbat üretilmesine neden olmuştur.

GSH uygulamasının bitkilerde askorbat konsantrasyonunu arttırdığı bulunmuştur [15]. Çalışmamızda da GSH uygulaması askorbat seviyesini arttırmıştır. Askorbat-glutasyon döngüsünün ana elemanlarından olan GSH, kullanılan askorbatın yeniden oluşturulmasını sağlamış, böylece artan GSH seviyesi askorbat seviyesini de arttırmış olabilir.

#### 4.2.6. GSH konsantrasyonu

ROT'un hücre içindeki bulunma süresi oksidatif hasara karşı koruma sağlayan antioksidan sistem ile denetlenmektedir. GSH antioksidan sistemde yer alan önemli bir antioksidan moleküldür. Dışsal GSH uygulaması GSH konsantrasyonunu belirgin bir şekilde arttırmıştır [15]. GSH konsantrasyonu dayanıklı bitkilerde duyarlı bitkilere oranla daha yüksek bulunmuştur [4]. Bu bulgulara benzer olarak, kuraklığa dayanıklı AWC611'de GSH miktarı duyarlı olan ILC8617'ye göre daha yüksek olmakla birlikte, AS ve GSH uygulamaları GSH miktarını kontrole göre oldukça yüksek miktarda arttırmıştır. Çalışmamızda 100 mM GSH uygulanan grupta kuraklık stresi GSH seviyesini her iki nohut çeşidinde de düşürmüştür. Diğer araştırmalarda kuraklık stresi sırasında nohutta bazı gruplarda GSH seviyesinin düştüğünü rapor etmişlerdir [4]. GSH seviyesindeki azalma, NADPH'ı kullanarak GSH'ın yeniden oluşturulmasını sağlayan GR'nin aktivitesindeki azalmanın sonucu olabilir.

#### 4.2.7. Genetik analizler

Çalışmamızın sonucunda bir sinonim durum ile karşılaşılmıştır. Bununla birlikte yaptığımız çalışmada kullanılan 10 SSR lokusunun tanımlama olasılığı (PI) göz önüne alındığında 6 primerde bu değer 0,2 ve yukarısında çıkmıştır ki, PI değerlerinin yüksek çıkması bu lokuslara ait primerlerde çok etkili bir polimorfizmin olmadığını göstermektedir. Kültüre alınmış olan nohut çeşitleri sınırlı bir polimorfizme sahiptir [59]. Bu nedenden dolayı PI değerleri yüksek çıkmış olabilir.

Abiyotik ve biyotik streslere dayanıklı olan nohut türleri bulunmuştur fakat bu türler kültüre alınmış olan *Cicer arietinum* çeşitlerinin yabani nohut türleri olan

*Cicer reticulatum* ya da *Cicer echinospermum* ile çaprazlanması ile elde edilebilmiştir [87]. Benzerlik tablomuza göre kuraklığa dayanıklılığı daha önce belirlenmiş olan AWC611 çeşidinin de yer aldığı *C. reticulatum* türlerine genetik benzerlik olarak en yakın çeşit (AWC611'le benzerlik oranı % 40 , AWC612 ile benzerlik oranı % 50) *C. arietinum* türüne ait olan Menemen 92 çeşidi olmuştur. Güneş ve ark. [1] yaptıkları fizyolojik çalışmada Menemen 92 çeşidinin çiçeklenme öncesi dönemde, kuraklığa en dayanıklı çeşit olduğunu bulmuşlardır. Bununla birlikte Küsmen 99 çeşidi ise *C. reticulatum* türlerine genetik benzerlik olarak en uzak çeşit (AWC611'le benzerlik oranı % 10 , AWC612 ile benzerlik oranı % 15) olarak tespit edilmiştir. Küsmen 99 çeşidi aynı çalışmada çiçeklenme öncesi ve sonrası dönemde kuraklığa duyarlı tür olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda kullandığımız kuraklığa duyarlı çeşit olan ILC8617 (AWC611'le benzerlik oranı % 20 , AWC612 ile benzerlik oranı % 25) benzerlik oranları ile *C. reticulatum*'un çeşitlerine en uzak çeşitlerden biri olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte kuraklığa duyarlılığı tespit edilmiş olan ILC8617'ye en yakın çeşitlerden biri olan (% 65 benzerlik) Canitez 87 çeşidi de Güneş ve ark. [1] tarafından yapılan fizyolojik çalışmada çiçeklenme öncesi ve sonrasında kuraklığa duyarlı bir çeşit olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bulgularımızla desteklenmektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Kuraklık stresinin her iki nohut türünde de antioksidan seviyelerini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı bulunmuştur.
- Kuraklığa dayanıklı olan AWC611 çeşidinde uygulama gruplarında ve özellikle kuraklık stresinde antioksidan seviyelerinin ve antioksidan enzim aktivitelerinin kuraklığa duyarlı olan ILC8617 çeşidinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
- Glutasyon ve askorbat uygulamalarının her iki nohut türünde de enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların artmasına neden olmuştur.
- SSR analizi sonucunda *C. reticulatum* ve *C. arietinum* türlerine ait çeşitler ayrı iki hat boyunca toplanmıştır.
- Kuraklığa dayanıklı olan *C. reticulatum* çeşitlerine en yakın *C. arietinum* çeşidi olan Menemen92 olarak belirlenmiştir. Kültüre alınmış olan Menemen92 çeşidinin fizyolojik analizlerinin daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından yapılmış olması ve bu çeşidin fizyolojik açıdan da kuraklığa dayanıklı olduğunun belirlenmesi önemlidir.
- Bitkilerin antioksidan içeriklerine çevresel streslere karşı bir dayanıklılık göstergesi olarak bakılır. Dolayısıyla yapılacak çalışmalarla ekonomik önemi olan bitkilerin antioksidan içeriğinin artırılması çevresel streslere karşı dayanıklılıkta önemli olacaktır.
- Dünyada kullanılabilir su kaynakları gün geçtikçe azalmaktadır. Gelecekte tarım arazilerinin sulanması için bugünkü kadar su kullanılamayabilir. Dolayısıyla kültüre alınmış bitkiler içerisinde suyu en az kullanan ve çevre şartlarına dayanıklı olan bitkilerin seçilmesi büyük önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Güneş, A., İnal, A., Adak, M.S., Bağcı, E.G., Çiçek, N., Eraslan, F. “Effect of drought stress implemented at pre- or post-anthesis stage on some physiological parameters as screening criteria in Chickpea cultivars”, Russian Journal of Plant Physiology, **55**:59-67,(2008).
- [2] Eyidogan, F., Öz, M.T. “Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings”, Acta Physiol Plant, **29**:485-493, (2007).
- [3] Singh, K.B. “Chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, Field Crops Research **53**:161-170, (1997).
- [4] Nayyar, H., Singh, S., Kaur, S., Kumar, S., Upadhyaya, H. “Differential sensitivity of *Macrocarpa* and *Microcarpa* types of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) to water stress: Association of contrasting stress response with oxidative injury”, Journal of Integrative Plant Biology, **48**:1318-1329, (2006).
- [5] Açıkgöz, N. “Chickpea production in Turkey”, CIHEAM-Options Mediterraneennes, **9**:167-170, (1990).
- [6] Smirnoff, N. “Plant resistance to environmental stress”, Current Opinion in Biotechnology”, **9**:214-219, (1998).
- [7] Ünyayar, S., Keleş, Y., Çekiç, F.Ö. “The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations”, Plant Soil Environment, **51**:57-64, (2005).
- [8] Fazeli, F., Ghorbanlı, M., Niknam, V. “Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars”, Biologia Plantarum, **51**:98-103, (2007).
- [9] Belgati, S.M. “Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants”, African Journal of Plant Science, **2**:118-123, (2008).
- [10] Mukherjee, S.P. ve Choudhuri, M.A., “Implications of water stress-induced changes in the leaves of indigenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* Seedlings”, Physiol. Plant., **58**:166–170, (1983).

- [11] Li-Ping, B., Fang-Gong, S., Ti-Da, G., Zhao-Hui, S., Yin-Yan, L., Guang-Sheng, Z. “Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize”, Soil Science Society of China, **16**:326-332, (2006).
- [12] Kramer, P.J., Drought stress and origin of adaptation, Adaptation of plant to water and high temperatures stress, Tuner, N.C. and Kramer, P.J (Ed)., New York: Wiley, 6–20 , (1980).
- [13] Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V., Aparicio-Tejo, P. “Drought induces oxidative stress in pea plants”, *Planta*, **194**:346-352, (1994).
- [14] Bartoli, C.G., Simontacchi, M., Tambussi, E., Beltrano, J., Montaldi, E., Puntarulo, S. “Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. Leaves”, *Journal of Experimental Botany*, **50**:375-383, (1999).
- [15] Kattab, H. “Role of Glutathione and Polyadenylic Acid on the Oxidative Defense Systems of Two Different Cultivars of Canola Seedlings Grown under Saline Condition”, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **1**:323-334, (2007).
- [16] Bashor, C.J., Dalton, D.A. “Effects of exogenous application and stem infusion of ascorbate on soybean (*Glycine max*) root nodules”, *New Phytologist*, **142**:19-26, (1999).
- [17] Dolatabadian, A., Sanavy, A.S.M.M., Chasmi, N.A. “The effects of foliar application of ascorbic acid (Vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of Canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress” *Journal of Agronomy and Crop Science*”, **194**:206-213, (2008).
- [18] Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H. “Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress”, *Plant Science*, **168**:223-231, (2005).

- [19] Aqil, F., Afmad, I., Mehmood, Z. “Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants” Turkish Journal of Biology, **30**:177-183, (2006).
- [20] Munné-Bosch, S., Peñuelas, J. “Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions”, Plant Science, **166**:1105-1110, (2004).
- [21] Li, M., Liang, D., Pu, F., Ma, F., Hou, C., Lu, T. “Ascorbate levels and the activity of key enzymes in ascorbate biosynthesis and recycling in the leaves of 22 Chinese persimmon cultivars”, Science Horticulturae, **120**:250-256, (2009).
- [22] Buckland, S.M., Price, A.H., Hendry, G.A.F. “The role of ascorbate in drought-treated *Cochleria atlantica* Pobed. and *Armeria maritima* (Mill.) Wild”, New Phytologist, **119**:155-160, (1991).
- [23] Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M., Tal, M. “Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system”, Physiologia plantarum, **112**:487-494, (2001).
- [24] Yüksel, C. ”Manisa, İzmir, Aydın, Muğla ve Kütahya İllerine Ait Asma Gen Kaynaklarının SSR’ a Dayalı Genetik Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, (2008).
- [25] Oplinger, E.S., Hardman, L.L., Oelke, E.A., Kaminski, A.R., Schulte, E.E., Doll, J.D. “Chickpea (Garbanzo bean)”, Alternative Field Crops Manual, (1990).
- [26] Shalata, A., Neumann, P.M. “Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation”, Journal of Experimental Botany, **52**:2207-2211, (2001).
- [27] Rehman, A.U. “Characterization and Molecular Mapping of Drought Tolerance in Kabuli Chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, For the degree of Doctor of Philosophy In the Department of Plant Sciences University of Saskatchewan, Saskatoon, (2009).



- [28] Secenji, M., Bebes, A., Hideg, E., Györgyey, J. “Transcriptional changes in ascorbate-glutathione cycle under drought conditions”, *Acta Biologica Szegediensis*, **52**:93-94, (2008).
- [29] Çoban, S.S. “Nohut genotiplerinde kuraklığa bağlı fizyolojik parametreler ve mineral beslenme üzerine salisilik asitin etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2007).
- [30] Taiz, L., Zeiger, E., İ. Türkan (Çeviri ed.), Bitki Fizyolojisi, 3. Baskı, Ankara, s. 591-592, (2008).
- [31] Romo, S., Dopico, B., Labrador, E., The expression of a new *Cicer arietinum* cDNA, encoding a glutamic acid-rich protein, is related to development, *Journal of Plant Physiology*, **159**:1375-1381, 2002.
- [32] Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. “The effects of drought on plants and tolerance mechanisms”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **18**:723-740, (2005).
- [33] Jenks, M.A. ve Hasegawa, P.M., *Plant abiotic stress*, Blackwell, ISBN-10: 1-4051-2238, S.270, 2005.
- [34] Anbessa, Y., Bejiga, G. “Evaluation of Ethiopian chickpea landraces for tolerance to drought”, *Genetic Resources and Crop Evolution*, **49**:557-564, (2002).
- [35] Ryan, JG., “A global perspective on pigeonpea and chickpea sustainable production systems: present status and future potential”, In: Asthana AN, Ali M (eds) *Recent advances in pulses research*, Indian Society of Pulses Research and Development, IIPR, Kanpur, 1-30, (1997).
- [36] Kumar, J. and Van Rheenen, H.A. “A major gene for time of flowering in chickpea”, *Journal of Heredity*, **91**:67-68, (2000).
- [37] Serraj, R., Sinclair, J.R. “Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions?”, *Plant Cell Environment*, **25**:333-34, 2002.
- [38] Saxena, N.P., Sethi, S.C., Krishnamurthy, L., Johansen, C., Haware, M.P. Physiological approaches to genetic improvement of drought resistance in chickpea. In: *Proceedings of the Inter Drought 1995*, Génétique et Amélioration des Plantes. IRNA Montpellier, France, pp.1-6, (1995).

- [39] Kashiwagi, J., Krishnamurthy, L, Crouch, J.H. and Serraj, R. “Variability of root length density and its contributions to seed yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought stres”, Field Crops Research, **95**:171-181, (2006).
- [40] Boyer, J.S. “Plant productivity and environment”, Science, **218**:443-448, (1982).
- [41] Saeed, M., Francis, C.A. “Yield stability in relation to maturity in grain sorghum”, Crop Science, **23**:683-687, (1983).
- [42] Saeed, M. Francis, C.A., Rajewski, J.F. “Maturity effects on genotype x environment interaction in grain sorghum”. Agronomy Journal, **76**:55-59, (1984).
- [43] Laing, D.R., Fischer, R.A. “Adaptation of semidwarf wheat cultivars to rainfed conditions”, Euphytica, **26**:129-139, (1977).
- [44] Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S. “Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stres in plants”, Journal of Experimental Botany, **53**:1331-1341, (2002).
- [45] Gupta, A.S., Webb, R.P., Holaday, A.S., Allen, R.D. “Overexpression of Superoxide Dismutase Protects Plants from Oxidative Stres”, Plant Physiology, **103**:1067-1073, (1993).
- [46] Tausz, M., Sircelj, H., Gril, D. “The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid?”, Journal of Experimental Botany, **55**:1955-1962, (2004).
- [47] Sairam, R.K., Deshmukh, P.S., Saxena, D.C. “Role of antioxidant system in wheat genotypes tolerance to waqter stress”, Biologia plantarum, **41**:387-394, (1998).
- [48] Blokhina, O., Virolainen, E., Faferstedt, K.V. “Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stres: a Review”, Annals of Botany, **91**:179-194, (2003).
- [49] Çekiç, F.Ö. “Tuz (NaCl) ve Ağır Metal (Kadmiyum) Stresine Maruz Bırakılan Domates Bitkisinde Bazı Fizyolojik Parametrelerin ve Antioksidan Savunma Sisteminin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2004).

- [50] Çekiç, F.Ö. “Tuzluluk Koşullarında Yetiştirilen Biber (*Capsicum annuum* L.) Bitkisinde Arbüsküler Mikorizanın Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi”, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2008).
- [51] Mittova, V., Volokita, M., Guy, M., Tal, M. “Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*”, *Physiologia Plantarum*, **110**:42-51, (2000).
- [52] Alscher, R.G., Donahue, J.L., Cramer, C.L. “Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells”, *Physiologia Plantarum*, **100**:224-233, (1997).
- [53] Smirnoff, N., Wheeler, G.L. “Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function”, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **35**:291-314, (2000).
- [54] Smirnoff, N. “Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule”, *Current Opinion in Plant Biology*, **3**:229-235, (2000).
- [55] Winter, P., Pfaff, T., Udupa, S.M., Hüttel, B., Sharma, P.C., Sahi, S., Arreguin-Espinoza, R., Weigand, F., Muehlbauer, F.J., Kahl, G. “Characterization and mapping of sequence-tagged microsatellite sites in the chickpea (*Chickpea arietinum* L.) genome”, *Molecular and General Genetic*, **262**:90-101, (1999).
- [56] Dizkirici, A., Guren, H.E., Onde, S., Temel, F., Akar, T., Budak, H., Kaya, Z. “Microsatellite (SSR) variation in barley germplasm and its potential use for marker assisted selection in scald resistance breeding”, *International Journal of Integrative Biology*, **9**:1-7, (2008).
- [57] Talebi, R., Fayaz, F., Mardi, M., Pirsyedi, S.M., Naji, A.M. “Genetic relationships among Chickpea (*Cicer arietinum*) elite lines based on RAPD and agronomic markers”, *International Journal of Agricultura and Biology*, **3**:301-305, (2008).

- [58] Udupa, S.M., Robertson, L.D., Weigand, F., Baum, M., Kahl, G. “Allelic variation at (TAA)<sub>n</sub> microsatellite loci in a world collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm” *Molecular and General Genetic*, **261**:354-363, (1999).
- [59] Sharma, P.C., Winter, P., Büniger, T., Hüttel, B., Weigand, F., Weising, K., Kahl, G. “Abundance and polymorphism of di-,tri-,and tetra-nucleotide tandem repeats in chickpea (*Cicer arietinum*)” *Theory Applied Genetic*, **90**:90-96, (1995).
- [60] Kazan, K., Muehlbauer, F.J., Weeden, N.F., Ladizinsky, G. 1993. Inheritance and linkage relationships of morphological and isozyme loci in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theory Applied Genetic*. **86**:417-426.
- [61] Hüttel, B., Winter, P., Weising, K., Choumane, W., Weigand, F., and Kahl, G. “Sequence – tagged microsatellite site markers for chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Genome*”, **42**:210-217.
- [62] Beyer WF., Fridowich, I., “Assaying for superokside dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions”, *Analytical Biochemistry*, **161**:559-566, (1987).
- [63] Bonnet M., Camares O., Veisserie P.,”Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perene* L. Cv Apollo)”, *Journal Experimental Botany*, **51**:945-953, (2000).
- [64] Calberg I., Mannervik B., “Glutation Reductase”, *Methods in Enzymology*, **113**:484-490, (1985).
- [65] Aebi, HE., Bergmayer J., Grabl, M., “Catalase in: *Methods of enzymatic analysis*”, Eds. Verlag Chemie, Weinheim, **3**: 273-286, (1983).
- [66] Keleş, Y. ve Ünyayar, S., “Responses of antioxidant defence system of *Helianthus annuus* to abscisic acid treatment under drought and waterlogging” *Acta Physiologia Plantarum*, **26** (2): 149-156, (2004).
- [67] Hawrylak, B. and Szymanska, M., “Selenium as a sulphydrylic group inductor in plants”, *Cellular & Molecular Biology Letters*, **9**:329-336, (2004).

- [68] Hartree, E.F., “Determination of protein: A modification of Lowry method that gives a linear photometric response” *Analytical Biochemistry*, **48**:422-427, (1972).
- [69] Lefort F, Roubelakis-Angelakis KA. “Genetic comparison of Greek cultivars of *Vitis vinifera* L. by nuclear microsatellite profiling”, *Am J Enol Vitic* **52**:101–108, (2001).
- [70] Wagner, H.W. and Sefc, K.M. *IDENTITY 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna, (1999).
- [71] Paetkau D., Calvert W., Stirling I. and Strobeck C. “Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears”, *Molecular Ecology*, **4**:347-354, (1995).
- [72] Bowcock, A.M., Ruiz-Linares, J., Tomfohrde, E., Minch, J.R. Kidd, and L.L. Cavalli-Sforza. “High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites”, *Nature*, **368**: 455-457, (1994).
- [73] Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D.B., Feldman, M. and Cavalli-Sforza, L.L. “Microsat (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data”. Stanford. California, University of Stanford, (1995).
- [74] Sneath PHA & Sokal RR. *Numerical Taxonomy*. *Freeman*, San Francisco, (1973).
- [75] Sethy, N.K., Shokeen B., Edwards K. J., Bhatia S. “Development of microsatellite markers and analysis of intraspecific genetic variability in chickpea (*Cicer arietinum* L.)”. *Theor Appl Genet* **112**: 1416–1428, (2006).
- [76] Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K., Steinkellner, H., Thomas, M.R. “Microsatellite markers for grapevine: a state of the art” , *Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine*, K.A. Roubelakis-Angelakis (Ed), Kluwer Publishers, Amsterdam, s. 407-438, (2001)
- [77] Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M. “Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants”, *Journal of Plant Physiology*, **161**:1189–1202, (2004).

- [78] Srivalli, B., Sharma, G., Khanna-Chopra, R. “Antioxidative defence system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery”, *Plant Pyhsiology*, **119**: 503-512, 2003.
- [79] Kukreja, S., Nandval, A.S., Kumar, N., Sharma, S.K., Unvi, V., Sharma, P.K. “Plant water status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity”, *Plant Biology*, **49**:305-308, (2005).
- [80] Ghorbanli, M., Ebrahimzadeh, H., Sharifi, M. “Effects of NaCl and mycorrhizal fungi on antioxidative enzymes in soybean”, *Biol. Plant.* **48**: 575-581, (2004).
- [81] Selote, D.S., Khanna-Chopra, R. “Drought-induced spikelet sterility is associated with an inefficient antioxidant defense in rice panicles”. *Plant Physiology*, **121**:462–471, (2004).
- [82] Zabalza, A., Galvez, L., Marino, D., Royuela, M., Arrese-Igor, C., Gonzalez, E.M.” The application of ascorbate or its immediate precursor, galactono-1,4-lactone, does not affect the response of nitrogen-fixing pea nodules to water stres”, *Journal of Plant Physiology*, **165**:805-812, (2008).
- [83] Hala, M.S., Bassiouny, E., Gobarah, M.E., Ramadan, A.A., “Effects of Antioxidants on Growth, Yield and Favism Causative Agents in Seeds of *Vicia faba* L. Plants Grown under Reclaimed Sandy Soil”, *Asian Network for Scientific Information*, **4**:281-287, (2005).
- [84] Zhang, J.X., Kirkham, M.B. “Water relations of water-stressed, split-root C<sub>4</sub> (*Sorghum bicolor*; Poaceae) and C<sub>3</sub> (*Helianthus annuus*; Asteraceae) plants”, *American Journal of Botany*, **82**:1220–1229, (1995).
- [85] Güzel, A. “Kuraklık Stresine Maruz Bırakılan Domates Bitkilerinde Bazı Fizyolojik ve Büyüme Parametreleri Üzerine Absisik Asit (ABA) ve Kalsiyum’un Etkisinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2006).
- [86] Asada, K. “The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging in plants”, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY,. 715–735, (1997).

[87] Irucla, M., Rubio, J., Cubero, J.I., Gil, J., Millan, T. “Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers”, *Theory Applied Genetic*, **104**:643-651, (2002).

## **EKLER**



Bu çalışmaya ait ayrıntılı istatistik tabloları ve grupların minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerlerini gösteren tablolar Ek 1-12’de sunulmuştur.

Ek 1. Spesifik SOD aktivitesine ait istatistik tablosu (p<0,05)

| Tukey HSD test; variable SOD<br>Error: Between MS = ,03958, df = 40,000 |         |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|---------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Cell No.  | TÜR     | UYG              | {1}  | {2}  | {3}  | {4}  | {5}  | {6}  | {7}  | {8}  | {9}  | {10} | {11} | {12} | {13} | {14} | {15} | {16} | {17} | {18} | {19} | {20} |
|   |         |                  | ,906 | ,375 | ,664 | ,422 | ,896 | ,191 | ,100 | ,172 | ,434 | ,757 | ,496 | ,735 | ,466 | ,575 | ,303 | ,344 | ,353 | ,369 | ,306 | ,215 |
| 1   | AWC611  | Kontrol          |      | 0,34 | 0,99 | 0,20 | 1,00 | 0,96 | 1,00 | 0,98 | 0,17 | 1,00 | 0,58 | 1,00 | 0,45 | 0,87 | 0,06 | 0,11 | 0,12 | 0,15 | 0,06 | 0,01 |
| 2   | AWC611  | Kurak            | 0,34 |      | 0,01 | 1,00 | 0,30 | 1,00 | 0,97 | 1,00 | 1,00 | 0,05 | 0,00 | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3   | AWC611  | 12,5 mM AS       | 0,99 | 0,01 |      | 0,00 | 0,99 | 0,17 | 0,46 | 0,22 | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,77 | 0,90 | 0,92 | 0,95 | 0,78 | 0,41 |
| 4   | AWC611  | Kurak+12,5 mM AS | 0,20 | 1,00 | 0,00 |      | 0,18 | 1,00 | 0,89 | 0,99 | 1,00 | 0,02 | 0,00 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5   | AWC611  | 25 mM AS         | 1,00 | 0,30 | 0,99 | 0,18 |      | 0,95 | 1,00 | 0,97 | 0,15 | 1,00 | 0,62 | 1,00 | 0,49 | 0,89 | 0,07 | 0,13 | 0,14 | 0,18 | 0,07 | 0,02 |
| 6   | AWC611  | Kurak+25 mM AS   | 0,96 | 1,00 | 0,17 | 1,00 | 0,95 |      | 1,00 | 1,00 | 0,99 | 0,48 | 0,01 | 0,39 | 0,01 | 0,05 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 7   | AWC611  | 10 mM GSH        | 1,00 | 0,97 | 0,46 | 0,89 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 0,86 | 0,83 | 0,06 | 0,76 | 0,04 | 0,18 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,00 |
| 8   | AWC611  | Kurak+10 mM GSH  | 0,98 | 1,00 | 0,22 | 0,99 | 0,97 | 1,00 | 1,00 |      | 0,98 | 0,55 | 0,02 | 0,46 | 0,01 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 9   | AWC611  | 100 mM GSH       | 0,17 | 1,00 | 0,00 | 1,00 | 0,15 | 0,99 | 0,86 | 0,98 |      | 0,02 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 10  | AWC611  | Kurak+100 mM GSH | 1,00 | 0,05 | 1,00 | 0,02 | 1,00 | 0,48 | 0,83 | 0,55 | 0,02 |      | 0,98 | 1,00 | 0,95 | 1,00 | 0,40 | 0,56 | 0,60 | 0,67 | 0,41 | 0,14 |
| 11  | ILC8617 | Kontrol          | 0,58 | 0,00 | 1,00 | 0,00 | 0,62 | 0,01 | 0,06 | 0,02 | 0,00 | 0,98 |      | 0,99 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,96 |
| 12  | ILC8617 | Kurak            | 1,00 | 0,03 | 1,00 | 0,02 | 1,00 | 0,39 | 0,76 | 0,46 | 0,01 | 1,00 | 0,99 |      | 0,98 | 1,00 | 0,48 | 0,65 | 0,69 | 0,75 | 0,49 | 0,19 |
| 13  | ILC8617 | 12,5 mM AS       | 0,45 | 0,00 | 1,00 | 0,00 | 0,49 | 0,01 | 0,04 | 0,01 | 0,00 | 0,95 | 1,00 | 0,98 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,99 |
| 14  | ILC8617 | Kurak+12,5 mM AS | 0,87 | 0,00 | 1,00 | 0,00 | 0,89 | 0,05 | 0,18 | 0,07 | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 0,97 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,98 | 0,77 |
| 15  | ILC8617 | 25 mM AS         | 0,06 | 0,00 | 0,77 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,40 | 1,00 | 0,48 | 1,00 | 0,97 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 16  | ILC8617 | Kurak+25 mM AS   | 0,11 | 0,00 | 0,90 | 0,00 | 0,13 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,56 | 1,00 | 0,65 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 17  | ILC8617 | 10 mM GSH        | 0,12 | 0,00 | 0,92 | 0,00 | 0,14 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,60 | 1,00 | 0,69 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 18  | ILC8617 | Kurak+10 mM GSH  | 0,15 | 0,00 | 0,95 | 0,00 | 0,18 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,67 | 1,00 | 0,75 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 |
| 19  | ILC8617 | 100 mM GSH       | 0,06 | 0,00 | 0,78 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,41 | 1,00 | 0,49 | 1,00 | 0,98 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 |
| 20  | ILC8617 | Kurak+100 mM GSH | 0,01 | 0,00 | 0,41 | 0,00 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,14 | 0,96 | 0,19 | 0,99 | 0,77 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      |

Ek 2. Spesifik SOD aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

| TÜR                | UYGULAMA           | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|--------------------|--------------------|---------|----------|----------|----------------|
| AWC611             | Kontrol            | 1,83    | 1,97     | 1,9061   | 0,07051        |
|                    | Kurak              | 2,13    | 2,63     | 2,3756   | 0,25072        |
|                    | 12,5 mM AS         | 1,66    | 1,67     | 1,6640   | 0,00723        |
|                    | Kurak + 12,5 mM AS | 2,03    | 2,79     | 2,4220   | 0,38040        |
|                    | 25 mM AS           | 1,89    | 1,91     | 1,8960   | 0,00796        |
|                    | Kurak + 25 mM AS   | 1,82    | 2,52     | 2,1910   | 0,34725        |
|                    | 10 mM GSH          | 1,99    | 2,30     | 2,1006   | 0,17670        |
|                    | Kurak + 10 mM GSH  | 1,84    | 2,56     | 2,1723   | 0,36237        |
|                    | 100 mM GSH         | 2,12    | 2,65     | 2,4347   | 0,27923        |
|                    | Kurak + 100 mM GSH | 1,68    | 1,83     | 1,7574   | 0,07677        |
|                    | ILC8617            | Kontrol | 1,25     | 1,82     | 1,4966         |
| Kurak              |                    | 1,71    | 1,77     | 1,7356   | 0,03324        |
| 12,5 mM AS         |                    | 1,33    | 1,64     | 1,4665   | 0,15910        |
| Kurak + 12,5 mM AS |                    | 1,40    | 1,69     | 1,5751   | 0,15106        |
| 25 mM AS           |                    | 1,24    | 1,41     | 1,3038   | 0,09220        |
| Kurak + 25 mM AS   |                    | 1,19    | 1,58     | 1,3440   | 0,21028        |
| 10 mM GSH          |                    | 1,30    | 1,43     | 1,3531   | 0,07038        |
| Kurak + 10 mM GSH  |                    | 1,30    | 1,45     | 1,3696   | 0,07659        |
| 100 mM GSH         |                    | 1,25    | 1,36     | 1,3064   | 0,05420        |
| Kurak + 100 mM GSH |                    | 1,10    | 1,30     | 1,2151   | 0,10462        |

Ek 3. Spesifik AP aktivitesine ait istatistik tablosu (p<0,05)

|          |                  | Tukey HSD test; variable APX<br>Error: Between MS = ,65450, df = 40,000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|----------|------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Cell No. | UYG              | {1}   | {2}    | {3}    | {4}    | {5}    | {6}    | {7}    | {8}    | {9}    | {10}   |
|          |                  | 3,1944  | 6,4782 | 3,6284 | 6,1675 | 4,2694 | 6,5087 | 3,5274 | 5,1172 | 3,7266 | 4,9738 |
| 1        | Kontrol          |   | 0,00   | 0,99   | 0,00   | 0,41   | 0,00   | 1,00   | 0,01   | 0,98   | 0,02   |
| 2        | Kurak            | 0,00  |        | 0,00   | 1,00   | 0,00   | 1,00   | 0,00   | 0,14   | 0,00   | 0,07   |
| 3        | 12,5 mM AS       | 0,99  | 0,00   |        | 0,00   | 0,93   | 0,00   | 1,00   | 0,07   | 1,00   | 0,15   |
| 4        | Kurak+12,5 mM AS | 0,00  | 1,00   | 0,00   |        | 0,01   | 1,00   | 0,00   | 0,44   | 0,00   | 0,27   |
| 5        | 25 mM AS         | 0,41  | 0,00   | 0,93   | 0,01   |        | 0,00   | 0,85   | 0,72   | 0,97   | 0,88   |
| 6        | Kurak+25 mM AS   | 0,00  | 1,00   | 0,00   | 1,00   | 0,00   |        | 0,00   | 0,12   | 0,00   | 0,06   |
| 7        | 10 mM GSH        | 1,00  | 0,00   | 1,00   | 0,00   | 0,85   | 0,00   |        | 0,04   | 1,00   | 0,09   |
| 8        | Kurak+10 mM GSH  | 0,01  | 0,14   | 0,07   | 0,44   | 0,72   | 0,12   | 0,04   |        | 0,12   | 1,00   |
| 9        | 100 mM GSH       | 0,98  | 0,00   | 1,00   | 0,00   | 0,97   | 0,00   | 1,00   | 0,12   |        | 0,22   |
| 10       | Kurak+100 mM GSH | 0,02  | 0,07   | 0,15   | 0,27   | 0,88   | 0,06   | 0,09   | 1,00   | 0,22   |        |

|          |         | Tukey HSD test; variable APX<br>Error: Between MS = ,65450, d |        |
|----------|---------|---|--------|
| Cell No. | TÜR     | {1}   | {2}    |
|          |         | 5,3626  | 4,1557 |
| 1        | AWC611  |   | 0,00   |
| 2        | ILC8617 | 0,00  |        |

Ek 4. Spesifik AP aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

| UYGULAMA                  | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|---------------------------|---------|----------|----------|----------------|
| <b>Kontrol</b>            | 2,22    | 4,77     | 3,1944   | 0,90089        |
| <b>Kurak</b>              | 4,43    | 8,83     | 6,4782   | 1,55120        |
| <b>12,5 mM AS</b>         | 3,23    | 4,09     | 3,6284   | 0,31373        |
| <b>Kurak + 12,5 mM AS</b> | 4,81    | 7,78     | 6,1675   | 1,10166        |
| <b>25 mM AS</b>           | 3,42    | 5,10     | 4,2694   | 0,69496        |
| <b>Kurak + 25 mM AS</b>   | 5,20    | 7,76     | 6,5087   | 0,87182        |
| <b>10 mM GSH</b>          | 2,29    | 5,62     | 3,5274   | 1,14973        |
| <b>Kurak + 10 mM GSH</b>  | 3,96    | 7,67     | 5,1172   | 1,38552        |
| <b>100 mM GSH</b>         | 3,16    | 4,37     | 3,7266   | 0,59789        |
| <b>Kurak + 100 mM GSH</b> | 2,69    | 6,81     | 4,9738   | 1,60615        |

| TÜR            | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|----------------|---------|----------|----------|----------------|
| <b>AWC611</b>  | 2,85    | 8,83     | 5,3626   | 1,57621        |
| <b>ILC8617</b> | 2,22    | 6,93     | 4,1557   | 1,36715        |

Ek 5. Spesifik GR aktivitesine ait istatistik tablosu

| Tukey HSD test; variable GR   |         |        |        |
|-------------------------------|---------|--------|--------|
| Error: Between MS = ,00093, d |         |        |        |
| Cell No.                      | TÜR     | {1}    | {2}    |
| 1                             | AWC611  | ,36884 | ,29557 |
| 2                             | ILC8617 | 0,000  | 0,000  |

Ek 6. Spesifik GR aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

| TÜR     | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|---------|---------|----------|----------|----------------|
| AWC611  | 0,33    | 0,49     | 0,3688   | 0,03915        |
| ILC8617 | 0,25    | 0,35     | 0,2956   | 0,02296        |

Ek 7. Spesifik KAT aktivitesine ait istatistik tablosu (p<0,05)

|          |         | Tukey HSD test; variable KAT<br>Error: Between MS = ,29257, df = 40,000 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       |      |       |      |       |      |       |      |      |      |       |
|----------|---------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|------|------|-------|
| Cell No. | TÜR     | UYG   | {1}  | {2}  | {3}  | {4}  | {5}  | {6}  | {7}  | {8}  | {9}  | {10}  | {11} | {12}  | {13} | {14}  | {15} | {16}  | {17} | {18} | {19} | {20}  |
|          |         |   | ,452 | ,836 | ,750 | ,583 | ,075 | ,031 | ,064 | ,826 | ,036 | ,3769 | ,844 | ,3888 | ,587 | ,3346 | ,792 | ,3685 | ,336 | ,171 | ,268 | ,7548 |
| 1        | AWC611  | Kontrol   |      | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00  | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00  |
| 2        | AWC611  | Kurak   | 0,00 |      | 1,00 | 0,89 | 0,97 | 0,94 | 0,96 | 0,25 | 0,95 | 0,80  | 0,73 | 0,81  | 0,97 | 0,74  | 0,80 | 0,15  | 1,00 | 0,72 | 1,00 | 0,63  |
| 3        | AWC611  | 12,5 mM AS  | 0,00 | 1,00 |      | 0,95 | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,35 | 0,98 | 0,89  | 0,61 | 0,90  | 0,92 | 0,85  | 0,69 | 0,22  | 1,00 | 0,83 | 1,00 | 0,75  |
| 4        | AWC611  | Kurak+12,5 mM AS  | 0,00 | 0,89 | 0,95 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,06 | 1,00  | 0,02 | 1,00  | 0,22 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 5        | AWC611  | 25 mM AS  | 0,00 | 0,97 | 0,99 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,03 | 1,00  | 0,12 | 1,00  | 0,04 | 0,98  | 0,36 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 6        | AWC611  | Kurak+25 mM AS  | 0,00 | 0,94 | 0,98 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,02 | 1,00  | 0,09 | 1,00  | 0,03 | 0,99  | 0,30 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 7        | AWC611  | 10 mM GSH   | 0,00 | 0,96 | 0,99 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,03 | 1,00  | 0,11 | 1,00  | 0,04 | 0,99  | 0,34 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 8        | AWC611  | Kurak+10 mM GSH   | 0,00 | 0,25 | 0,35 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00  | 0,00 | 1,00  | 0,00 | 1,00  | 0,00 | 1,00  | 0,02 | 1,00 | 0,95 | 1,00  |
| 9        | AWC611  | 100 mM GSH  | 0,00 | 0,95 | 0,98 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00  | 0,02 | 1,00  | 0,10 | 1,00  | 0,03 | 0,99  | 0,31 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 10       | AWC611  | Kurak+100 mM GSH  | 0,00 | 0,80 | 0,89 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,04 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,15 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 11       | ILC8617 | Kontrol   | 0,00 | 0,73 | 0,61 | 0,01 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,00 | 0,02 | 0,01  |      | 0,01  | 1,00 | 0,01  | 1,00 | 0,00  | 1,00 | 0,01 | 0,09 | 0,00  |
| 12       | ILC8617 | Kurak   | 0,00 | 0,81 | 0,90 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,01 |       | 0,04 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,16 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 13       | ILC8617 | 12,5 mM AS  | 0,00 | 0,97 | 0,92 | 0,06 | 0,12 | 0,09 | 0,11 | 0,00 | 0,10 | 0,04  | 1,00 | 0,04  |      | 0,03  | 1,00 | 0,00  | 1,00 | 0,03 | 0,29 | 0,02  |
| 14       | ILC8617 | Kurak+12,5 mM AS  | 0,00 | 0,74 | 0,85 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,03 |       | 0,01 | 1,00  | 0,13 | 1,00 | 1,00 | 1,00  |
| 15       | ILC8617 | 25 mM AS  | 0,00 | 0,80 | 0,69 | 0,02 | 0,04 | 0,03 | 0,04 | 0,00 | 0,03 | 0,01  | 1,00 | 0,01  | 1,00 | 0,01  |      | 0,00  | 1,00 | 0,01 | 0,11 | 0,01  |
| 16       | ILC8617 | Kurak+25 mM AS  | 0,00 | 0,15 | 0,22 | 1,00 | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 1,00 | 0,99 | 1,00  | 0,00 | 1,00  | 0,00 | 1,00  | 0,00 |       | 0,01 | 1,00 | 0,87 | 1,00  |
| 17       | ILC8617 | 10 mM GSH   | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 0,22 | 0,36 | 0,30 | 0,34 | 0,02 | 0,31 | 0,15  | 1,00 | 0,16  | 1,00 | 0,13  | 1,00 | 0,01  |      | 0,11 | 0,65 | 0,08  |
| 18       | ILC8617 | Kurak+10 mM GSH   | 0,00 | 0,72 | 0,83 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,03 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,11 |      | 1,00 | 1,00  |
| 19       | ILC8617 | 100 mM GSH  | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,95 | 1,00 | 1,00  | 0,09 | 1,00  | 0,29 | 1,00  | 0,11 | 0,87  | 0,65 | 1,00 |      | 1,00  |
| 20       | ILC8617 | Kurak+100 mM GSH  | 0,00 | 0,63 | 0,75 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00  | 0,00 | 1,00  | 0,02 | 1,00  | 0,01 | 1,00  | 0,08 | 1,00 | 1,00 |       |

Ek 8. Spesifik KAT aktivitesine ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

| TÜR                | UYGULAMA           | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|--------------------|--------------------|---------|----------|----------|----------------|
| AWC611             | Kontrol            | 5,26    | 5,65     | 5,4526   | 0,19302        |
|                    | Kurak              | 0,66    | 3,24     | 1,8366   | 1,30782        |
|                    | 12,5 mM AS         | 1,35    | 2,19     | 1,7506   | 0,42174        |
|                    | Kurak + 12,5 mM AS | 0,57    | 1,29     | 0,9583   | 0,36290        |
|                    | 25 mM AS           | 0,62    | 1,54     | 1,0756   | 0,45662        |
|                    | Kurak + 25 mM AS   | 0,63    | 1,32     | 1,0318   | 0,35935        |
|                    | 10 mM GSH          | 0,85    | 1,21     | 1,0641   | 0,19071        |
|                    | Kurak + 10 mM GSH  | 0,39    | 0,60     | 0,4826   | 0,10863        |
|                    | 100 mM GSH         | 0,55    | 1,64     | 1,0361   | 0,55545        |
|                    | Kurak + 100 mM GSH | 0,77    | 0,97     | 0,8769   | 0,09844        |
|                    | ILC8617            | Kontrol | 2,31     | 3,13     | 2,8444         |
| Kurak              |                    | 0,85    | 0,92     | 0,8889   | 0,03739        |
| 12,5 mM AS         |                    | 2,26    | 2,98     | 2,5877   | 0,36778        |
| Kurak + 12,5 mM AS |                    | 0,41    | 1,65     | 0,8346   | 0,70431        |
| 25 mM AS           |                    | 1,37    | 3,95     | 2,7926   | 1,30730        |
| Kurak + 25 mM AS   |                    | 0,24    | 0,57     | 0,3686   | 0,17554        |
| 10 mM GSH          |                    | 2,08    | 2,49     | 2,3361   | 0,21966        |
| Kurak + 10 mM GSH  |                    | 0,33    | 1,20     | 0,8172   | 0,44782        |
| 100 mM GSH         |                    | 1,02    | 1,71     | 1,2681   | 0,38732        |
| Kurak + 100 mM GSH |                    | 0,41    | 1,07     | 0,7549   | 0,32847        |



Ek 9. AS konsantrasyonuna ait İstatistik tablosu (p<0,05)

| Tukey HSD test; variable ASC<br>Error: Between MS = 590,50, df = 40,000 |         |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|---------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Cell No.  | TÜR     | UYG              | {1}  | {2}  | {3}  | {4}  | {5}  | {6}  | {7}  | {8}  | {9}  | {10} | {11} | {12} | {13} | {14} | {15} | {16} | {17} | {18} | {19} | {20} |
|   |         |                  | 01,2 | 69,4 | 29,2 | 14,3 | 73,4 | 96,2 | 60,5 | 14,6 | 32,6 | 43,3 | 15,7 | 40,6 | 66,8 | 02,0 | 86,3 | 08,4 | 43,2 | 62,6 | 72,3 | 02,5 |
| 1   | AWC611  | Kontrol          |      | 0,12 | 1,00 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,29 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,25 | 0,96 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,32 | 0,90 | 0,99 | 1,00 |
| 2   | AWC611  | Kurak            | 0,12 |      | 0,87 | 0,75 | 1,00 | 0,00 | 1,00 | 0,74 | 0,20 | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,13 | 0,02 | 0,24 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,13 |
| 3   | AWC611  | 12,5 mM AS       | 1,00 | 0,87 |      | 0,01 | 0,77 | 0,00 | 0,99 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,21 | 1,00 | 0,80 | 1,00 | 0,01 | 0,14 | 0,35 | 1,00 |
| 4   | AWC611  | Kurak+12,5 mM AS | 0,00 | 0,75 | 0,01 |      | 0,86 | 0,02 | 0,45 | 1,00 | 1,00 | 0,99 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5   | AWC611  | 25 mM AS         | 0,07 | 1,00 | 0,77 | 0,86 |      | 0,00 | 1,00 | 0,85 | 0,29 | 0,09 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,08 | 0,01 | 0,16 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,08 |
| 6   | AWC611  | Kurak+25 mM AS   | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,02 | 0,00 |      | 0,00 | 0,02 | 0,19 | 0,48 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 7   | AWC611  | 10 mM GSH        | 0,29 | 1,00 | 0,99 | 0,45 | 1,00 | 0,00 |      | 0,44 | 0,07 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,31 | 0,06 | 0,50 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,32 |
| 8   | AWC611  | Kurak+10 mM GSH  | 0,00 | 0,74 | 0,01 | 1,00 | 0,85 | 0,02 | 0,44 |      | 1,00 | 0,99 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 9   | AWC611  | 100 mM GSH       | 0,00 | 0,20 | 0,00 | 1,00 | 0,29 | 0,19 | 0,07 | 1,00 |      | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 10  | AWC611  | Kurak+100 mM GSH | 0,00 | 0,06 | 0,00 | 0,99 | 0,09 | 0,48 | 0,02 | 0,99 | 1,00 |      | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 11  | ILC8617 | Kontrol          | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |      | 1,00 | 0,54 | 0,01 | 0,09 | 0,00 | 1,00 | 0,68 | 0,36 | 0,01 |
| 12  | ILC8617 | Kurak            | 0,25 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 |      | 1,00 | 0,23 | 0,72 | 0,12 | 1,00 | 1,00 | 0,98 | 0,22 |
| 13  | ILC8617 | 12,5 mM AS       | 0,96 | 0,00 | 0,21 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,54 | 1,00 |      | 0,95 | 1,00 | 0,84 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,95 |
| 14  | ILC8617 | Kurak+12,5 mM AS | 1,00 | 0,13 | 1,00 | 0,00 | 0,08 | 0,00 | 0,31 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,23 | 0,95 |      | 1,00 | 1,00 | 0,30 | 0,89 | 0,99 | 1,00 |
| 15  | ILC8617 | 25 mM AS         | 1,00 | 0,02 | 0,80 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,09 | 0,72 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 0,80 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 16  | ILC8617 | Kurak+25 mM AS   | 1,00 | 0,24 | 1,00 | 0,00 | 0,16 | 0,00 | 0,50 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,12 | 0,84 | 1,00 | 1,00 |      | 0,16 | 0,72 | 0,94 | 1,00 |
| 17  | ILC8617 | 10 mM GSH        | 0,32 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,30 | 0,80 | 0,16 |      | 1,00 | 0,99 | 0,29 |
| 18  | ILC8617 | Kurak+10 mM GSH  | 0,90 | 0,00 | 0,14 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,68 | 1,00 | 1,00 | 0,89 | 1,00 | 0,72 | 1,00 |      | 1,00 | 0,88 |
| 19  | ILC8617 | 100 mM GSH       | 0,99 | 0,00 | 0,35 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,36 | 0,98 | 1,00 | 0,99 | 1,00 | 0,94 | 0,99 | 1,00 |      | 0,99 |
| 20  | ILC8617 | Kurak+100 mM GSH | 1,00 | 0,13 | 1,00 | 0,00 | 0,08 | 0,00 | 0,32 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,22 | 0,95 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,29 | 0,88 | 0,99 |      |

Ek 10. AS konsantrasyonuna ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

| TÜR     | UYGULAMA           | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|---------|--------------------|---------|----------|----------|----------------|
| AWC611  | Kontrol            | 196,25  | 205,59   | 201,2612 | 4,70519        |
|         | Kurak              | 267,05  | 272,02   | 269,4438 | 2,49028        |
|         | 12,5 mM AS         | 226,23  | 232,83   | 229,2840 | 3,33010        |
|         | Kurak + 12,5 mM AS | 284,50  | 344,41   | 314,3294 | 29,95613       |
|         | 25 mM AS           | 273,06  | 273,86   | 273,4400 | 0,40291        |
|         | Kurak + 25 mM AS   | 307,27  | 475,40   | 396,1976 | 84,48382       |
|         | 10 mM GSH          | 233,75  | 276,32   | 260,5580 | 23,33697       |
|         | Kurak + 10 mM GSH  | 286,79  | 345,09   | 314,6144 | 29,23856       |
|         | 100 mM GSH         | 311,99  | 355,06   | 332,6214 | 21,59398       |
|         | Kurak + 100 mM GSH | 335,19  | 354,98   | 343,3662 | 10,33288       |
| ILC8617 | Kontrol            | 107,95  | 125,04   | 115,7164 | 8,65236        |
|         | Kurak              | 131,73  | 146,86   | 140,6550 | 7,92255        |
|         | 12,5 mM AS         | 159,05  | 172,12   | 166,8528 | 6,89180        |
|         | Kurak + 12,5 mM AS | 185,66  | 216,44   | 202,0756 | 15,49353       |
|         | 25 mM AS           | 170,89  | 201,86   | 186,3326 | 15,48440       |
|         | Kurak + 25 mM AS   | 198,93  | 223,74   | 208,4008 | 13,40419       |
|         | 10 mM GSH          | 135,53  | 152,35   | 143,2464 | 8,49831        |
|         | Kurak + 10 mM GSH  | 155,08  | 174,19   | 162,6518 | 10,15398       |
|         | 100 mM GSH         | 140,88  | 188,69   | 172,3340 | 27,25133       |
|         | Kurak + 100 mM GSH | 201,97  | 203,08   | 202,5464 | 0,55344        |

Ek 11. GSH konsantrasyonuna ait istatistik tablosu (p<0,05)

| Tukey HSD test; variable GSH<br>Error: Between MS = ,01663, df = 40,000 |         |                  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|---------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Cell No.  | TÜR     | UYG              | {1}  | {2}  | {3}  | {4}  | {5}  | {6}  | {7}  | {8}  | {9}  | {10} | {11} | {12} | {13} | {14} | {15} | {16} | {17} | {18} | {19} | {20} |
|   |         |                  | 7124 | ,436 | ,065 | ,378 | ,162 | ,544 | ,485 | ,603 | ,595 | ,548 | 3484 | 3483 | 7080 | 3021 | 5720 | 5918 | 4300 | 5147 | 4183 | 7815 |
| 1   | AWC611  | Kontrol          |      | 0,00 | 0,14 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,47 | 0,93 | 0,40 | 1,00 |
| 2   | AWC611  | Kurak            | 0,00 |      | 0,09 | 1,00 | 0,52 | 1,00 | 1,00 | 0,98 | 0,99 | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3   | AWC611  | 12,5 mM AS       | 0,14 | 0,09 |      | 0,29 | 1,00 | 0,01 | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,03 | 0,86 | 0,13 | 0,59 | 0,00 | 0,09 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,46 |
| 4   | AWC611  | Kurak+12,5 mM AS | 0,00 | 1,00 | 0,29 |      | 0,86 | 0,99 | 1,00 | 0,82 | 0,86 | 0,98 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5   | AWC611  | 25 mM AS         | 0,01 | 0,52 | 1,00 | 0,86 |      | 0,07 | 0,24 | 0,02 | 0,02 | 0,07 | 0,00 | 0,29 | 0,01 | 0,12 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,08 |
| 6   | AWC611  | Kurak+25 mM AS   | 0,00 | 1,00 | 0,01 | 0,99 | 0,07 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 7   | AWC611  | 10 mM GSH        | 0,00 | 1,00 | 0,03 | 1,00 | 0,24 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 8   | AWC611  | Kurak+10 mM GSH  | 0,00 | 0,98 | 0,00 | 0,82 | 0,02 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 9   | AWC611  | 100 mM GSH       | 0,00 | 0,99 | 0,00 | 0,86 | 0,02 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 10  | AWC611  | Kurak+100 mM GSH | 0,00 | 1,00 | 0,01 | 0,98 | 0,07 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 11  | ILC8617 | Kontrol          | 1,00 | 0,00 | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |      | 0,92 | 1,00 | 0,99 | 1,00 | 1,00 | 0,85 | 1,00 | 0,79 | 1,00 |
| 12  | ILC8617 | Kurak            | 1,00 | 0,00 | 0,86 | 0,00 | 0,29 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,92 |      | 1,00 | 1,00 | 0,51 | 0,99 | 0,03 | 0,20 | 0,02 | 1,00 |
| 13  | ILC8617 | 12,5 mM AS       | 1,00 | 0,00 | 0,13 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 1,00 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,50 | 0,94 | 0,42 | 1,00 |
| 14  | ILC8617 | Kurak+12,5 mM AS | 1,00 | 0,00 | 0,59 | 0,00 | 0,12 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,99 | 1,00 | 1,00 |      | 0,79 | 1,00 | 0,09 | 0,44 | 0,07 | 1,00 |
| 15  | ILC8617 | 25 mM AS         | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,51 | 1,00 | 0,79 |      | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,99 | 0,89 |
| 16  | ILC8617 | Kurak+25 mM AS   | 1,00 | 0,00 | 0,09 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,99 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |      | 0,60 | 0,97 | 0,52 | 1,00 |
| 17  | ILC8617 | 10 mM GSH        | 0,47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,85 | 0,03 | 0,50 | 0,09 | 1,00 | 0,60 |      | 1,00 | 1,00 | 0,14 |
| 18  | ILC8617 | Kurak+10 mM GSH  | 0,93 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,20 | 0,94 | 0,44 | 1,00 | 0,97 | 1,00 |      | 1,00 | 0,57 |
| 19  | ILC8617 | 100 mM GSH       | 0,40 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,79 | 0,02 | 0,42 | 0,07 | 0,99 | 0,52 | 1,00 | 1,00 |      | 0,11 |
| 20  | ILC8617 | Kurak+100 mM GSH | 1,00 | 0,00 | 0,46 | 0,00 | 0,08 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,89 | 1,00 | 0,14 | 0,57 | 0,11 |      |

Ek 12. GSH konsantrasyonuna ait minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

| TÜR                | UYGULAMA           | Minimum | Maksimum | Ortalama | Standart Sapma |
|--------------------|--------------------|---------|----------|----------|----------------|
| AWC611             | Kontrol            | 0,54    | 0,89     | 0,7125   | 0,17547        |
|                    | Kurak              | 1,43    | 1,44     | 1,4361   | 0,00754        |
|                    | 12,5 mM AS         | 0,99    | 1,15     | 1,0651   | 0,08036        |
|                    | Kurak + 12,5 mM AS | 1,27    | 1,45     | 1,3787   | 0,09601        |
|                    | 25 mM AS           | 1,02    | 1,30     | 1,1620   | 0,13622        |
|                    | Kurak + 25 mM AS   | 1,51    | 1,58     | 1,5441   | 0,03392        |
|                    | 10 mM GSH          | 1,48    | 1,49     | 1,4856   | 0,00167        |
|                    | Kurak + 10 mM GSH  | 1,60    | 1,61     | 1,6032   | 0,00348        |
|                    | 100 mM GSH         | 1,57    | 1,62     | 1,5959   | 0,02761        |
|                    | Kurak + 100 mM GSH | 1,54    | 1,55     | 1,5480   | 0,00675        |
|                    | ILC8617            | Kontrol | 0,38     | 0,95     | 0,6484         |
| Kurak              |                    | 0,51    | 1,17     | 0,8484   | 0,33272        |
| 12,5 mM AS         |                    | 0,67    | 0,76     | 0,7080   | 0,04614        |
| Kurak + 12,5 mM AS |                    | 0,73    | 0,88     | 0,8021   | 0,07271        |
| 25 mM AS           |                    | 0,48    | 0,66     | 0,5721   | 0,08789        |
| Kurak + 25 mM AS   |                    | 0,62    | 0,76     | 0,6918   | 0,06858        |
| 10 mM GSH          |                    | 0,41    | 0,45     | 0,4300   | 0,01755        |
| Kurak + 10 mM GSH  |                    | 0,32    | 0,71     | 0,5147   | 0,19306        |
| 100 mM GSH         |                    | 0,38    | 0,47     | 0,4183   | 0,04473        |
| Kurak + 100 mM GSH |                    | 0,67    | 0,89     | 0,7815   | 0,10951        |

## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Erzincan'da doğdu. 2002 yılında Refhan Tümer Lisesi'nden mezun oldu. Aynı yıl Mersin Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu'nda 1 yıl İngilizce dil eğitimi gördükten sonra Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2007 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2008 yılından beri Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.