



**DOKU KÜLTÜRÜ ŞARTLARINDA
EKMEKLİK BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.)
UV-B STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN
KORUYUCU ETKİSİ**

Sedat KARACA

**Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı
Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR**

2019

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOKU KÜLTÜRÜ ŞARTLARINDA EKMEKLİK BUĞDAYDA
(*Triticum aestivum* L.) UV-B STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN
KORUYUCU ETKİSİ

Sedat KARACA

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2019

Her hakkı saklıdır



TEZ ONAY FORMU

DOKU KÜLTÜRÜ ŞARTLARINDA EKMEKLİK BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) UV-B STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN KORUYUCU ETKİSİ

Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR danışmanlığında, Sedat KARACA tarafından hazırlanan bu çalışma, 02/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak ~~oybirliği / oy çokluğu (.../...)~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

İmza

Üye : Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza

Üye : Doç. Dr. Emre İLHAN

İmza

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 08/08/2019 tarih ve ..32/67... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN Y.
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2019-6830

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOKU KÜLTÜRÜ ŞARTLARINDA EKMEKLİK BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) UV-B STRESİNE KARŞI α -TOKOFEROLÜN KORUYUCU ETKİSİ

Sedat KARACA

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

Tüm fotoototrofik organizmalar için ışık, fotosentetik mekanizmalar tarafından tutulan ve karbondioksiti organik bileşiklere dönüştürmek için kullanılan bir enerji kaynağıdır. Son yıllarda, stratosferik ozonun incilmesi sonucu, güneş ışığının bir bileşeni olan yüksek Ultraviyole (UV) -B radyasyonu (280–320 nm), atmosferden geçerek dünyanın yüzeyine ulaşmaktadır. Bu abiyotik stres kaynağı, bitkilerin hareketsiz yaşamlarından dolayı kaçınılmaz olup, büyüme inhibisyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilmektedir. Bu çalışmada, insan beslenmesinde önemli bir tahıl olan buğdayın UV-B radyasyon stresine karşı toleransında lipofilik antioksidan olan eksojen α -tokoferolün rolünü belirlemek için, kallus oluşum ortamında kırık buğday çeşidinin olgun embriyolarından türetilen 10 günlük kalluslar 0, 2, 4 ve 6 saat boyunca UV-B radyasyonuna maruz bırakılmıştır. Daha sonra UV-B stresine maruz kalan kalluslar, α -tokoferol (0, 50 ve 100 mg/l) içeren kallus oluşum ortamına aktarılmış ve 20 gün boyunca kallus ortamında kültürlenmiştir. 30 gün sonunda meydana gelen embriyogenik kalluslar bitki rejenerasyonu için bitki rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Bu çalışmada kallusun nispi gelişme oranı (%), embriyogenik kallus oranı (%), cevap veren embriyogenik kallus oranı (%) ve eksplant başına bitki sayısı (adet) ile ilgili veriler elde edildi. Çalışma sonucunda, kallus nispi gelişim oranı, embriyogenik kallus oranı, cevap veren embriyogenik kallus oranı ve eksplant başına düşen bitki sayısı UV-B süresindeki artışa bağlı olarak önemli ölçüde azalma belirlenmiştir. Diğer taraftan α -tokoferol uygulaması ile birlikte tüm bu parametrelerde iyileşmeler meydana gelmiş ve UV-B stresinde bitki rejenerasyon parametreleri bakımından en iyi sonuç 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında gözlenmiştir.

2019, 60 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bitki rejenerasyonu, buğday, *in vitro*, UV-B stresi, vitamin E

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

PROTECTIVE EFFECT OF α -TOCOPHEROL AGAINST UV-B STRESS IN BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.) UNDER TISSUE CULTURE CONDITIONS

Sedat KARACA

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Biotechnology
Department of of Plant Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

Light for all photoautotrophic organisms is an energy source held by photosynthetic mechanisms and used to convert carbon dioxide into organic compounds. In recent years, as a result of thinning of stratospheric ozone, high Ultraviolet (UV)-B radiation (280–320 nm), a component of sunlight, passes through the atmosphere and reach the surface of the earth. This source of abiotic stress is inevitable for plants due to their sessile life and may lead to growth inhibition or even cell death. In this study, To determine the role of exogenous α -tocopherol which is lipophilic antioxidant in the tolerance of wheat, which is an important cereal plant in human nutrition, to stress from UV-B radiation, The 10-days calli that derived from mature embryos of the Kırık wheat cultivar in callus induction medium were exposed to UV-B radiation for 0, 2, 4 and 6 hours. Afterwards, calli exposed to UV-B stress was transferred, and cultured in callus medium containing alpha tocopherol (0, 50 and 100 mg/l) for 20 days. After 30 days, embryogenic calli were transferred to plant regeneration medium for plant regeneration. Data related to callus relative development rate (%), embryogenic callus ratio (%), responsive embryogenic callus ratio (%) and number of plants per explant (number) were obtained in this study. As a result of the study, callus relative development rate, embryogenic callus ratio, responsive embryogenic callus ratio and number of plants per explant decreased considerably depending on the increase in UV-B treatment periods. With α -tocopherol application, all these parameters were improved, and the best results under UV-B stress was observed with 100 mg/l α -tocopherol application according to plant regeneration parameters.

2019, 60 pages

Keywords: Plant regeneration, wheat, *in vitro*, UV-B stress, vitamin E

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunmuş olduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Bitkisel Biyoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

Çalışmalarım boyunca göstermiş olduğu anlayış ve yönlendirmelerinden dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim ve çalışmalarım süresince destek ve yardımlarını esirgemeyerek tezime katkıda bulunma nezaketi gösteren Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN ve tüm bölüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatta ki en büyük destekçilerim olan babam Necmi KARACA'ya, annem Semra KARACA'ya ve kız kardeşim Fulden KARACA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sedat KARACA

Ağustos, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	11
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.1.1. Bitki materyali	21
3.1.2. Kallus kültürü ortamlarında kullanılan kimyasallar	21
3.1.2.a. Temel besi ortamı	21
3.1.2.b MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar.....	22
3.1.3. Bitki rejenerasyonu ortamında kullanılan kimyasallar.....	23
3.1.4. UV-B stresi uygulama süresi ve UV-B stresine karşı kullanılan kimyasal ve konsantrasyonları	23
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Sterilizasyon yöntemleri.....	23
3.2.1.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu	23
3.2.1.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu	24
3.2.1.c. Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu.....	24
3.2.1.d. Sterilizasyonda kullanılan solüsyonların hazırlanışı	24
3.2.2. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanması.....	25
3.2.2.a. Temel besi ortamı için stok solüsyonların hazırlanışı	25
3.2.2.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı	27
3.2.2.c. α -tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı.....	28
3.2.2.d. Kültür ortamının hazırlanması.....	29

3.2.3. <i>İn vitro</i> 'da α -tokoferol ve UV-B uygulaması.....	29
3.2.4. Araştırmada incelenen karakterler.....	31
3.2.5. Verilerin istatistiksel analizi.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	33
4.1. Kallus nispi gelişim oranı (%).....	33
4.2. Embriyogenik Kallus Oluşum Oranı (%).....	35
4.3. Cevap veren embriyogenik kallus oranı (%).....	38
4.4. Eksplant Başına Bitki Sayısı (Adet).....	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	44
5.1. Sonuç ve öneriler.....	49
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	61

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
μM	Mikromolar
μmol	Mikromol
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondioksit
da	Dekar
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ha	Hektar
K	Potasyum
kJ	Kilojoule
kPA	Kilopaskal
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
N	Azot
NaCl	Sodyum klorür
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NaOH	Sodyum hidroksit
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
P	Fosfor
pH	Asitlik derecesi
T	Timin

Kısaltmalar

APX	Askorbat peroksidaz
CAT	Katalaz
CEKO	Cevap veren embriyogenik kallus oranı
DNA	Deoksiribonükleik asit
EBBS	Eksplant başına bitki sayısı
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EKOO	Embriyogenik kallus oluşum oranı
FAO	Food and Agriculture Organisation
IAA	İndol asetik asit
KNGO	Kallus nispi gelişim oranı
LPO	Lipid Peroksidasyon
MS	Temel besi ortamı, Murashige and Skoog
POX	Peroksidaz
Ppm	Parts per million (milyonda bir birim)
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TDZ	Thidiazuron
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. UV-B radyasyonunun etkileri.....	5
Şekil 1.2. UV-B ışınlarının DNA üzerindeki doğrudan ve dolaylı etkisi	6
Şekil 1.3. α - tokoferolün kimyasal yapısı	7
Şekil 3.1. Sterilizasyon sonrası su emdirilmiş tohumun embriyosunun kesim kısımlarının gösterimi.....	30
Şekil 4.1. UV-B stresinde uygulanan α - tokoferolün kallus nispi gelişim oranına etkisi	35
Şekil 4.2. UV-B'nin farklı ışımaya sürelerinde kallus gelişimine, cevap veren embriyogenik kallus ve bitki sayısı düzeyinde verdiği zararlar	35
Şekil 4.3. UV-B stresinde uygulanan α - tokoferolün embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi	37
Şekil 4.4. UV-B stresinde uygulanan α - tokoferolün cevap veren embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi	40
Şekil 4.5. UV-B'nin farklı ışımaya sürelerinde meydana gelen cevap veren embriyogenik kallusların görünüşleri	40
Şekil 4.6. UV-B stresinde uygulanan α - tokoferolün eksplant başına bitki sayısına etkisi	43
Şekil 4.7. UV-B'nin farklı ışımaya sürelerinde meydana gelen bitkiciklerin görünüşleri	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	22
Çizelge 3.2. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar.....	22
Çizelge 3.3. Buğday olgun embriyo kültüründe uygulanan UV-B ışımaya süreleri ve α -tokoferol konsantrasyonları.....	23
Çizelge 3.4. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar.....	28
Çizelge 3.5. Oksin stok solüsyonunun hazırlanışı	28
Çizelge 3.6. Sitokinin stok solüsyonunun hazırlanışı	28
Çizelge 3.7. α -tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı.....	28
Çizelge 4.1. Kallus nispi gelişim oranına ait varyans analiz sonuçları.....	33
Çizelge 4.2. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre kallus nispi gelişim oranı	34
Çizelge 4.3. Embriyogenik kallus oluşum oranına ait varyans analiz sonuçları	36
Çizelge 4.4. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre embriyogenik kallus oluşum oranı	36
Çizelge 4.5. Cevap veren embriyogenik kallus oranına ait varyans analiz sonuçları	38
Çizelge 4.6. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre cevap veren embriyogenik kallus oranı	39
Çizelge 4.7. Eksplant başına bitki sayısına ait varyans analiz sonuçları	41
Çizelge 4.8. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre eksplant başına bitki sayısı.....	42

1. GİRİŞ

Tarım, artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyaçlarını karşılaması, bireylerin sağlığı üzerindeki etkisi, istihdam sağlaması, diğer sektörlerin hammadde ihtiyacını karşılaması, ülkelerin sosyal-ekonomik gelişimine katkıda bulunması gibi nedenlerden dolayı önemli bir sektör konumundadır. Tarım sektörünün ana unsurlarından biri olan bitkisel üretim, tarla ve bağ-bahçe tarımı olarak gruplandırılmaktadır. Tarla tarımının en önemli grubu hiç şüphesiz hububatlardır, buğday insan beslenmesi, sağlığı ve yaşam kalitesi için en temel bitkisel üründür (Süzer ve Demir 2012).

Poaceae (Buğdaygiller) familyasına ait *Triticum* cinsi, *Triticum monococcum* L. (AA), *Triticum urartu* (AA), *Triticum turgidum* L. (AABB), *Triticum timopheevii* (AAGG), *Triticum aestivum* L. (AABBDD) ve *Triticum zhukovskyi* L. (AAAAGG) olmak üzere altı ana türden oluşmaktadır. Bu türler ve alt türleri de kromozom sayılarına göre diploit ($2n=2x=14$), tetraploit ($2n=4x=28$), hekzaploit ($2n=6x=42$) olarak gruplandırılmaktadır. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) dünya buğday üretiminin %90'lık bölümünü oluşturduğu için, geçmişten günümüze sitolojik ve genetik çalışmaların en önemli materyallerinden birisi olmuştur (Matsuoka 2011; Atak 2017).

Buğday, tarih boyunca insanların beslenme ihtiyaçlarının giderilmesi açısından büyük öneme sahip bir tahıl bitkisi olmuştur. Dünyanın hemen hemen bütün coğrafik bölgelerinde yaşayan insanlar için vazgeçilmez bir gıda türüdür. Bunun nedeni ise deniz seviyesinden yüksek noktalara adapte olmuş, kısa süre içerisinde ve kolay yetiştirilebilmesi, besin değerinin yüksek olması, depolanmasının ve saklanmasının kolay olması, ekmeklik kalitesinin diğer tahıl bitkilerine göre daha yüksek olması şeklinde açıklanmaktadır (Atar 2017). FAO 2017 yılı verilerine göre, Dünyada buğday ekim alanı 218,5 milyon ha, üretim miktarı 771,7 milyon ton, dekara verimi ise 353,1 kg/da olarak gerçekleşmiştir. Buğday üretiminin yaklaşık %70'i Çin, Hindistan, Rusya, ABD, Fransa, Avustralya, Kanada, Pakistan, Ukrayna ve Almanya'da yapılmaktadır. Yine, FAO verilerine göre 2018/19 sezonu için üretimin 730,2 milyon ton, talebin 747,1 milyon ton olması tahmin edilmektedir (FAO 2018). Ülkemizde ise TÜİK'in 2018 yılı

verilerine göre 38,82 milyon ha olan toplam tarım alanının 19,74 milyon ha işlenmektedir. Bu işlenen tarım alanlarından 15,44 milyon ha'nını tahıllar oluşturmaktadır. Tahıllar içerisinde yer alan buğday ise 7,30 milyon ha'lık bir alanı kaplamakta ve yıllık üretim miktarı 20 milyon tondur. Yine ülkemizde 2019 yılı tahminlerine göre buğday üretiminin %2,5 azalarak 19,5 milyon tona düşeceği tahmin edilmektedir (TÜİK 2018).

Ülkemizde buğday tarımı, büyük ölçüde stresli şartlarda yapıldığından dolayı verim düşük ve buna bağlı olarak da buğday üretimi yapan çiftçinin geliri de diğer ürün üretimi yapan çiftçilere göre daha düşük olmaktadır. Diğer taraftan bazı bölgelerimizde buğdaya alternatif bir ürün olmayışı bu bölgelerde zorunlu bir şekilde buğday-nadas ekim nöbeti sisteminin uygulanmasına neden olmaktadır. Ayrıca sulak alanlarda yani polikültür tarımı yapılmakta olan bölgelerimizde buğday veriminin fazla olmasının yanında işçiliğinin daha az ve kolay olması nedeniyle üretici ilk olarak buğday ürününü tercih etmektedir (Kızılaslan 2004).

Buğday üretiminin çok fazla ve geniş alanlara yayılması, üretim tekniklerinin bilinirliğini artırmakta buda stresli şartlarda ve marjinal alanlarda üretiminin yapılmasına yol açmaktadır. Bu durum birim alandan elde edilmekte olan üretim miktarını azaltmaktadır. Çevresel stresler, buğdayda dâhil olmak üzere tüm bitkileri doğrudan ya da dolaylı olarak etkilemekte, bitkilerin büyüme ve gelişmeleri için sahip oldukları genetik potansiyelin tümünün ortaya çıkmasını engellemektedir. Bitkiler ultraviyole (UV) gibi birçok abiyotik strese maruz kalmaktadır. Bu durum, özellikle tarımsal ürünlerin verimlerinde ciddi azalmalara yol açmaktadır (Láposi *et al.* 2009).

Stratosferin üst kısmında bulunan tabaka Ozon Tabakası olarak adlandırılmaktadır. Bu tabaka güneşten gelen zararlı ultraviyole (UV-B, UV-C) ışınların dünyaya ulaşmasını engellemektedir. Dolayısıyla koruyucu bir filtre görevi yapmaktadır. Bu zararlı ışınlar bir şekilde yeryüzündeki canlı organizmaların hepsine zarar vermektedir ve ozon tabakası zarar gördükçe de dünyaya ulaşan ışınların miktarı artmaktadır. Değişen çevre koşulları, insan aktiviteleri, atmosferik kirlenme (klorlanmış hidrokarbon vb.) ve birçok

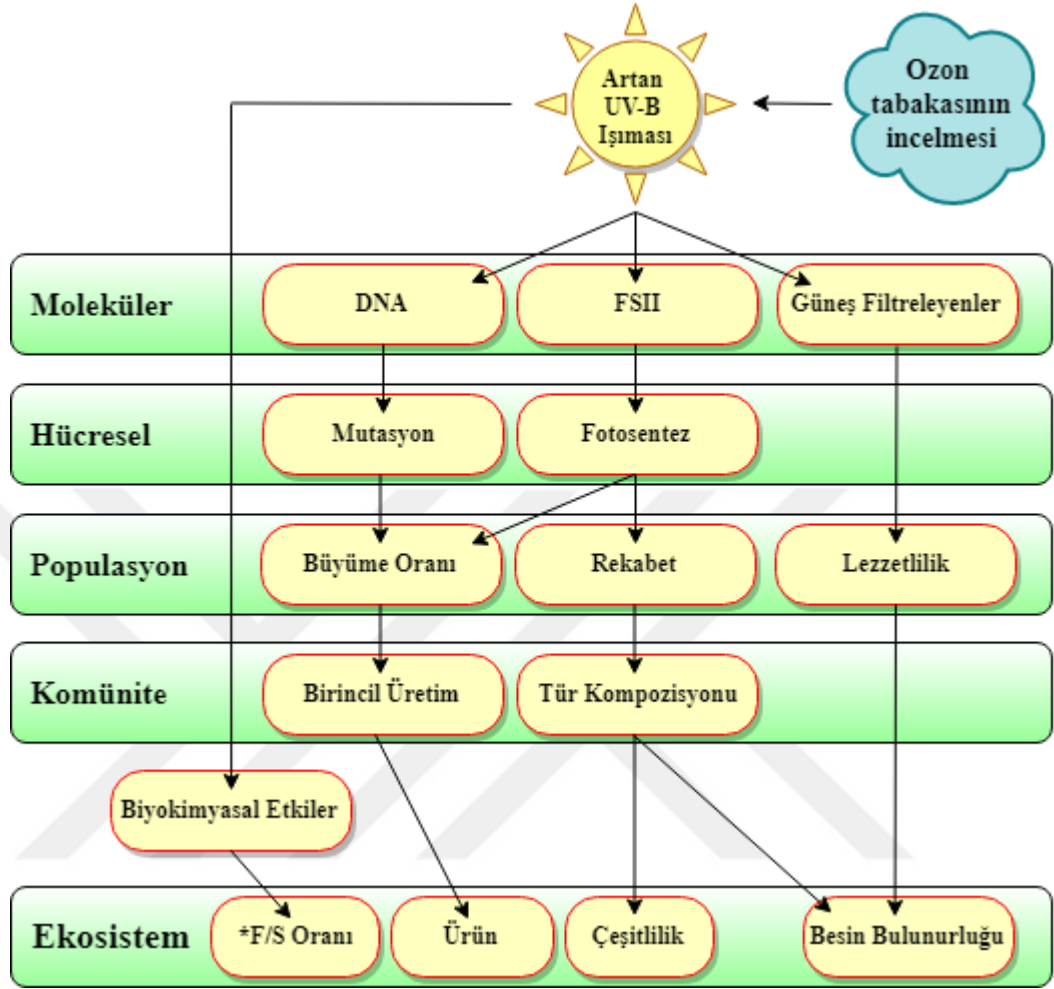
etmen sonucu stratosferik ozon tabakasında meydana gelen değişimler UV etkilerinin artmasına yol açmaktadır. UV radyasyonu, incelen atmosferde daha az dağılım ve emilim gösterdiği için yükseklikle birlikte artmaktadır. Deniz seviyesinden yükseklere çıkıldıkça, UV radyasyonu her bin metrede yaklaşık %10 oranında artış göstermektedir. Bu nedenle, dağlık alanlar düz alanlara göre daha fazla UV radyasyonuna maruz kalmaktadır (Láposi *et al.* 2009).

Güneş ışınlarında mevcut olan UV-A, UV-B ve UV-C radyasyonlarından 320 ile 390 nm arasında dalga boyuna sahip UV-A atmosferdeki gazlar tarafından absorplanarak, ozon tabakası tarafından tutulduğu için stratosferik ozon incelmesinden etkilenmemektedir. UV-C radyasyonları ise 280 nm'den daha kısa dalga boyuna sahip ışınlar olduklarından yeryüzüne erişemezler. Büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkilere sahip olan 280-315 nm dalga boyu aralığındaki UV-B ışınları ise ozon tarafından absorbe edildiğinden dolayı en fazla dikkat çekici radyasyon tipi olmuştur. Stratosferik ozon incelmesine bağlı olarak yer kabuğundaki günlük UV-B miktarı artmaktadır (Ormrod and Hale 1995). Biyosferdeki bütün canlı organizmalar, solar aç ve stratosferik ozon tabakasının kalınlığındaki değişim nedeniyle şiddetli UV-B radyasyonuna maruz kalmaktadır (Zlatev *et al.* 2012). Goddard Uzay Araştırmaları Enstitüsü'nün, 1979-1992 yıllarına ait verilerine göre, 2010-2020 yılları arasında yeryüzüne ulaşan UV-B miktarında yıllık maksimum Kuzey Yarımküre'de %14, Güney Yarımküre'de %40 düzeyine kadar artış öngörmüştür (Li *et al.* 2010). Bununla birlikte, ozon tabakasındaki her %1'lik incelmeyen, dünya yüzeyine ulaşan UV-B radyasyonunda %2'lik artışa karşılık geldiği ileri sürülmektedir (Láposi *et al.* 2009; Li *et al.* 2010). Son yıllarda kloroflorokarbon gazları gibi bazı hava kirleticileri nedeniyle ozon tabakasında meydana gelen incelmeyen önümüzdeki 50 yıl içinde her yıl yaklaşık %0,3-1 oranında artmaya devam edeceği ileri sürülmektedir (Chameides *et al.* 1994). Yukarıdaki öngörüler geçmiş yıllarda yapıldığı için günümüzde farklı iklim senaryoları da mevcuttur. Dünya Meteoroloji Organizasyonu (WMO)'nun 2010 yılı raporuna göre ozon miktarında artış olacağına bildirilmesine rağmen, Petkov *et al.* (2014) yeryüzüne ulaşan UV-B ışınları ile ilgili tahminleri yaparken çok dikkatli olunması gerektiğini vurgulamaktadırlar. Çünkü ilgili bilim insanları Avrupa'da 34 farklı meteoroloji

istasyonlarından aldıkları 2011 yılına ait verilere göre ozon tabakasında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, Eyring *et al.* (2007) 1990'lı yılların aksine günümüzde ozon miktarının artacağına dair sinyaller olduğunu bildirmektedirler.

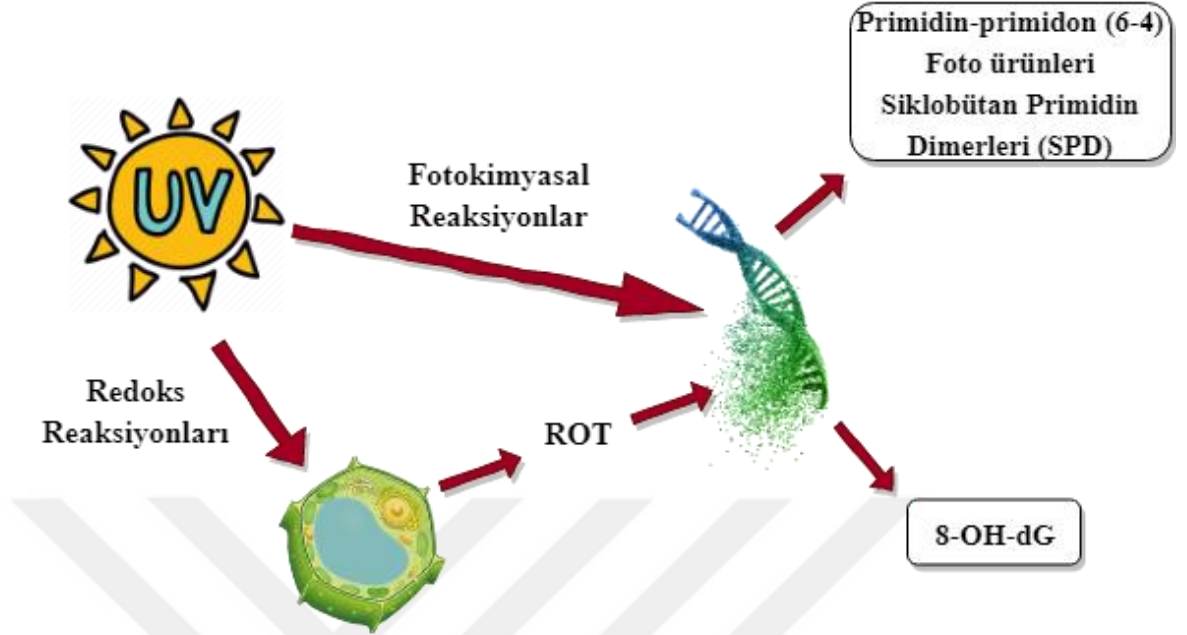
UV-B ışınlarının önemli bir özelliği, yüksek enerjileri nedeniyle hürelere zarar verme potansiyeline sahip olmalarıdır. UV-B'nin bitkiler üzerindeki genel etkileri; büyüme, gelişme, morfoloji (epidermal hücreler, palizat parankiması ve bekçi hücreleri) ve fotosentezdeki değişiklikler ile DNA, protein ve membran hasarlarını içermektedir (Correia *et al.* 1999; An *et al.* 2000; Láposi *et al.* 2009; Zu *et al.* 2010). UV-B radyasyonu bitkilerin genetik materyal ve hücre membranlarında zarara sebep olmakta ve bunun sonucu olarak hücrede pek çok metabolik süreci de etkilemektedir (Láposi *et al.* 2009). UV-B ışınları, nükleik asitlerin, amino asitlerin, proteinlerin ve enzimlerin yapısını bozmaktadır (Hightower *et al.* 1994) (Şekil 1.1).

UV-B stresi sonucu hücrede fazla biriken reaktif oksijen türleri (ROT) DNA, RNA, proteinler ve membran lipitleride dâhil olmak üzere çeşitli hücresel yapılara zarar vererek metabolizmanın bozulmasına neden olurlar. ROT'lar bitkilerde redoks sinyal iletim yolunda sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır. Fazla ışığa maruz kalan bitkide, içsel CO₂ seviyesinin azaldığı ve devamında oksidatif stres sonucunda ROT'ların oluştuğu bildirilmektedir. ROT'lar bitki gen ifadesinde ve genetik ürün düzenlenmesinde çok yönlü rollere sahiptir (Foyer and Noctor 2009).



Şekil 1.1. UV-B radyasyonunun etkileri (*F/S: Fotosentez/Solunum) (Dahlback 2002)

UV-B ışınlarının etkilediği en önemli hedeflerden birisi de DNA'dır. UV-B doğrudan primidin-primidon (6-4) ve siklobütan T-T dimerleri gibi fotokimyasal ürünlerin oluşumuna ya da ROT'lar aracılığıyla 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG) oluşumuyla dolaylı olarak DNA'da lezyonlara neden olmaktadır (Saccà and Izzotti 2014) (Şekil 1.2). Ayrıca sitozinin bünyesine su alarak hidrasyonuna neden olmakta ve DNA çift sarmal yapısındaki şeker-fosfat bağlarını parçalamaktadır. Bütün bu zararların sonucunda, DNA'nın yapısı korunmazsa ve foto-lezyonlar onarılmazsa transkripsiyon ve replikasyon durmaktadır. Koruyucu pigmentler vasıtasıyla UV-B hasarının önlenmesinin yanı sıra, bitkilerde DNA bütünlüğü enzimatik olarak da onarılabilir (Riquelme *et al.* 2007; Singh *et al.* 2012).



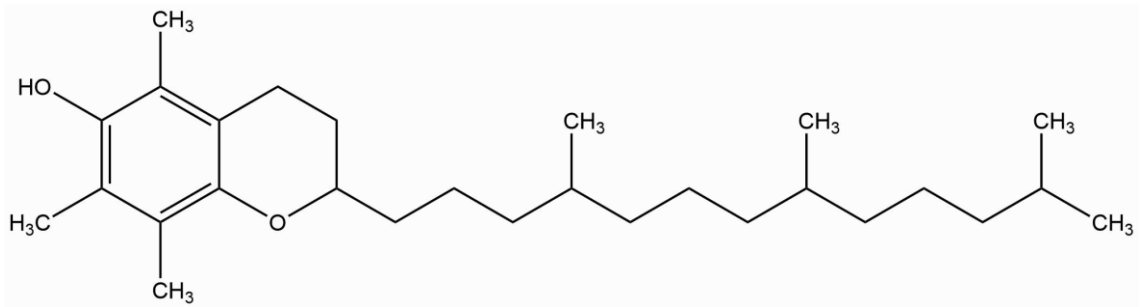
Şekil 1.2. UV-B ışınlarının DNA üzerindeki doğrudan ve dolaylı etkisi (Saccà and Izzotti 2014).

UV-B radyasyonu, lipid peroksidasyonu ile membran yapısını bozmaktadır ve engellenen membran transportu da fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkilemektedir (Hightower *et al.* 1994; Allen *et al.* 1998). Tilakoid membranının hasar görmesi fotosentezde önemli bir düşüşe ve özellikle tarım ürünlerinin veriminde azalmaya sebep olmaktadır (Büyük vd 2012).

UV-B ışınlarına maruz kalmanın, yüksek bitkilerde pek çok cevabın oluşmasına yol açtığı bildirilmektedir. Oksidatif stres altında bitkiler hayatta kalabilmek ve stresle başa çıkabilmek için ROT'ların temizlenmesinde çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar görev almaktadır. Bu antioksidanlar yağların oksidasyonunu yavaşlatan maddelerdir. Devam eden canlı bünyesindeki kimyasal oluşumların özellikle de stres koşullarında serbest radikallerin kontrolsüz ve etkisiz bir biçimde çoğalmasına ve bunun sonucunda da oksitlenmelere neden olmaktadır. Yüksek seviyede ROT'lar değişik moleküllerle reaksiyona girmekte ve hücreye bu nedenle de canlıya önemli derecede zarar vermektedir. Bu durumda serbest radikallerle bağ kuran antioksidanlar savunma

mekanizması olarak görev yapar ve hücrenin, yani canlının zarar görmesini engellerler (Mackerness *et al.* 2001).

Nispeten düşük konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicisi olarak görülen vitaminler; birçok fizyolojik süreçte etki mekanizmasına sahip olmalarının yanı sıra enzimlerin sentezi, koenzimlerin aktivasyonu, bitki büyümesi ve gelişmesi gibi süreçlerde de önemli role sahiptir (Reda *et al.* 2005; Nahed *et al.* 2009). Vitaminlerin temel görevleri membrandaki fosfolipitlerin peroksidasyonunu ve hücre membranının hasar görmesini engellemektedir. Lipofilik özelliği sayesinde E vitamini hücre membranı içerisinde yer alır. Özellikle doğada en çok bulunan E vitamini α -, β -, δ -, γ - tokoferoller ve α , β , γ , δ -tokotrienoller gibi 8 farklı izomerik yapıda bulunmaktadır. Söz konusu vitamin, fotosistem II evresinde elektronların taşınmasına yardımcı bulunmasının yanı sıra fenolik hidroksil grubu bulunduran aromatik halka sayesinde yapısal olarak güçlü bir antioksidan özelliğe sahiptir (Şekil 1.2) (Baskin and Salem 1997; Soltani *et al.* 2012). Tokoferoller 50-100 mg/l konsantrasyon aralığında maksimum antioksidan etki gösterirler. Antioksidan etkisiyle α -tokoferol, kolayca oksitlenen farklı bileşiklerin oksidasyona uğramasına engel olmaktadır (Baysal 1990). Aynı zamanda hücre içerisinde bulunan ve yağda çözünebilir vitaminler sınıfında yer alan α -tokoferol, diğer enzimler gibi kofaktör olarak görev yapmamaktadır.



Şekil 1.3. α -tokoferolün kimyasal yapısı (Engin 2009)

Lipofilik özelliği sayesinde hücre membranı içerisinde yer alan α -tokoferol membrandaki fosfolipitlerin peroksidasyonunu ve hücre membranının hasar görmesini engellemektedir (Gey *et al.* 1991; McNeil *et al.* 2004). α -tokoferol hücre membranında

yer alan ROT'ları ve membran fosfolipitlerinde bulunan doymamış çoklu yağ asitlerinin zararlı etkisini önleyen koruyucu bir rol üstlenmiştir. α - tokoferol stres durumunda oluşan lipid peroksil radikallerini yok ederek lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktadır (Baysal 1990).

Tokoferoller bitki büyümesi ve gelişmesi, lipid peroksidasyonunun önlenmesi, yaşlanma, abiyotik ve biyotik sinyalleri iletmek ve sinyalleri katlayarak etkileşimi artırmak gibi farklı fizyolojik olaylarda rol oynamaktadır (Sattler *et al.* 2004).

Hızla artan dünya nüfusunun beslenme sorunlarının giderilmesinde, günümüzde azalan tarım alanlarında yapılan bitkisel üretimdeki kalite ve verim istikrarının artırılarak korunması büyük önem taşımaktadır. İklimde ortaya çıkan değişmelerde düşünüldüğünde istikrarlı, yüksek verimli, kurağa, yatmaya, zararlı ve hastalıklara dayanıklı ve bunun yanında da kaliteli buğday çeşitlerinin geliştirilmesi ıslah çalışmalarının en önemli amaçlarından biridir (Kaya 2006). Bitki ıslahı çalışmalarında günümüzde yaygın olarak kullanılan modern tekniklerden biri de bitki doku kültürüdür.

Bitki doku kültürü, kısaca bitkilerin steril koşullarda yapay besi ortamlarında geliştirilmesi işlemidir. Doku kültürü tekniklerinden yararlanılarak, bitkiden alınan herhangi bir parça (eksplant) ile kısa sürede bitkinin istenen kısımlarının veya tüm bir bitkinin çoğaltımı mümkündür. Ayrıca, *in vitro* şartlarda ağır metal, patojenlere, yüksek sıcaklığa, tuzluluğa vb. dayanıklı veya toleranslı hücre seçimleri yapılabilmektedir. Bitki hücrelerinde *in vitro* kültürü ile uygun ortamlar hazırlanarak doku ve organlar üzerinde istenilen karakterler belirlenip, yeni bitki eldesi sağlanmaktadır. Bu teknik ile aynı zamanda, arzulanan fenotipik büyümelerin ve selektif ajanların kullanılmasıyla da istenilen toleransın uyarılması sağlanmaktadır. (Babaoğlu *et al.* 2001).

In vitro kültürde genellikle kullanılan selektif ajanlar arasında NaCl (tuz toleransı için), PEG (Polietilen glikol) veya mannitol (kuraklık toleransı için), mantar kültür filtratı veya fitotoksin (hastalık direnci) yer almaktadır. Eksplantlar kültür ortamına eklenen bu seçici ajanların geniş yelpazeli etkisine maruz bırakılmaktadır. *In vitro* seleksiyon bitki

gelişimi sırasında UV, kuraklık, yüksek tuzluluk ve hastalık gibi biyotik ve abiyotik strese toleranslı bitki genotipi elde etmek için kullanılan bir tekniktir. Ayrıca, bitkilerin bu yolla daha iri meyve büyüklüğü, yüksek verim ve daha lezzetli bir tat gibi arzu edilen karakterlere ulaşması sağlanabilmektedir. Strese dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi için geleneksel ve teknik özelliklere sahip doğal bir mekanizmadır. Bitki hücrelerinin *in vitro* kültürü, seçici maddeler içeren bir ortam üzerindeki dokular veya organlar, arzu edilen özelliklere sahip bitkilerin seçilmesi ve yenilenmesi için olanak sağlamaktadır (Rai *et al.* 2011).

Dünyada ve Türkiye’de yetiştiriciliği en fazla yapılan buğday bitkisinde *in vitro* şartlardaki çalışmalarda önemli bir aşama olan kallus kültürü için eksplant kaynağı olarak sürgün ucu, mezokotil, yaprak segmentleri, apikal meristemler, olgunlaşmamış çiçek durumu, anterler, olgunlaşmamış embriyolar, tohumlar ve olgun embriyoların eksplant olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Yurkova *et al.* 1982; Mendoza and Kaeppler 2002; Patnaik and Khurana 2003; Haliloglu and Baenziger 2005; Aydın *et al.* 2011).

Buğdayda en fazla kullanılan eksplant olan olgunlaşmamış embriyoların en önemli sorunu donör bitkiden yalnızca belirli dönemde temin edilişi ve kışlık olan çeşitlerde vernalizasyon ihtiyacının giderilmesi için kontrollü koşullara ve seralara ihtiyaç duyulmasıdır. Bu şartlarda da daha uzun bir zamana ve daha fazla finans gücüne ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kadar fazla soruna rağmen, olgun embriyoların kaynağı olan tohumların kolay temin edilebilmesi ve yine kolay depolanabilmesi yıl içerisinde her dönemde çalışma imkânı sağlamaktadır. Endosperm destekli olgun embriyolar, tohumdan direkt olarak elde edilen olgun embriyolar ve ince embriyo parçaları bitki rejenerasyonu bakımından daha iyi sonuç verdiği bildirilmektedir (Aydın *et al.* 2011).

Ozon tabakasındaki incelme senaryolarının incelenmesi ve radyasyon değişikliklerinin biyolojik sonuçlarını değerlendirmek insanlığın geleceği için oldukça önemlidir. Bu amaçla, UV-B radyasyonu, yapay UV-B kaynakları ile bitki materyaline plastik torbalarda, büyüme odalarında veya seralarda uygulanarak araştırmalar

yürütülebilmektedir. Bu çalışmada ise Kırık buğday çeşidinin olgun embriyo kültüründe *in vitro* şartlarda UV-B stresinin bitkideki olumsuz etkileri incelenmiş ve meydana gelen olumsuz etkilerin ortadan kaldırılabilmesi için α - tokoferol uygulamasının etkileri belirlenmeye çalışılarak α - tokoferolün UV-B stresine toleransta rolü açıklanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya nüfusunun hızla artması ile birlikte küresel gıda ihtiyacı da sürekli artmaktadır. 2019 yılında yaklaşık 7,8 milyar olan dünya nüfusunun 2050 yılında 9,7 milyara çıkacağı tahmin edilmektedir. Artan dünya nüfusunun beslenme ve gıda ihtiyacını karşılayabilmek için tarımsal üretim girdilerinin 2050 yılına kadar %70 oranında artırılması gerekmektedir (Saygılı vd 2018).

Buğday, günümüzde insanların beslenme ve gıda ihtiyaçlarının giderilmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında dünyada en çok ekilen ve tüketilen tahıldır. İnsanların günlük enerji ihtiyaçlarının yarısına yakını buğday karşılamaktadır. Yapılan çalışmalar gelecek 20-30 yıl boyunca bu durumun benzer şekilde devam edeceğini öngörmektedir (Atar 2017).

Yüksek ürün kalitesi ve verim günümüz tarımının öncelikli hedefidir. Ancak, bitkisel üretimi etkileyen biyotik ve abiyotik stres faktörleri ürünlerin verim ve kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Abiyotik etkilerin hangi düzeylerde stres olarak kabul edileceği türler arasında değişiklik göstermesi nedeniyle söz konusu stres kavramının tanımlanmasında zorluklar yaşanmaktadır. Levitt (1981), stres kavramını herhangi bir nesneye uygulanan kuvvet, nesnenin boyutlarında oluşan değişimi ise gerilim olarak tanımlamış ve bu değişimin stres kaynaklı olduğunu öne sürmüştür. Bu tanımlardan yola çıkarak ekolojik stres; bitkilerin doğal yaşam alanları içerisinde büyüme durumlarında değişiklik meydana getiren, metabolik yapılarını değiştiren veya bozan bir etki olarak tanımlanmıştır (Korkmaz ve Durmaz 2017). Abiyotik stresler, tarım için ciddi tehditlerdir ve bitkilerde ortalama %50'den daha fazla verim ve kalite kaybına neden olduğu düşünülmektedir (Wang *et al.* 2003).

Güneş enerjisi gezegendeki yaşam için çok önemlidir. UV-B ışınları yeryüzüne ulaşan en kısa dalga boylu güneş ışını spektrumunun bir kısmıdır. Atmosferdeki ozon miktarı dünyaya ulaşan UV-B miktarını belirlemektedir. Bu ozon miktarı çeşitli sebepler ve

insan aktiviteleri sonucu redüksiyona uğramaktadır. Bunun sonucunda da ozon tabakası gittikçe artan bir hasara uğramaktadır (Soheila 2000).

İnsan aktiviteleri, atmosferik kirlenme gibi birçok etmen sonucu stratosferik ozon tabakasında meydana gelen olumsuz değişimler güneş ışınlarının istenmeyen etkilerinin artmasına yol açmaktadır. Bu değişimler sonucu meydana gelen abiyotik stres faktörlerinden biri de UV-B stresidir. UV-B ışınlarının neden olduğu fotooksidatif etki, biyomembran lezyonu, protoplazma proteinlerinin disülfid bağlarının yıkımı gibi önemli zararlara örnek olarak gösterilmektedir. Tevini (1994) ise UV-B radyasyonunun, çeşitli mono ve polikromatik etki spektrumlarına bağlı olarak, organizmaların DNA ve fizyolojik süreçleri üzerinde zararlı etkilere neden olduğunu bildirmiştir.

UV-B radyasyonu bitkilerde özellikle, DNA'ya, protein yapısına ve membranlara zarar verip fotosentezi, terlemeyi, büyümeyi ve gelişmeyi bozmaktadır (Jansen *et al.* 1998; Frohnmeyer and Staiger 2003). Ayrıca UV-B spesifik morfogenez tepkileri indüklemektedir (Jansen 2002). Tipik tepkiler arasında büyüme inhibisyonu (azalan gövde ve yaprak uzaması) ve büyüme aktivasyonu (artan yaprak kalınlaşması ve aksiller dallanma) bulunmaktadır. Doğal gün ışığı koşulları altında, düşük bir UV-B dozu *Arabidopsis*'te kök dallanmasını uyarırken, daha yüksek bir UV-B dozunun dallanmayı önlediği Brodführer (1955) tarafından belirtilmiştir. Yine, Kakani *et al.* (2003), pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) bitkisinde UV-B radyasyonunun yapraklar üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bitkiler ortaya çıktıktan sonra 8 saat boyunca UV-B ışınması uygulamışlardır. Sonuçlara göre, ilk olarak yapraklarda sararma gözlemlenmiş ve devam eden UV-B ışınması sonucu nekrotik lekelerin oluştuğu rapor edilmiştir. UV-B'nin yaprak kalınlığında azalmaya neden olduğu ve hem bitkisel hem de üreme parametrelerini düşürdüğü gözlemlenmiştir.

Barnes *et al.* (1990), ekmeçlik buğday ve yulaf (*Avena sativa*) üzerinde UV-B radyasyonunun etkilerini değerlendirmişler ve araştırma sonucunda UV-B radyasyonuna bağlı olarak sürgün uzunluğunun azaldığını buna karşın kardeşlenmenin arttığını rapor etmişlerdir.

Al-Oudat *et al.* (1998), tarla koşullarında UV-B'nin kuraklığa dayanıklı buğday (*Triticum durum*) ve bakla (*Vicia faba* L.) üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Her iki tür üzerinde de çimlenmeden hasata kadar %10'luk bir ozon azalmasını teşkil eden UV-B'nin %20'si kadar bir günlük UV-B dozu uygulamışlardır. Her iki türünde bitki boyu, sürgün sayısı, kuru kütle ve yaprak alanı vejetatif büyüme aşamalarında UV-B ışımaya olumlu tepki gösterdiğini belirtmişlerdir. Hasat sırasında bakladaki tohum kütlesi UV-B'ye maruz bırakılmayan bitkilerle eşit olduğu, buğdayda ise hububat kütlesinde önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

Correia *et al.* (1999), yüksek seviyede UV-B radyasyonuna maruz kalan *Triticum aestivum* L.'nin yaprak alanının, fotosentez ve transpirasyon oranlarının ve su kullanım etkinliğinin azaldığını ve buna bağlı olarak bitki biyokütlesinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, UV-B absorbe eden pigmentlerin birikiminde belirgin bir değişiklik olmadığını ifade etmişlerdir.

Agrawal and Rathore (2007), ekmeklik buğday'da yaptıkları çalışmada UV-B ışımaya bağlı olarak biyoküttele ve fotosentetik pigmentlerde azalma olduğu, ayrıca mineral besinlerin uygulanması (N, P ve K) UV-B'nin olumsuz etkisini hafifleterek buğdayda pozitif bir etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Zu *et al.* (2010) ise UV-B radyasyonunun sebep olduğu pigment miktarlarındaki değişimi ve tilakoid membranlardaki bozulmayı *klorofil a/b* oranındaki artışa bağlamıştır. Diğer taraftan An *et al.* (2000) ekmeklik buğdayda, UV-B radyasyonu nedeniyle fosfolipid içeriğinde önemli bir düşüş ve membran viskozitesinde artış olduğunu saptamışlardır.

Zlatev *et al.* (2012), stratosferik ozon azalmasına bağlı olarak artan UV-B radyasyonunun bitkiler üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, artan UV-B radyasyonuna bağlı olarak bitkilerde DNA hasarı, membran değişimi ve protein denatürasyonunun arttığı, fotosentezin etkilendiği ve çeşitli fizyolojik proseslerin bozulduğunu belirlemişlerdir. Yine UV-B artışına bağlı olarak bitki büyümesi, gelişimi ve morfolojisinin değiştiği, özellikle duyarlı tarım bitkilerinde ürün veriminin azaldığı rapor edilmiştir.

Tropikal bölgeler, özellikle UV-B olmak üzere en yüksek UV radyasyonuna sahip bölgelerdir. Bu bölgelerde günlük UV-B radyasyonunun günlük ortalama dozu 10 kJ m^{-2} dir. Bu doz birçok Avrupa ülkesinin günlük ortalama UV-B radyasyonundan yaklaşık %50 daha fazladır. Hindistan’da doğal UV-B ışınmasını uzaklaştırmak için seçici filtrelerin kullanıldığı bir saha çalışmasında, araştırma materyali olarak Guar fasülyesi (*Cyamopsis tetragonoloba*), siyah mercimek (*Vigna munda*) ve maş fasülyesi (*Vigna radiata*) kullanılmış ve doğal UV-B radyasyonunun engellenmesi ile fide yüksekliği, yaprak alanı ve mahsul veriminin %50 oranında arttığı rapor edilmiştir (Amudha *et al.* 2005).

Düşük seviyelerde UV-B radyasyonunun neden olduğu morfogjenik tepkilerin, mekanik strese maruz kalan bitkilerde gözlenen tepkilere benzer olduğu rapor edilmiştir. Tipik olarak mekanik strese maruz kalan bitkilerin daha kısa ve dallı olmalarının yanı sıra, kök ağırlıklarının da değiştiği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Anten *et al.* 2005, Liu *et al.* 2006). Furness and Upadhyaya (2002), yabancı ot türlerinin UV-B radyasyonuna karşı farklı morfolojik duyarlılıkları, UV-B’nin seviyesindeki değişikliklerin yabancı otlar ve ilişkili mahsul türleri arasındaki rekabet ilişkilerini değiştirebileceğini öne sürmüşlerdir. Çalışmada yaygın olarak bilinen kuş otu (*Stellaria media*), kirpi darı (*Setaria viridis*), söğüt otu (*Polygonum persicaria*), kazayağı (*Chenopodium album*), kaba tüylü solmaz çiçek (*Amaranthus retroflexus*) ve çoban çantası (*Capsella bursa-pastoris*) yabancı ot türleri fide döneminde 6 hafta boyunca bir sera içerisinde UV-B ışınması ($0,7$ ve $11 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) altında büyütülerek gelişimlerini gözlemlemişlerdir. UV-B radyasyonunun fide büyümesi ve morfolojisi üzerine etkilerini belirleyerek, UV-B radyasyonunun kirpi darısı (*Setaria viridis*), kaba tüylü solmaz çiçek (*Amaranthus retroflexus*) ve kazayağı (*Chenopodium album*)’nda sürgün yüksekliğini düşürdüğünü, ek olarak kirpi darısı (*Setaria viridis*)’nda kardeşlenmeyi artırdığını gözlemlemişlerdir. Araştırmada, kuş otu (*Stellaria media*), kirpi darı (*Setaria viridis*), kazayağı (*Chenopodium album*) ve çobançantası (*Capsella bursa-pastoris*)’nda yaprak yüzeyi ile yaprak ve sap ağırlığının UV-B radyasyonuna bağlı olarak düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Söğüt otu (*Polygonum persicaria*)’nun ise UV-B radyasyonundan etkilenmediğini gözlemlemişlerdir.

UV-B stresi doğal ortamlarda tuz, kuraklık, susuzluk, patojen, ağır metal gibi diğer stres şartlarıyla birlikte yer almaktadır (Baumbusch *et al.* 1998). Yapılan çalışmalar birçok stres faktörlerinin birbirini etkilediğini ortaya koymuştur. Yakın zamanda UV-B ile susuzluk stresi arasında bir etkileşimin olduğu bulunmuştur. Alexieva *et al.* (2001), ekmeçlik buğday ve bezelye (*Pisum sativum* L.) üzerinde yaptıkları çalışmada UV-B ve susuzluk arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. UV-B radyasyonu uygulandıktan sonra yapraklardaki su miktarında bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durumun farklı değişimleri uyardığını ve antosiyanin ile fenollerde meydana gelen artışların UV-B uygulamasından sonra ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Ölçülen parametrelere göre, UV-B stresinin bu iki bitkinin gelişiminde susuzluktan daha etkili bir stres tipi olduğunu rapor etmişlerdir.

Bowler and Fluhr (2000), *Arabidopsis* bitkisinin *Pseudomonas syringae* zararlısına maruz bırakıldığında öldüğünü, UV-B radyasyonu uygulandıktan sonra zararlı ile karşılaştığında yaşamını devam ettirdiğini kanıtlamışlardır.

Soya fasulyesinin polen ve çiçeklerinde sıcaklık ve UV-B stresinin ayrı ayrı veya birlikte ölümcül etki yarattığı Caldwell *et al.* (2007) tarafından belirlenmiştir. Tek başına CO₂ miktarının artırılması önemsiz değişikliklere neden olurken, yüksek miktarlarda UV-B ve CO₂ uygulandığında polen üretimi, üremesi ve morfolojisi büyük ölçüde etkilenmiştir (Caldwell *et al.* 2007). UV-B stresi ve sıcaklık stresi arasında mevcut negatif bir ilişkinin söz konusu olduğu belirlenmiştir (Mittler 2006). Diğer taraftan, UV-B ışınması öncesinde başka bir abiyotik etkiyle ön uygulama yapıldığında UV-B radyasyonunda bitki performansının arttığı bildirilmiştir (Fedina *et al.* 2006; Çakırlar *et al.* 2008).

Yeryüzüne ulaşan UV-B seviyesinin artış göstermesi ile bitkilerin UV-B stresine karşı gösterdikleri tepkide değişmiş ya da artan antioksidan yollarının uyarımı da dâhil olduğu birçok stres reaksiyonunun meydana geldiği kanıtlanmıştır. Smith *et al.* (2001) *Phaseolus vulgaris* L. üzerinde yaptıkları çalışmalarında poliaminlerin UV-B ışınması boyunca arttığını belirlemişlerdir. Çalışma boyunca 2 haftalık sürelerde *Phaseolus*

vulgaris L.'e UV-B uygulanmış ve putresindeki düşüşten dolayı UV-B stresine cevap olarak total serbest poliaminlerin önemli bir azalış sergilediği gözlemlenmiştir. Diğer taraftan, Demorrow and Henry (1978), *Pisum sativum* fidelerine karanlık ve aydınlık şartlarda UV stresinin polifenol oksidazın (PPO) dört değişik substratı üzerine etkisini incelemişler ve UV stresinin PPO aktivitesi üzerinde herhangi bir etki yapmadığını tespit etmişlerdir. Singh *et al.* (2014) fasülyede UV-B stresi altında süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT) enzimlerinin indüklendiğini ve fasülye yaprak proteomunda büyük değişiklikler olduğunu SDS-PAGE analizi ile belirlemişlerdir.

Manaf *et al.* (2016), çalışmalarında *Echinacea purpurea* bitkisinin kallus ve süspansiyon kültürlerinde UV-B radyasyonunun bazı biyokimyasal değişiklikler ve büyüme parametreleri üzerine olan etkisini incelemişlerdir. UV-B, kallus ve hücre süspansiyonunda tüm büyüme parametrelerinin ve antioksidan aktivitesinin inkübasyon süresine bağlı olarak artmasına, hücre süspansiyonunda ise kafeik asit türevlerinin artış göstermesine neden olduğu bildirilmiştir.

Su eksikliği ve UV-B radyasyonunun arpada oluşturduğu stres üzerine yapılan bir araştırmada (Bandurska *et al.* 2012), stres etmenlerinin kuru madde ağırlığını azalttığı, prolin miktarını artırdığı, tek başına UV-B'nin kuru madde içeriğini ve prolin miktarını değiştirmedeği gözlenmiştir.

Kakani *et al.* (2003) UV-B'nin spesifik olarak DNA'ya, proteinlere ve lipitlere zarar verdiğini ayrıca kloroplastların fonksiyonunu bozduğunu, bitki biyokütlesini, fotosentezi ve protein sentezini azalttığını öne sürmüşlerdir. Taylor *et al.* (1996), ekmeklik buğdayda yaptıkları çalışmada bitkiye UV-B stresi uygulamışlar ve Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) tekniği ile DNA'da oluşan lezyonları tespit etmişlerdir. UV-B kaynaklı gen ifadesindeki gözlemlenen değişikliklerin buğday yaprak genomunda oluşan foto ürünlerle DNA lezyonlarının ortaya çıkmasına birlikte neden olduğunu bildirmişlerdir. Singh *et al.* (2014), fasülyede (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pusa Komal) RAPD tekniğini kullanarak UV-B stresi altındaki bitkilerin genomik DNA

profillerini çıkarmışlar ve genomik kararlılık stabilitesinde önemli derecede bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Stres altındaki bitkiler üzerinde çalışma yapılmasının iki önemli sebebi vardır. Birincisi bitkilerin strese karşı direnç mekanizmasının öğrenilmesi, ikincisi ise tarımsal alanlarda stres altında bulunan bitkilerin söz konusu streslere dayanma yeteneklerinin ölçülmesi ve dolayısıyla daha verimli ürün elde edilmesidir. Bu anlamda doku kültürü uygulamalarıyla *in vitro* şartlarda abiyotik stres faktörlerine toleranslı hücre seçimi yapılabilmektedir.

Doku kültürü tekniği günümüzde strese toleranslı bitkiler geliştirmek için uygun ve düşük maliyetli bir alternatif yöntem olarak kullanılmaktadır. Bu teknik sınırlı alan ve zamanda kontrollü koşullarda çalışılabilir ve düşük maliyette, hızlı ve güvenilir bir şekilde strese toleranslı varyantların seleksiyonunda kullanılabilir (Sakhanokho and Kelley 2009). Her ne kadar *in vitro* seçimler, bitkilerin verimini artırmak ve strese toleranslı bitkiler yetiştirmek için zaman kazandıracak olsa da, Jain (2001)'in de önerdiği gibi arzu edilen karakterler ve genetik stabiliteyi korumak için bu bitkilerin tarla koşullarında test edilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Gregianini *et al.* (2003), *Psychotria brachycerus* bitkisine günde 4 veya 16 saat UV radyasyonu uygulayıp besi ortamında inkübe ettikleri çalışmada, kontrol grubu bitkilerde 16 saatlik UV-C ışımalarının ardından brakiserin içeriğinde 10 kat artış, 4 saatlik UV-C uygulamasında ise yapraklarda bulunan alkaloidlerin miktarında 2 kat artış olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda UV-B uygulamasının alkaloid miktarında 2 katlık bir artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Antognoni *et al.* (2007), UV-B radyasyonunun *Passiflora quadrangularis* kallus kültürlerinde flavonoid üretimine etkisini inceledikleri çalışmada, UV-B radyasyonunun kalluslarda glikozil flavonoid üretimini artırdığını belirtmişlerdir. Kültürlerin 7 gün UV-B ışığına maruz kalmasından sonra, izoorentin üretiminin serada yetiştirilen bitkilerin taze yapraklarında bulunanlara benzer konsantrasyonlarda olduğu rapor edilmiştir.

Flavonoid üretiminin en fazla arttığı UV-B uygulanan kallus kültürleri, UV-B uygulanmayanlara kıyasla %28 ila %76 arasında değişen bir artışla daha yüksek bir antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Namli *et al.* (2009), doku kültürü tekniğini kullanarak Kantaron (*Hypericum triquetrifolium*)'da hiperisin içeriğini arttırmak için UV-C radyasyonunun etkilerini inceledikleri çalışmada, tohumlar *in vitro* şartlar altında MS ortamı üzerinde çimlendirilmiş ve oluşan sürgünleri 0,25 mg/L BA ilave edilen MS besi ortamına aktararak çoğaltmışlardır. UV-C radyasyonu farklı sürelerde bitkiye uygulanmıştır. 15 dakikalık uygulama hiperisin miktarını artırırken, 60 dakikalık UV-C uygulamasının hiperisin miktarını azalttığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar ek olarak UV-C radyasyonunun farklı parametrelerde uygulanmasına bağlı olarak sürgünlerde morfolojik değişikliklerin meydana geldiğini bildirmişlerdir.

ROT'lar yüksek oranda reaktif ve kısmen indirgenmiş oksijen formlarını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Kuraklık, tuzluluk, UV radyasyonu, ağır metaller gibi çevresel streslerin etkisi nedeniyle mitokondri, kloroplast, peroksizomlar, endoplazmik retikulum, sitoplazma ve hücre zarı dâhil birçok organelde üretilmektedirler (Desikan *et al.* 2005). ROT'lar bitki bünyesinde sinyal molekülü olarak görev almaktadırlar. Ancak, stres koşullarında ROT'ların aşırı üretimi DNA, protein ve membran lipidlerine zarar vermektedir (Silva *et al.* 2010). ROT üretimi artışı stresin süresine, şiddetine ve bitkinin tolerans seviyesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Miller *et al.* 2010). Bu durumda serbest radikallerle bağ kuran antioksidanlar savunma mekanizması olarak görev yapar ve hücrenin zarar görmesini engellerler (Shahidi 1997).

ROT'ların zararlı etkisi, hücrelerde bulunan antioksidan savunma sistemlerinin etkinliklerine bağlıdır. Antioksidan savunma, oksidatif hasarı onarmak, tehlikeli molekülleri uzaklaştırmak ve ROT gibi serbest radikal oluşumları engellemek gibi birkaç basamakta gerçekleşir (Lepeduš *et al.* 2011). Hücrelerin antioksidan savunma sistemleri birçok antioksidan molekülü kapsar. Bu antioksidan moleküllerden biri olan α -tokoferol, membranlarda ROT ve yağ radikallerini temizleyen faydalı lipofil

antioksidan sınıfında yer alan bir bileşendir. E vitaminleri arasında yer alan dört (α -, β -, δ -, γ -) farklı izomer içerisinde antioksidan etkisi en yüksek olan α -tokoferol'dür. Tokoferoller bilinen yapısal ve işlevsel iki yeteneğe sahiptirler. Kloroplastlardaki yağlar ve membran bileşenlerini, serbest oksijen ve su stresine karşı korur. Stres şartlarına bağlı olarak oluşan fazla enerjiye karşıda fotosistemII sistemini korumaktadır. Ayrıca LPO döngüsünde kararsız zincir çoğalmasını engellemekte ve etkin serbest radikalleri de tokoferoller yakalamaktadır (Das and Roychoudhury 2014).

Fotosentetik sistemde önemli rol oynayan tokoferollerin plastid membranlarında abiyotik stresle birlikte içeriğinin arttığı görülmüştür. Stres derecesi ile tokoferol yoğunluğu arasında doğrusal bir ilişki bildirilmiştir (Baumbusch *et al.* 1998). O_2 ve ROT'lara karşı membranların kararlılığının korunmasında da tokoferollerin kritik öneme sahip olduğu rapor edilmiştir (Büyük vd 2012).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), toksik bir metabolit olmasına rağmen bitkilerde sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır. H_2O_2 oluşumu stres şartları altında artış göstermektedir. Neto *et al.* (2005), H_2O_2 'nin bitkilerde yüksek yoğunluklarda programlı hücre ölümlerine neden olduğunu, düşük yoğunluklarda ise çeşitli çevresel streslere karşı dayanıklılığı artıran sinyal molekülü olarak görev yaparak iki yönlü çalıştığını rapor etmişlerdir.

Bitkilerde UV-B stresi gibi etmenlerin tokoferol içeriği ile ilişkili olduğu Munne'-Bosch and Alegre (2002) tarafından bildirilmiştir. Farklı bileşiklerin etkisini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Carletti *et al.* (2003), UV-B stresine maruz bırakılan mısırda α -tokoferol'ün bu stres sonucunda oluşan ROT'ların üretimini azalttığını gözlemlemişlerdir. Yine başka bir çalışmada Hectors *et al.* (2014), *Arabidopsis*'te UV-B stresi uygulamışlar ve α -tokoferolün UV-B stresine cevapta rolü olduğunu ifade etmişlerdir.

Havaux *et al.* (2015), UV-C radyasyonu ile oluşturulan stres şartlarının bitkilerin α -tokoferol düzeylerindeki etkilerini incelemişler ve α -tokoferolün çoklu doymamış yağ

asitlerindeki zincir reaksiyonu ile lipid oksidasyon kaynaklı serbest radikal moleküllerini sonlandırma fonksiyonunun da olduğunu ve bu özelliğinin zincir kırıcı etkili bir antioksidan çeşidi olmasından kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Bu nedenle UV-C uygulaması altında artan α -tokoferol oranının, aynı zamanda deney materyalini stres şartlarından korunmasında etkili olduğu belirtilmiştir.

Soltani *et al.* (2012), pridoksin ve α -tokoferol'un bitki gelişimi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, tarla koşullarında *Calendula officinalis* L. bitkilerine farklı dozlarda (50 ve 100 ppm) α -tokoferol uygulayarak bitkilerin büyüme ve gelişme durumlarını incelemişler ve bitki gelişimi için 100 ppm α -tokoferol uygulamasını önermişlerdir. Yaprak alanı, *klorofil b*, kök ağırlığı, hiperoside ve indirgen şeker miktarlarının azaltılmasıyla da en yüksek tohum veriminin alınacağını rapor etmişlerdir.

Szarka *et al.* (2012), *Arabidopsis* bitkisinde askorbat, glutatyon ve α -tokoferol uygulamalarının bitkilerde abiyotik stres koşullarına karşı verdikleri tepkilerin sonucunda, bu üç uygulamanın da bitkilerde zararlanma oranını düşürdüğünü ve ROT oluşumunu engellediğini bildirmişlerdir.

El-Bassiouny *et al.* (2005) ve Abbasi *et al.* (2007), bakla bitkisinin yapraklarına spreylarıyla α -tokoferol uygulamışlar ve söz konusu bitkinin büyüme parametrelerinde, verim ve verim bileşenlerinde, *klorofil a*, *klorofil b* ve karotenoid içeriklerinde artış olduğunu bildirmişlerdir.

Delong and Steffen (1998), ıspanak tilakoid membranlarını UV-B stresine maruz bırakmışlar ve buna karşı α -tokoferol'un antioksidan koruma sağladığını gözlemlemişlerdir.

Jain *et al.* (2004), UV-B stresi altındaki hıyar tohumlarında, lipid radikalleriyle reaksiyona giren α -tokoferol ve antioksidan enzim seviyelerinde artış tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmada bitki materyali olarak Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilen Kırık ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi kullanılmıştır. Kırık, olgun embriyo kültürüne oldukça iyi cevap veren (Aydın *et al.* 2010) bir ekmeklik buğday çeşididir.

3.1.2. Kallus kültürü ortamlarında kullanılan kimyasallar

3.1.2.a. Temel besi ortamı

Kallus oluşumu ve somatik embriyogenez çalışmalarında Murashige and Skoog (1962) tuzları kullanılmıştır. MS ortamının içerdiği kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASAL BİLEŞİMİ	Miktarı (mg/l)
İnorganikler	
Makro elementler	
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂	332,2
MgSO ₄	180,7
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	
Na ₂ EDTA	37,26
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Organikler	
Glisin	2
Myo-inositol	100
Nikotonik asit	0,5
Pridoksin-HCl	0,5
Tiamin-HCl	0,1

3.1.2.b MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

MS tuzlarına ve vitaminlerine ilave olarak çalışmada kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı
MES hidrat	1,95 g/l
Fitajel	2 g/l
Sakkaroz	20 g/l
Dikamba (3,6-Dikolorobenzoik asit)	12 mg/l
IAA (İndol-3-Asetik Asit)	0,5 mg/l
TDZ (Tidiazuron)	0,5 mg/l

3.1.3. Bitki rejenerasyonu ortamında kullanılan kimyasallar

Bitki rejenerasyon çalışmalarında oksinsiz kallus oluşum ortamına ilave olarak 0,5 mg/l TDZ ilave edilmiştir.

3.1.4. UV-B stresi uygulama süresi ve UV-B stresine karşı kullanılan kimyasal ve konsantrasyonları

UV-B stresini oluşturmak için Philips Special 20W /Dar bant (311 nm) lamba ve UV-B stresine karşı α - tokoferol kullanılmıştır. Çalışmada uygulanan UV-B ışıma süreleri ve α - tokoferol konsantrasyonları Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Buğday olgun embriyo kültüründe uygulanan UV-B ışıma süreleri ve α - tokoferol konsantrasyonları

UV-B Işıma Süreleri	0 saat, 2 saat, 4 saat ve 6 saat
α- tokoferol Konsantrasyonları	0 mg/l, 50 mg/l ve 100 mg/l

3.2. Yöntem

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır.

3.2.1. Sterilizasyon yöntemleri

3.2.1.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu

Steril çalışma alanında kullanılan yüzeyler (steril kabin içi) kullanımdan en az 10–15 dakika önce %70’lik etil alkolle silinmiş ve UV lambası açılmıştır. Kültüre alma işlemi başlamadan önce UV lambası kapatılmıştır. Kullanılan aletler (bistüri, pens vb.) kullanımdan önce etil alkol içine batırıldıktan sonra alev lambasında alevle yüzey

sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Eksplantların kesimi alüminyum folyo içine sarılarak otoklav edilmiş 10 x 15 cm boyutlarındaki kurutma kâğıtları üzerinde yapılmıştır.

3.2.1.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu

Tohumlar musluk suyunda yıkandıktan sonra %70'lik EtOH'da 5 dakika karıştırılarak steril kabin içerisinde 3 defa steril saf suyla çalkalanıp daha sonra %1'lik NaOCl'de (%20'lik ticari çamaşır suyu) 35 dakika karıştırılmış ve 3 kez steril saf su ile durulanmıştır.

3.2.1.c. Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu

Besi ortamları 105 kPa basınçta 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sıcakta bozulan vitaminler ve bitki büyüme düzenleyicilerini sterilize etmek için 0,22 µm poroziteli selüloz nitrat filtreler (milipor®) kullanılmıştır.

3.2.1.d. Sterilizasyonda kullanılan solüsyonların hazırlanışı

%70'lik EtOH hazırlanışı: %96'lık etil alkolden 700 ml alınarak hacim saf su ile 960 ml'ye tamamlanmıştır.

%1'lik Sodyum hipoklorit solüsyonunun hazırlanışı: %5 NaOCl (sodyum hipoklorit) içeren ticari ACE® marka çamaşır suyundan 200 ml alınarak hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış, amber renkli şişeye doldurulmuş ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanması

3.2.2.a. Temel besi ortamı için stok solüsyonların hazırlanışı

MS makro (20X), mikro (100X) elementler ile demir şelat (100X) ve vitaminler (100X) için stok solüsyonlar hazırlanmıştır.

- MS makro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS makro elementler (20X) için stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

- a) Çizelge 3.1’de verilen, bir litrede bulunması gereken makro element miktarlarının 20’şer katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.
- b) 2 litrelik bir erlenmayer kabına yaklaşık olarak 700 ml saf su konulmuş içerisine manyetik balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan makro elementler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen makro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile bir litreye tamamlanmış ve amber şişeye doldurularak buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS mikro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS mikro elementler (100X) için stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

- a) Çizelge 3.1’de mikro elementler başlığında belirtilen $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ haricindeki diğer bileşiklerin 100’er katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.
- b) 2 litrelik bir erlenmayer kabına yaklaşık olarak 700 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan mikro elementler tek

tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen mikro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile bir litreye tamamlanmış ve amber şişeye doldurularak buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS demir şelat stok solüsyonunun hazırlanışı

MS demir şelat (100X) stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

- a) Çizelge 3.1'de mikro elementler başlığında belirtilen $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ miktarlarının 100 katı hassas terazide tartılmıştır.
- b) Yarım litrelik cam erlenmayer içerisine 300 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine oturtulmuş, ısıtıcı ve karıştırıcı açılmıştır. Tartılan 3,726 gram $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ilave edilmiş ve tamamen erimesi sağlanmıştır. Erime işlemi tamamlanır tamamlanmaz ısıtıcı kapatılmış karıştırma işlemi devam ederken hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 400 ml'ye tamamlanmıştır.
- c) Farklı cam bir erlenmayere 300 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine oturtulmuş, ısıtıcı ve karıştırıcı açılmıştır. Tartılan 2,78 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ilave edilmiş ve tamamen erimesi sağlanmıştır. Erime işlemi tamamlanır tamamlanmaz ısıtıcı kapatılmış karıştırma işlemi devam ederken hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 400 ml'ye tamamlanmıştır.
- d) Bu iki ayrı çözelti birleştirilerek toplam hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Bu birleştirme işleminden sonra açık sarı rengi alan stok amber şişeye doldurularak buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS vitamin stok solüsyonunun hazırlanışı

MS vitamin stok (100X) solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

- a) Çizelge 3.1’de organikler başlığında belirtilen bileşiklerin 100 katı tartılmıştır.
- b) Hacmi 1000 ml olan bir erlenmayere 700 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan vitaminler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen vitaminler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile 1000 ml’ye tamamlanmış ve amber şişeye doldurularak buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

3.2.2.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı

MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak çalışmada kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.4’de verilmiştir. Bu kimyasalların miktarı direkt tartılarak ortama eklenmiştir. Çalışmada kullanılan oksin hormonlarının stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.5’de ve sitokinin stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.4. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı
MES hidrat	1,95 g/l
Fitajel	2 g/l
Sakkaroz	20 g/l

Çizelge 3.5. Oksin stok solüsyonunun hazırlanışı

Oksin Tipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama Koşulu	Çalışma Konsantrasyonu
Dikamba	Su/etil alkol	Su	+4°C	1 mg/ml
IAA	Etil alkol	Su	-20°C	1 mg/ml

Çizelge 3.6. Sitokinin stok solüsyonunun hazırlanışı

Sitokinin Tipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama Koşulu	Çalışma Konsantrasyonu
TDZ	Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Su	+4°C	1 mg/ml

3.2.2.c. α -tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı

1 ml'de 5 mg α -tokoferol olacak şekilde absöüt alkolde hazırlanan stok solüsyondan gerekli miktarda alınmış ve saf su ile toplam hacim 50 ml'ye tamamlanmıştır. Deneme planına göre aşağıdaki miktarlarda sıcakta bozulan maddelerle birlikte filtre sterilizasyonu yapıldıktan sonra *in vitro* ortama eklenmiştir. Çalışmada kullanılan α -tokoferol stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. α -tokoferol stok solüsyonunun hazırlanışı

Kullanılan α -tokoferol (mg/l)	α -tokoferol stok solüsyon (5 mg/ml)
0	0
50	10
100	20

3.2.2.d. Kùltür ortamının hazırlanması

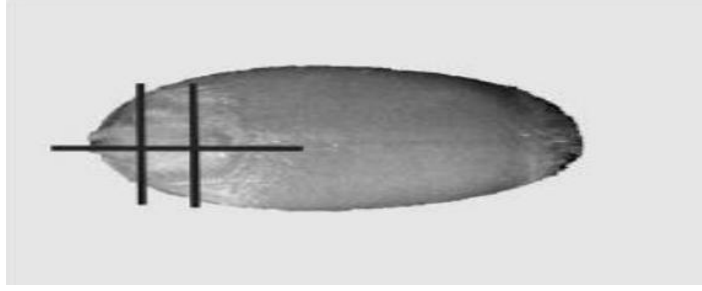
Aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanmıştır.

1. 1 lt'lik behere 600 ml bidistile su konulmuş ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılmaya başlanmıştır.
2. MS makro element stok solüsyonundan (20X) 50 ml, mikro element stok solüsyonundan ve demir şelattan (100X) 10'ar ml eklenmiştir.
3. Bunun üzerine 20 g sakkaroz ve 1,95 g MES tartılıp eklenmiş ve eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Hacim 950 ml tamamlanmış ve 1N NaOH gerektiğinde de 0,1 N HCl çözeltilisinden faydalanılarak pH:5,8'e ayarlanmıştır.
4. Son hacim saf su ile 985 ml'ye tamamlanmıştır.
5. İçerisinde 2 g jel yapıcı madde (Fitajel) bulunan karışım erlen içerisine aktarılmış ve ağzı alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra sterilizasyon işlemi için otoklavda 20 dakika boyunca 105 kPa basınçta 121°C'de tabi tutulmuştur.
6. Isı ile bozulabilen vitamin ve hormonlar otoklavdan sonra ilave edilmiştir. Bunun için 50 ml beher içerisine MS vitamin stok solüsyonundan (10X) 10 ml ilave edilmiş ve son hacim saf su yardımı ile 15 ml'ye ayarlanmıştır.
7. Otoklavlanan besi yerinin sıcaklığı 40-45°C'ye düşünce 0,22 µm porotizeteli selüloz nitrat filtrelerden geçirilerek steril edilen vitamin ve hormonlar besiyerine ilave edilmiştir.

3.2.3. *İn vitro*'da α-tokoferol ve UV-B uygulaması

Araştırmada endosperm destekli olgun embriyo kültürü için aşağıda belirtilen kültür aşamaları uygulanmıştır (Aydın *et al.* 2011).

- a) Yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumların olgun embriyoları tohum üzerinden ayrılmadan 6 parçaya bölünmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Sterilizasyon sonrası su emdirilmiş tohumun embriyosunun kesim kısımlarının gösterimi

b) Kallus oluşumu için MS ortamına ilave olarak 12 mg/l dikamba, 0,5 mg/l IAA, 20 g/l sakkaroz, 2 g/l fitajel ve 1,95 g/l MES hidrat içeren kallus oluşum ortamında karanlıkta $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de 10 gün süreyle tutulmuştur. 10. günün sonunda oluşan olgun embriyo kaynaklı kalluslar üzerinde asılı olan (30 cm) Philips Special 20W /Dar bant(311nm) lambalardan elde edilen UV-B stresine 0, 2, 4 ve 6 saat süreyle maruz bırakılmış (petri kapakları açık şekilde) (Manaf *et al.*2016) ve bu kalluslar α - tokoferol (0 mg/l, 50 mg/l ve 100 mg/l) içeren kallus oluşum ortamında alt kültüre alınarak kültür süresi 30 güne tamamlanmıştır.

c) Meydana gelen kalluslar bitki rejenerasyonu için MS ortamına ilave olarak 20 g/l sakkaroz, 2 g/l phytigel ve 1,95 g/l MES hidrat içeren ortamda iki hafta süreyle $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16:8 saat ışık : karanlık fotoperiyotta tutulmuştur. Bu işlemin ardından kalluslar bu ortama ilave olarak 0,5 mg/l TDZ, 2 mg/l phytigel ve 20 g/l sakkaroz içeren ortamda ve aynı kültür şartlarında 21 gün süreyle alt kültüre alınmıştır. Rejenerasyon ortamında aydınlatma kaynağı olarak floresan lambası kullanılmış ve ışık yoğunluğu $62 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak ayarlanmıştır.

d) Rejenerasyon sonunda meydana gelen bitkiler yaklaşık 10-12 cm oluncaya kadar MS tuzlarına ve vitaminlerine ilave olarak 20 g/l sakkaroz ve 2 g/l fitajel içeren cam kavanozlarda $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16:8 saat ışık : karanlık fotoperiyotta büyütülmüştür.

3.2.4. Araştırmada incelenen karakterler

1) Kallus nispi gelişim oranı (KNGO) (%)

Aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Siddique *et al.* 2014).

$$\text{KNGO} = \frac{\text{Son kallus taze ağırlığı} - \text{Başlangıç kallus taze ağırlığı}}{\text{Başlangıç kallus taze ağırlığı}}$$

Başlangıç kallus ağırlığı tuz ve α -tokoferol içermeyen kallus ortamında meydana gelen 10. gündeki kallusların ağırlığıdır. Son kallus ağırlığı ise kallus kültür süresinin sonundaki kallusun ağırlığıdır.

2) Embriyogenik kallus oluşum oranı (EKOO) (%)

Embriyogenik kallus, sert dokulu, dağılabilir özellikte, sıkı (pütürlü) yapılı ve embriyo oluşturma kapasitesine sahip kalluslardır. Kallus kültür süresi sonunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Aydın 2010).

$$\text{EKOO oranı (\%)} = (\text{embriyogenik kallus sayısı} / \text{eksplant sayısı}) \times 100$$

3) Cevap veren embriyogenik kallus oranı (CEKO) (%)

Rejenerasyon kültür süresi sonunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Aydın 2010).

$$\text{CEKO oranı (\%)} = (\text{cevap veren embriyogenik kallus sayısı}^* / \text{eksplant sayısı}) \times 100$$

*: Bitkicik oluşturan embriyogenik kallus.

4) Eksplant başına bitki sayısı (EBBS) (Adet)

Rejenerasyon kültür süresi sonunda aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır (Aydın 2010).

$$EBBS = \text{Toplam bitki sayısı} / \text{eksplant sayısı}$$

3.2.5. Verilerin istatistiksel analizi

Bu çalışmada kallus nisbi gelişim oranına, embriyogenik kallus oluşum oranına, cevap veren embriyogenik kallus oranına ve eksplant başına bitki sayısı üzerine 4 farklı UV-B ışınma süresinin (0, 2, 4 ve 6 saat) ve 3 farklı α -tokoferol (0, 50 ve 100 mg/l) uygulamasının etkileri tam şansa bağlı deneme planına göre 4 (UV-B) x 3 (α -tokoferol) faktöriyel düzende varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Denemede her petri bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve her petride 10 adet endosperm destekli olgun embriyo kullanılmıştır. Her uygulama için 5 adet petri kullanılmış ve her bir petri tekerrür olarak kabul edilmiştir. UV-B ve α -tokoferol uygulamaları ve bunların ikili interaksyonuna ait ortalamaları arasındaki farklar %5 önem seviyesinde LSD (Least Significant Difference) çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. İstatistik analizler SAS (v 9.3) bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada buğdayda olgun embriyo kültüründe UV-B stresinin farklı sürelerinin (0, 2, 4 ve 6 saat) ve bu strese karşı α - tokoferol (0, 50, 100 mg/l) uygulamasının kallus nisbi gelişim oranı (%), embriyogenik kallus oluşum oranı (%), cevap veren embriyogenik kallus oranı (%) ve eksplant başına bitki sayısı (adet) parametrelerine etkileri incelenmiştir. Bu parametrelere ait veriler sırasıyla aşağıda açıklanmıştır.

4.1. Kallus nispi gelişim oranı (%)

Kallus nispi gelişim oranı (KNGO) üzerine UV-B stresinin süresinin ana etkisi çok önemli olmuştur ($p<0,001$) (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). UV-B uygulamasının süresindeki artışa bağlı olarak KNGO'nun azaldığı belirlenmiştir. En yüksek KNGO, %7,0 ile 0 saat UV-B uygulamasından elde edilirken en düşük %2,4 ile 6 saat UV-B uygulamasından elde edilmiştir. Bu değer 2 saat UV-B uygulamasında %5,6; 4 saat UV-B uygulamasında ise %5,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2) Diğer taraftan, araştırmada α - tokoferolün KNGO'ya etkisi çok önemli olmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.1). α - tokoferolün miktarındaki artışa paralel olarak KNGO'da artış görülmüştür. KNGO'nun ana etkisi incelendiğinde 0 mg/l'de %3,6 olan KNGO, 50 mg/l'de %5,4 ve 100 mg/l'de %6,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Kallus nispi gelişim oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
UV-B (U)	3	56,277	289,049	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	31,172	160,104	0,000**
UxT	6	2,551	13,101	0,000**
Hata	48	0,195		

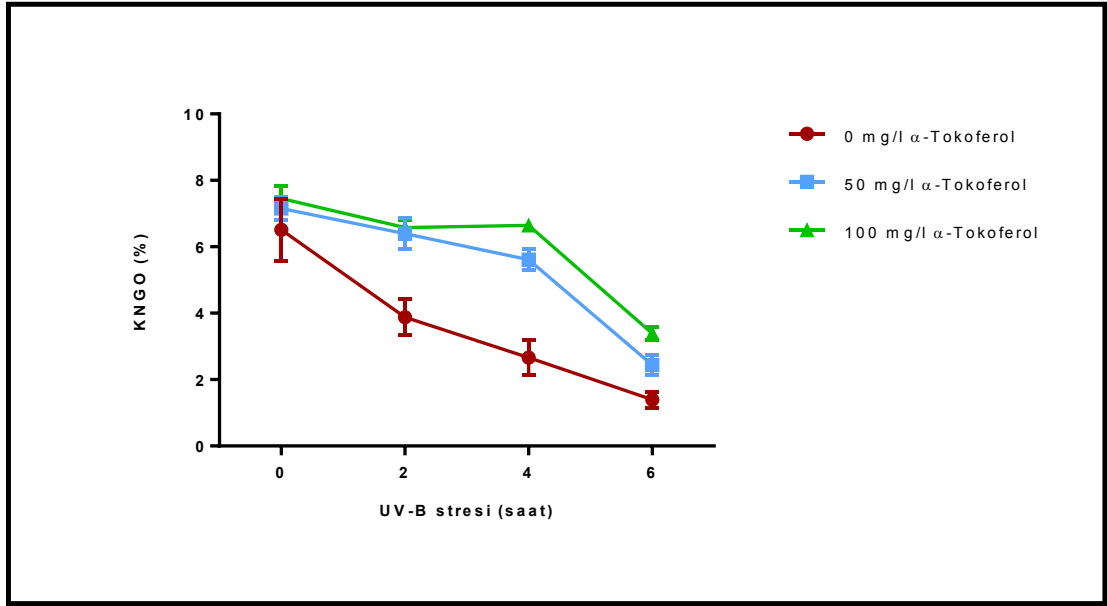
** : Çok önemli ($p<0,01$)

UV-B stresinin kallusların nispi gelişim oranına etkisi α - tokoferolün uygulamasına göre farklılık göstermiş bu da UV-B x α - tokoferol interaksiyonunun çok önemli ($p<0,01$)

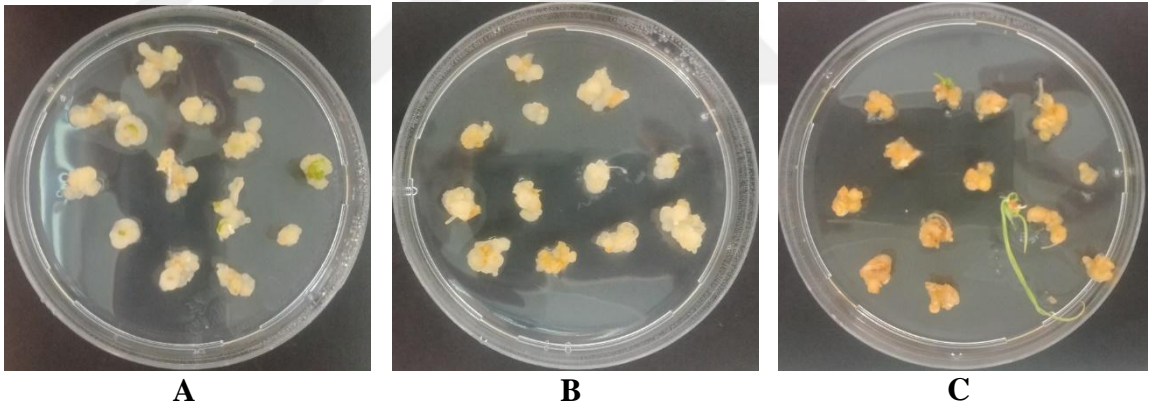
çıkmasına neden olmuştur (Çizelge 4.1). Tüm UV-B stresi uygulamalarında α - tokoferol miktarındaki artışa paralel olarak kallus nisbi gelişim oranlarında da artış gözlenmiştir. En yüksek KNGO 100 mg/l α - tokoferol uygulamasında; en düşük ise 0 mg/l α - tokoferol uygulamalarında tespit edilmiştir. 50 mg/l α - tokoferol uygulamalarında bu iki doz arasındaki değerler elde edilmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1).

Çizelge 4.2. UV-B stresinde uygulanan α - tokoferole göre kallus nispi gelişim oranı (%)

UV-B (Saat)	α -Tokoferol (mg/l)	Kallus Nisbi Gelişim Oranı (%)
0	0	6,5
	50	7,2
	100	7,5
	<i>Ortalama</i>	<i>7,0</i>
2	0	3,9
	50	6,4
	100	6,6
	<i>Ortalama</i>	<i>5,6</i>
4	0	2,7
	50	5,6
	100	6,6
	<i>Ortalama</i>	<i>5,0</i>
6	0	1,4
	50	2,4
	100	3,4
	<i>Ortalama</i>	<i>2,4</i>
UV-B Ortalaması	0	3,6
	50	5,4
	100	6,0
ORTALAMA		5,0
LSD _(0,05) (UV-B Stresi) (U)		0,3
LSD _(0,05) (α -Tokoferol) (T)		0,3
LSD _(0,05) (UxT)		0,6
Varyasyon Katsayısı (%)		8,8



Şekil 4.1. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferolün kallus nispi gelişim oranına etkisi



Şekil 4.2. UV-B'nin farklı ışına sürelerinde kallus gelişimine, cevap veren embriyogenik kallus ve bitki sayısı düzeyinde verdiği zararlar (A) 2 saat UV-B + 0 mg α -tokoferol, (B) 4 saat UV-B + 0 mg α -tokoferol, (C) 6 saat UV-B + 0 mg α -tokoferol

4.2. Embriyogenik Kallus Oluşum Oranı (%)

Çizelge 4.3 incelendiğinde UV-B stresinin ve α -tokoferol uygulamasının ana etkileri çok önemli ($p < 0,01$); bunlara ait interaksiyonun (UV-B x α -tokoferol) önemsiz ($p > 0,05$) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3. Embriyogenik kallus oluşum oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
UV-B (U)	3	2075,556		0,000**
α -Tokoferol (T)	2	245,000		0,001**
UxT	6	40,556		0,269 ^{öd}
Hata	48	30,833		

** : Çok önemli ($p < 0,01$) ve ^{öd}: Önemsiz değer ($p > 0,05$).

Embriyogenik kallus oluşum oranı (EKOO) üzerine UV-B stres süresinin ana etkisi incelendiğinde, UV-B uygulamasının süresindeki artışa bağlı olarak EKOO'nun azaldığı belirlenmiştir. En yüksek EKOO, %87,3 ile 0 saat UV-B uygulamasından elde edilirken, en düşük %60,7 ile 6 saat UV-B uygulamasından elde edilmiştir. Bu değer 2 saat UV-B uygulamasında %82,7; 4 saat UV-B uygulamasında ise %73,3 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Diğer taraftan, α -tokoferol uygulamasındaki artışa paralel olarak EKOO'da artış görülmüştür. 0 mg/l'de %72,0 olan EKOO, 50 mg/l'de %77,5, 100 mg/l'de ise %78,5 olarak gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4).

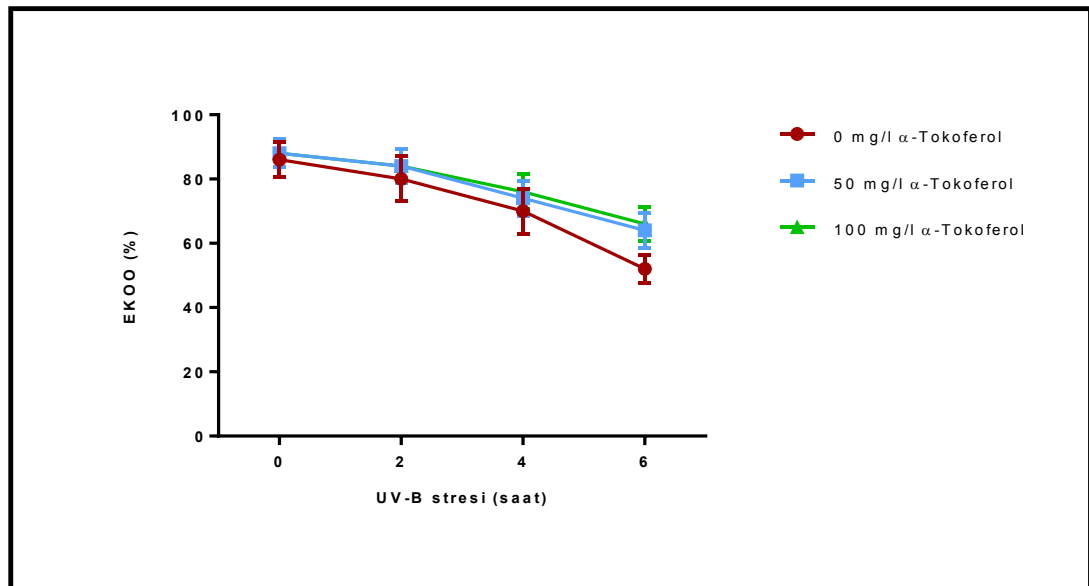
Çizelge 4.4. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre embriyogenik kallus oluşum oranı (%)

UV-B (Saat)	α -Tokoferol (mg/l)	Embriyogenik Kallus Oluşum Oranı (%)
0	0	86,0
	50	88,0
	100	88,0
	<i>Ortalama</i>	<i>87,3</i>
2	0	80,0
	50	84,0
	100	84,0
	<i>Ortalama</i>	<i>82,7</i>
4	0	70,0
	50	74,0
	100	76,0
	<i>Ortalama</i>	<i>73,3</i>
6	0	52,0
	50	64,0
	100	66,0
	<i>Ortalama</i>	<i>60,7</i>

Çizelge 4.4. (devam)

	0	72,0
UV-B Ortalaması	50	77,5
	100	78,5
ORTALAMA		76,0
LSD_(0,05) (UV-B Stresi) (U)		4,1
LSD_(0,05) (α-Tokoferol) (T)		3,5
LSD_(0,05) (UxT)		-
Varyasyon Katsayısı (%)		7,3

UV-B stres süresinin tüm uygulamalarında, α -tokoferol miktarlarındaki artışa paralel olarak EKOO'nun artması UV-B stres süresi x α -tokoferol interaksiyonunun önemsiz ($p < 0,05$) çıkmasına neden olmuştur (Çizelge 4.4). Tüm UV-B stresi uygulamalarında en düşük EKOO 0 mg/l α -tokoferol da; en yüksek ise 100 mg/l α -tokoferol uygulamasında elde edilmiştir. Diğer taraftan EKOO bakımından UV-B stresi ve α -tokoferol uygulamaları birlikte değerlendirildiğinde en düşük EKOO (%52,0) 6 saat UV-B ve 0 mg/l α -tokoferol uygulamasından elde edilirken en yüksek (%88) ise 0 saat UV-B'de 50 ve 100 mg/l α -tokoferol uygulamalarında elde edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferolün embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi

4.3. Cevap veren embriyogenik kallus oranı (%)

Cevap veren embriyogenik kallus oranı (CEKO) üzerine UV-B stresinin ve α - tokoferol uygulamasının ana etkilerinin sırasıyla istatistiksel olarak çok önemli ($p<0,01$) ve önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.5. Cevap veren embriyogenik kallus oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
UV-B (U)	3	3330,556	114,190	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	131,667	4,514	0,016*
UxT	6	60,556	2,076	0,074 ^{öd}
Hata	48	29,167		

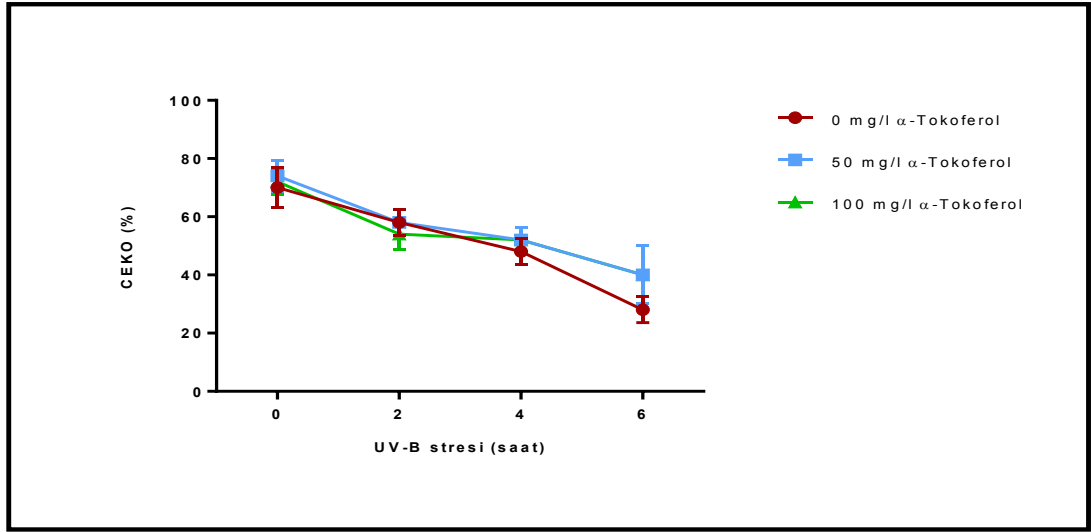
** : Çok önemli ($p<0,01$), * : Önemli ($p<0,05$) ve ^{öd} : Önemsiz değer ($p>0,5$)

CEKO üzerine UV-B stresin etkisi incelendiğinde UV-B uygulamasındaki sürenin (0, 2, 4, 6 saat) artışına paralel olarak azalış göstermiştir. CEKO UV-B stressiz şartlarda (0 saat uygulamada) %72,0, 2 saat uygulamada %56,7, 4 saat uygulamada %50,7 ve 6 saat uygulamada %36,0 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Diğer taraftan, CEKO α - tokoferol konsantrasyonunu bağlı olarak farklılık göstermiştir. En yüksek CEKO %56,0 ile 50 mg/l α - tokoferol uygulamasında, en düşük ise %51,0 ile 0 mg/l α - tokoferol uygulamasında tespit edilmiştir. Bu oran 100 mg/l'de %54,5 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

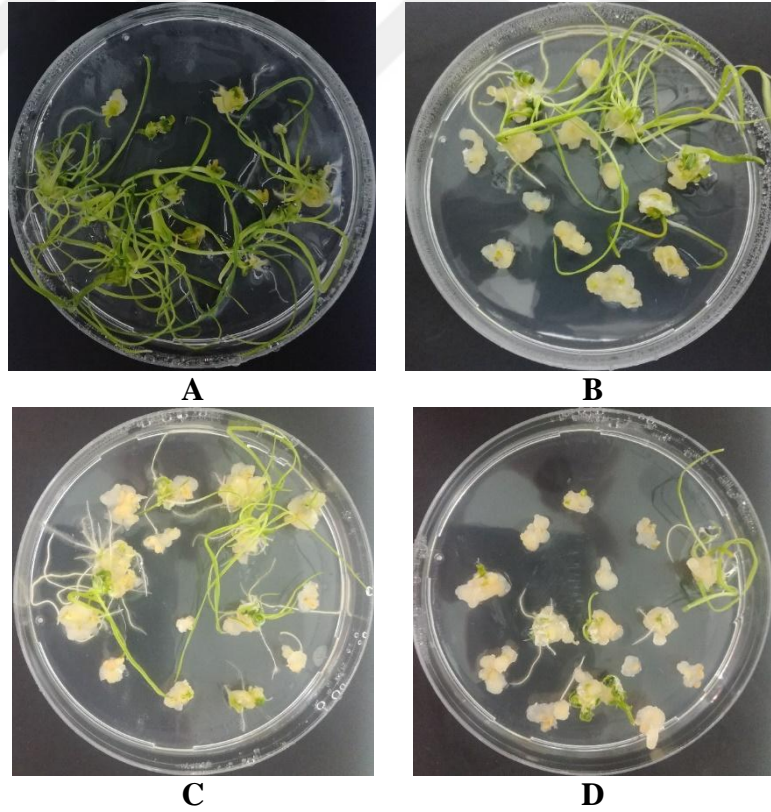
Çizelge 4.6. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre cevap veren embriyogenik kallus oranı (%)

UV-B (Saat)	α -Tokoferol (mg/l)	Cevap Veren Embriyogenik Kallus Oranı (%)
0	0	70,0
	50	74,0
	100	72,0
	<i>Ortalama</i>	<i>72,0</i>
2	0	58,0
	50	58,0
	100	54,0
	<i>Ortalama</i>	<i>56,7</i>
4	0	48,0
	50	52,0
	100	52,0
	<i>Ortalama</i>	<i>50,7</i>
6	0	28,0
	50	40,0
	100	40,0
	<i>Ortalama</i>	<i>36,0</i>
UV-B Ortalaması	0	51,0
	50	56,0
	100	54,5
ORTALAMA		53,8
LSD _(0,05) (UV-B Stresi) (U)		4,0
LSD _(0,05) (α -Tokoferol) (T)		3,4
LSD _(0,05) (UxT)		-
Varyasyon Katsayısı (%)		10,0

UV-B uygulama sürelerinin tamamında α -tokoferol miktarına genelde benzer tepkiler vermesi UV-B x α -tokoferol interaksiyonlarının önemsiz ($p>0,05$) çıkmasına neden olmuştur (Çizelge 4.5). Tüm UV-B sürelerinde, en düşük CEKO 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında elde edilmiştir. En yüksek CEKO ise 0 saat UV-B'de 50 mg/l, 2 saat UV-B'de 0 ve 50 mg/l, 4 ve 6 saat UV-B'de ise 50 ve 100 mg/l α -tokoferol uygulamalarında elde edilmiştir. UV-B ve α -tokoferol uygulamalarının tamamı birlikte değerlendirildiğinde ise en yüksek CEKO (%74) 0 saat UV-B'de 50 mg/l α -tokoferol uygulamasında, en düşük ise 6 saat UV-B'de 0 mg/l α -tokoferol uygulamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.4).



Şekil 4.4. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferolün cevap veren embriyogenik kallus oluşum oranına etkisi



Şekil 4.5. UV-B'nin farklı ışımaya sürelerinde meydana gelen cevap veren embriyogenik kallusların görünümleri
(A) kontrol, (B) 2 saat UV-B + 100 mg α -tokoferol, (C) 4 saat UV-B + 100 mg α -tokoferol, (D) 6 saat UV-B + 100 mg α -tokoferol

4.4. Eksplant Başına Bitki Sayısı (Adet)

Eksplant başına bitki sayısı (EBBS) üzerine UV-B stresinin ve α -tokoferol uygulamasının ana etkilerinin çok önemli ($p<0,01$); bunlara ait interaksiyonun (UV-B x α -tokoferol) ise önemsiz ($p>0,05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7).

Çizelge 4.7. Eksplant başına bitki sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	p
UV-B (U)	3	5,009	172,233	0,000**
α -Tokoferol (T)	2	0,183	6,309	0,004**
UxT	6	0,066	2,267	0,052 ^{öd}
Hata	48	0,029		

** : Çok önemli ($p<0,01$) ve öd: Önemsiz değer ($p>0,05$).

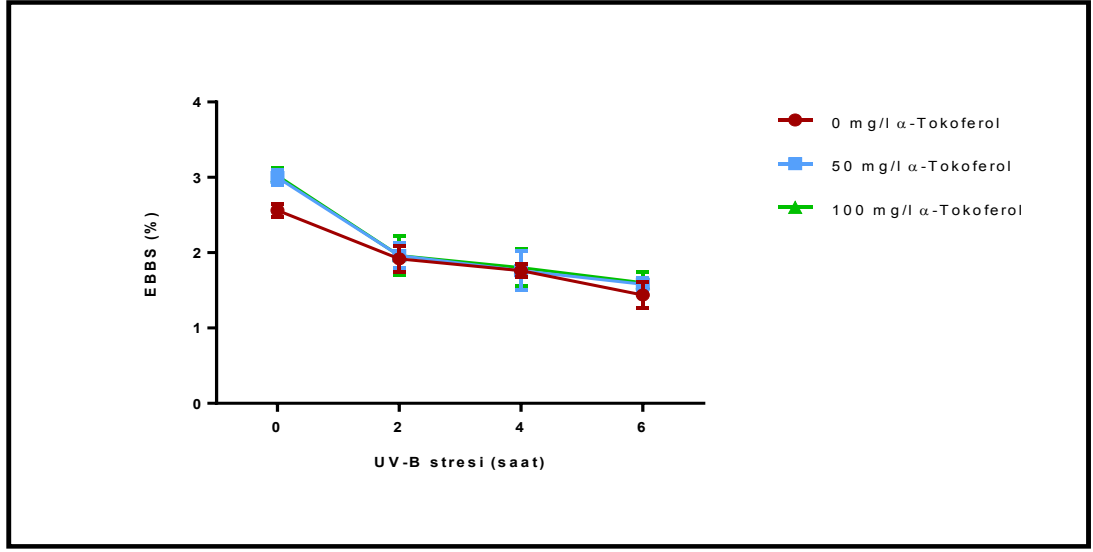
EBBS üzerine UV-B stresinin ana etkisi incelendiğinde UV-B uygulamasındaki süre artışına paralel olarak EBBS’de azalma belirlenmiştir (0, 2, 4, 6 saat). En yüksek EBBS (2,86) 0 saat UV-B uygulamasında; en düşük ise (1,54) 6 saat UV-B uygulamasında gözlemlenmiştir. Bu değerler, 2 ve 4 saat UV-B uygulamalarında sırasıyla 1,95 ve 1,77 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

UV-B uygulama süresinin aksine, α -tokoferol uygulamasında konsantrasyon artışına paralel olarak EBBS’de artış tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). EBBS (adet), 0 mg/l’de 1,92 adet, 50 mg/l’de 2,08 adet ve 100 mg/l’de ise 2,10 adet olarak belirlenmiştir.

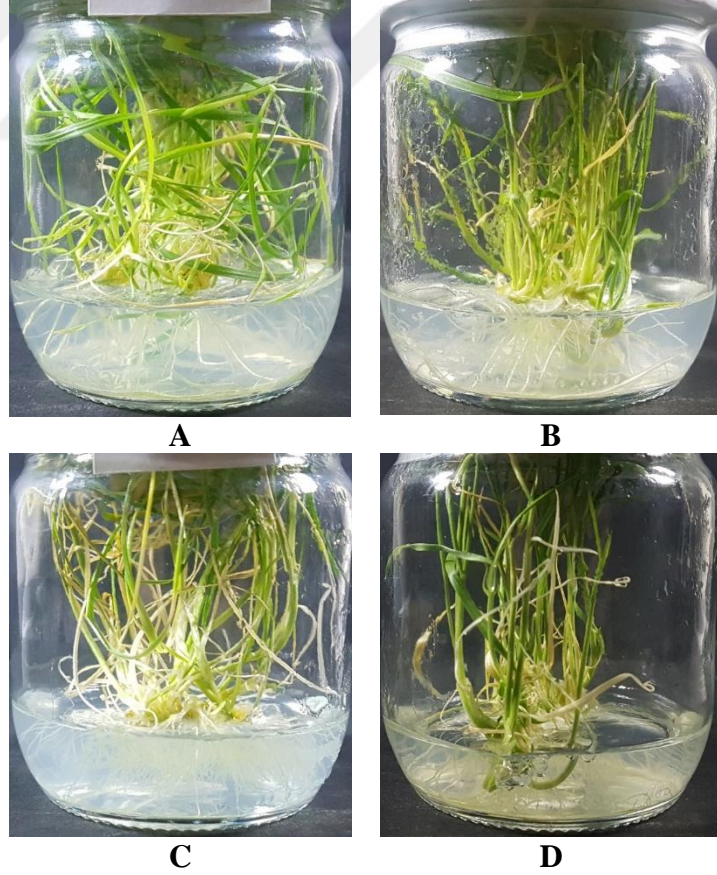
Çizelge 4.8. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferole göre eksplant başına bitki sayısı (adet)

UV-B (Saat)	α -Tokoferol (mg/l)	Eksplant Başına Bitki Sayısı (Adet)
0	0	2,56
	50	3,00
	100	3,02
	<i>Ortalama</i>	2,86
2	0	1,92
	50	1,96
	100	1,96
	<i>Ortalama</i>	1,95
4	0	1,76
	50	1,76
	100	1,80
	<i>Ortalama</i>	1,77
6	0	1,44
	50	1,58
	100	1,60
	<i>Ortalama</i>	1,54
UV-B Ortalaması	0	1,92
	50	2,08
	100	2,10
ORTALAMA		2,03
LSD _(0,05) (UV-B Stresi) (U)		0,13
LSD _(0,05) (α -Tokoferol) (T)		0,11
LSD _(0,05) (UxT)		-
Varyasyon Katsayısı (%)		8,40

Tüm UV-B uygulamalarında uygulanan 50 ve 100 mg/l α -tokoferolün 0 mg/l'ye göre EBBS'de artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Tüm UV-B sürelerinde en düşük EBBS 0 mg/l α -tokoferolde; en yüksek ise 0 saat UV-B'de 100 mg/l'de, 2 saat UV-B'de 50 ve 100 mg/l'de, 4 saat UV-B'de 100 mg/l'de ve 6 saat UV-B'de ise 100 mg/l'de elde edilmiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.4). Bu sonuçlar, UV-B x α -tokoferol uygulamasının önemsiz çıkmasına neden olmuştur. EBSS üzerine tüm uygulamaların birlikte etkisi incelendiğinde en yüksek 3,02 adet ile 0 saat UV-B'de 100 mg/l α -tokoferol; en düşük ise 1,44 adet ile 6 saat UV-B'de 0 mg/l α -tokoferol uygulamalarından elde edilmiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.6. UV-B stresinde uygulanan α -tokoferolün eksplant başına bitki sayısına etkisi



Şekil 4.7. UV-B'nin farklı ışına sürelerinde meydana gelen bitkiciklerin görünümleri (A) kontrol, (B) 2 saat UV-B + 100 mg α -tokoferol, (C) 4 saat UV-B + 100 mg α -tokoferol, (D) 6 saat UV-B + 100 mg α -tokoferol

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Buğday, insan beslenmesinde tarım ürünleri içinde ilk sırada yer almaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık %36'sının temel besin kaynağı olan buğday dünya nüfusu için gerekli olan karbonhidratın %55'ini, kalorisinin ise %20'sini sağlamaktadır (Breiman and Graur 1995).

Bitkiler büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyen farklı biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Tarımda önemli ölçüde üretimi etkileyen ve ürün kayıplarına yol açan en önemli abiyotik stres faktörlerinden biri UV-B radyasyonudur. Yapılan çalışmalar neticesinde önümüzdeki yıllarda bu stres türünün ürünlerin verim ve kalitesinde önemli derecede kayıplara yol açacağı ön görülmektedir. UV-B stresi bitkiler üzerinde büyüme, gelişme, morfoloji ve fotosentezdeki değişiklikler ile DNA, protein ve membran hasarlarını içermektedir. UV-B radyasyonu geniş etki düzeyi ile hücrede pek çok metabolik süreci etkilemektedir (Correia *et al.* 1999; An *et al.* 2000; Láposi *et al.* 2009; Zu *et al.* 2010).

Araştırmamızda UV-B uygulama süresindeki artışa bağlı olarak kallus nispi gelişim oranında azalma belirlenmiştir. Büyüme inhibisyonu, UV-B'ye maruz kalan bitkilerde en sık karşılaşılan tepkilerden biridir. Hem dış ortamda güneş spektrumunun bir parçası olarak hem de kontrollü ortamlardaki UV-B lambalarından gelen bu radyasyon, çok çeşitli türlerde gelişimi etkilemektedir (Zavala *et al.* 2001; Searles *et al.* 2001; Flint *et al.* 2004). Gelişim oranındaki azalış, UV-B ışınması sonucu strese giren kalluslardaki hücre bölünmesinin engellenmesi ve hücre genişlemesinin yavaşlamasına bağlanabilir. Nitekim Hopkins *et al.* (2002) ekmeklik buğdayda UV-B stresinin, mitotik olarak aktif hücrelerin oranını düşürdüğünü ve hücre bölünmesi için harcanan zamanı arttırdığını bildirmişlerdir. Hücre bölünmesi ve hücre genişlemesinin dinamiklerinin UV-B radyasyonundan nasıl etkilendiğine dair odaklanan sadece birkaç rapor vardır. Strese neden olan UV-B koşulları genellikle hücre çoğalmasını inhibe ederken, hem hücre çoğalması hem de genişlemesi düşük dozlardan veya kronik UV-B ışınmasından etkilenmektedir (Staxén and Bornman 1994; Allen *et al.* 1998; Laakso *et al.* 2000;

Hopkins *et al.* 2002; Hofmann *et al.* 2003; Kakani *et al.* 2003; Hectors *et al.* 2007). Örneğin, bazı türler UV-B'ye maruz kaldıktan sonra olgun epidermal hücre sayısı azalmıştır (Gonzalez *et al.* 1998; Hopkins *et al.* 2002). Marulda (*Lactuca sativa*) UV-B, yapraklarda hücre genişleme oranını ve yaprak boyutunu azaltmıştır (Wargent *et al.* 2011). UV-B ışınması DNA hasarı, hücre döngüsünün durması, büyüme inhibisyonu ve hücre ölümüne yol açmaktadır. UV-B siklobütan primidin dimerleri ve primidin (6-4) primidon foto ürünleri gibi primidin dimerlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise DNA replikasyonu ve transkripsiyonunun engellenmesi, mutasyon sayısının artması, hücre döngüsünün durması ve hücre ölümü gerçekleşmektedir (Lo *et al.* 2005; de Lima-Bessa *et al.* 2008). Yine, bitkilerde hücre boyutunun düzenlenmesi hücre bölünmesinin ve hücre genişlemesinin kontrolünde gerçekleşmektedir (Sugimoto-Shirasu and Roberts 2003). Endoreduplikasyon, daha büyük hücrelerle ilişkili ve daha yüksek ploidi seviyelerine sahip hücre boyutunun bir belirleyicisidir. UV-B, hücre sayısını ve endoreduplikasyonu azaltarak hücre döngüsü ilerlemesini engellemektedir. Tüm bu nedenler büyümeyi olumsuz yönde etkilemektedir.

Büyümedeki azalmanın bir diğer nedeni ise yine UV-B stresi altında oluşan ROT'lar hücre zarında meydana getirdiği hasardan kaynaklanmış olabilir. UV-B stresi sonucu hücrede fazla biriken ROT'lar membran lipitleri de dâhil olmak üzere çeşitli hücresel yapılara zarar vererek metabolizmanın bozulmasına neden olurlar (Foyer and Noctor 2009). Nitekim, Jansen *et al.* (1998), UV-B stresinin membranlara zarar verip fotosentezi, büyümeyi ve gelişmeyi bozduğunu tespit etmişlerdir. Buna bağlı olarak yaprak gelişiminde düşük büyüme oranları gözlemlenmiştir. Yaprak gelişimindeki benzer düşüşler tere fidelerinde (Steinmetz and Wellmann 1986) ve domates fidelerinde (Ballaré *et al.* 1995) gözlemlenmiştir. Yine Zlatev *et al.* (2012) UV-B artışına bağlı olarak bitki büyümesi, gelişimi ve morfolojisinin değiştiğini, ek olarak özellikle duyarlı tarım bitkilerinde ürün veriminin azaldığını tespit etmişlerdir.

Araştırmamızda bu fizyolojik özelliğin dışında embriyogenik kallus oluşum oranı (%), cevap veren embriyogenik kallus oranı (%) ve bitki sayısı (adet) üzerine UV-B'nin etkisi önemli olmuştur. UV-B ışınma süresindeki artışa bağlı olarak bu özelliklerde

azalma olduğu tespit edilmiştir. *In vitro* şartlarda yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar, UV-B ışımalarının çimlenme ve büyümeyi inhibe ettiğini kanıtlamaktadır. 34 bitki türü ile yapılan bir araştırma UV-B stresine bağlı olarak bitkilerin büyüme ve gelişiminde azalmalar olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, bitki türüne bağlı olarak ürün verim ve kalitesini ciddi şekilde kısıtlayacak derecede %10-15 oranında azalmalar tespit etmişlerdir (Torabinejad *et al.* 1998; Conner and Neumeier 2002; Koti *et al.* 2004).

Araştırmamızda UV-B stresine bağlı olarak embriyogenik kallus oranındaki azalmanın nedeni UV-B stresinin somatik embriyoların oluşmamasında önemli olan bitki büyüme düzenleyicilerine özellikle oksinlere olan etkisinden kaynaklanmış olabilir. Somatik embriyogenez süreci, embriyo farklılaşma derecesine göre üç aşamaya ayrılır: embriyogenezin indüklenmesi, somatik embriyoların çoğalması ve olgunlaşması ve olgun embriyoların komple bitkilere dönüştürülmesidir (Malá *et al.* 2009). Somatik embriyogenez uyarmada ve çoğalmasında en önemli bitki büyüme düzenleyicilerinden biri de oksinlerdir. UV-B stresinin dolaylı olarak oksinlere etki ettiği bilinmektedir. Tipik olarak UV-B'ye maruz kalan dokularda ve organellerde flavonoidler birikmektedir (Agati and Tattini 2010). Flavonoid aglikonlar, oksidasyon taşıyıcıları yoluyla polar taşınmayı olumsuz yönde etkileyerek veya oksin katabolizmasını değiştirerek oksin homeostazını etkilemektedir (Peer and Murphy 2007). Nitekim, bazı *Arabidopsis* flavonoid mutantlarının oksin dağılımında ve bitki morfolojisinde değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir (Peer *et al.* 2004; Ringli *et al.* 2008). Hectors *et al.* (2012), iki *Arabidopsis* oksin mutantının, flavonoid birikimi ve UV-B'ye maruz kaldığında değiştirilmiş bir morfogenik tepki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu, UV kaynaklı morfolojik tepkilerin flavonoid birikimi ve oksin homeostazı arasındaki çapraz etkileşimden pozitif yönde etkilenebileceği anlamına gelmektedir. İlginç bir şekilde, UVR8 yolu birkaç flavonoid biyosentez geninin ekspresyonunu kontrol etmektedir, bu nedenle flavonoidler ve oksinler arasındaki çapraz ilişki UVR8 sinyallemesine bağlanabilir (Brown *et al.* 2005).

UV-B stresinin doku kültürü parametrelerine olan olumsuz etkilerinden biri de somatik embriyogenezde hücrel farklılaşma için de önemli olan poliaminler (PA) (Chi *et al.* 1994; Bajaj and Rajam 1996; Kevers *et al.* 2000) üzerine olan etkisinden kaynaklanmış olabilir. Çeşitli abiyotik stresler, bitki dokularında PA birikmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte yüksek stres PA sentezinde bir azalışa neden olabilmektedir (Smith *et al.* 2001; Aydın *et al.* 2016; Eliášová *et al.* 2018). Yüksek UV-B stresinde PA seviyesinde azalış olduğu Smith *et al.* (2001) tarafından bildirilmiştir. Bu sebeplerden dolayı çalışmamızda embriyogenik kallus oluşum ve cevap veren embriyogenik kallus oranlarında bir azalış söz konusu olmuştur. Poliaminler (PA), somatik embriyogenez ve bitki rejenerasyonunun oluşumundaki ana bileşenlerdir (Aydın *et al.* (2016). Somatik embriyolardan bitki oluşumu somatik embriyo olgunlaşması, dehidrasyon toleransı gelişimi ve depolama bileşiklerinin sentezi ve birikmesi gibi faktörlere bağlıdır. (Xu *et al.* 1990). Nitekim Aydın *et al.* (2016), poliaminlerin buğdayda endosperm destekli olgun embriyo kaynaklı somatik embriyogenezde ve bitki rejenerasyonunda bu aşamalarda önemli rollere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine, Santanen and Simola (1992), poliaminlerin *Picea abies* L'de tohum depolama proteininin ve embriyo olgunlaşmasının birikmesinde rol oynayabileceğini belirtmiştir.

UV-B stresinin doku kültürü parametrelerine olan olumsuz etkisinin muhtemel nedenlerinden biri de somaklonal varyasyondur. UV-B stresi altında oluşan ROT'lar *in vitro* şartlarda DNA seviyesinde baz delesyonuna ve eklenmesine, kromozom seviyesinde, kromozom sayısında ve yapısında değişikliklere (Czene and Harms-Ringdahl 1995) ve DNA'nın hiper veya hipometilasyonuna sebep olarak somaklonal varyasyona neden olurlar (Wacksman 1997).

UV-B, bitki tarafından algılandıktan sonra gen ifadesindeki değişiklikler gibi tepkiler vermek için bir sinyal iletim yolu oluşturmaktadır. Sinyal iletim yolları, bir dizi ara ürünü içermekte ve bunlar yakın zamanda mutantlar, transgenik bitkiler ve farmasötik reaktifler dahil çeşitli yaklaşımlar kullanılarak araştırılmıştır. ROT'lar UV-B'ye cevap olarak artmakta ve hem yukarı hem de aşağı regüle edilmiş genlerin düzenlenmesinde önemli bir rol almaktadır (Mackerness *et al.* 1999). UV-B'nin gen ifadesi üzerindeki

etkisi kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiştir (Mackerness and Jordan 1999). Bununla birlikte, bir takım kilit noktaları yinelemek gerekmektedir. UV-B'nin DNA'ya doğrudan zarar verme potansiyeli, bunun gen ifadesini etkilemenin bir yolu olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, gen ifadesinin modifikasyonunun çok daha karmaşık ve spesifik olduğunu göstermektedir. Örneğin, gen ifadesi UV-B ışınmasıyla eşzamanlı olarak düzenlenmektedir (Jordan *et al.* 1994), UV-B'nin gen ifadesi üzerindeki etkisi gelişim aşamasından güçlü bir şekilde etkilenmekte ve DNA hasar seviyelerinin gen aktivitesindeki değişikliklerle ilişkisinin olmadığı bilinmektedir (Mackerness *et al.* 1996).

Strese toleranslı bitkilerde genellikle tokoferol miktarında artışın olduğu gözlenmiştir (Szarka *et al.* 2012). Tokoferol sinyal iletim yollarında ve bitki savunması ve fotoasimatların taşınımı gibi farklı süreçlerde gen ifadesinin düzenlenmesinde anahtar bir role sahiptir (Falk and Munne'-Bosch 2010). Tokoferol bitkilerde yaygın olarak bulunan bir antioksidandır. Özellikle tekli oksijen türlerini ve diğer ROT'ları ortadan kaldırır (Foyer *et al.* 2005). Tokoferol şiddetli stres şartlarında önemli bir göreve sahipken, diğer antioksidanlar orta şiddetli stres şartlarında görev almaktadır (Havaux *et al.* 2005). Tokoferol antioksidan aktivitesi serbest radikallere fenolik hidrojen verme yeteneğine bağlıdır. Tokoferol izomerlerinde α -tokoferol en yüksek antioksidan aktiviteye, δ -tokoferol ise en az antioksidant aktiviteye sahiptir. Diğer β - ve γ -tokoferoller orta seviyede antioksidan kapasiteye sahiptirler (Kamal-Eldin and Appelqvist 1996; Evans *et al.* 2002). Tokoferol lipidperoksil radikallerini ortamdan uzaklaştırarak hücre membranlarının yapısının stabilitesini sağlamaktadır (Liebler 1993).

Araştırmamızda, α -tokoferolün incelenen fizyolojik ve doku kültürü özellikleri üzerine UV-B'nin olumsuz etkisini azalttığı belirlenmiştir. Munne'-Bosch *et al.* (1999), α -tokoferolün stres faktörlerini minimize ettiğini tespit etmişlerdir. α -tokoferolün bu etkisi iyon dengesini ve hücre membran stabilitesini sağlaması ve de DNA, protein ve membran lipidlerine zarar veren ROT'lara karşı göstermiş olduğu antioksidan özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Carletti *et al.* (2003), UV-B stresine

maruz bırakılan mısırdaki α -tokoferolün bu stres sonucunda oluşan ROT'ların üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Tüm canlı organizmalar kendileri için zararlı olan serbest radikallerin olumsuz etkilerini önlemek için hücrelerinin içindeki antioksidan sistemlere sahiptirler. Antioksidanlar, enzimatik kaynaklı ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılır. Bu çeşitler içerisinde, α -tokoferol en önemli antioksidanlardan biridir (Noga and Schmitz 1998). α -tokoferolün lipid peroksidasyonunu engellediğine dair çok sayıda çalışma mevcuttur (Kapoor *et al.* 2015). Abbasi *et al.* (2009) transgenik tütün yapraklarında tokoferol eksikliğinin lipid peroksidasyonunu artırdığını belirlemişlerdir. Yine, α -tokoferol, glutatyon, askorbat, karotenoid gibi diğer antioksidanlar ile işbirliği içinde, fotosentetik zarlarda ROT seviyelerinin azaltılmasında rol oynar ve ilgili hidroperoksitlerin lipid peroksil radikallerini azaltarak lipid peroksidasyonunun büyük ölçüde sınırlandırılır (Munne'-Bosch 2005). Diğer taraftan Sattler *et al.* (2006) tokoferolün lipid peroksidasyonunda görev alan genlerin ifadesini düzenlediğini de bildirmişlerdir.

5.1. Sonuç ve öneriler

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar ve daha sonra yapılacak çalışmalara yönelik öneriler şu şekilde sıralanabilir.

1. UV-B stresinin kallus gelişim oranını (%), embriyogenik kallus oluşum oranını (%), cevap veren embriyogenik kallus oranını (%) ve eksplant başına bitki sayısını (adet) azalttığı belirlenmiştir.
2. Araştırmada incelenen tüm özelliklerde UV-B stresine bağlı olarak meydana gelen bu olumsuzluklar α -tokoferol uygulamasıyla iyileşme göstermiştir.
3. α -tokoferolün 50 ve 100 mg/l dozunun UV-B stresi altında yetiştirilen bitkiler için adaptif bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ve UV-B'nin olumsuz etkilerini önlemek amacıyla kullanılması önerilebilir.
4. Buğdayda UV-B'ye toleranslı genotiplerin belirlenmesinde geleneksel yöntemlere alternatif olarak *in vitro* yöntemlerin başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.

5. *In vitro* şartlarda UV-B stresinin ve α -tokoferolün biyokimyasal ve moleküler seviyedeki (genomik, transkriptomik, proteomik) etkilerinin daha sonra yapılacak çalışmalarla belirlenmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- A.-H.-Mackerness, S., John, C. F., Jordan, B. and Thomas, B., 2001. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *Febs Letters*, 489(2-3), 237-242.
- Abbasi, A. R., Hajirezaei, M., Hofius, D., Sonnewald, U. and Voll, L. M., 2007. Specific roles of α - and γ -tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. *Plant physiology*, 143(4), 1720-1738.
- Abbasi, A. R., Saur, A., Hennig, P., Tschiersch, H., Hajirezaei, M., Hofius, D. and Voll, L. M., 2009. Tocopherol deficiency in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants leads to accelerated senescence. *Plant, cell and environment*, 32(2), 144-157.
- Agati, G. and Tattini, M., 2010. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytologist*, 186(4), 786-793.
- Agrawal, S. B. and Rathore, D., 2007. Changes in oxidative stress defense system in wheat (*Triticum aestivum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) cultivars grown with and without mineral nutrients and irradiated by supplemental ultraviolet-B. *Environmental and Experimental Botany*, 59(1), 21-33.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E., 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337-1344.
- Allen, D. J., Nogués, S. and Baker, N. R., 1998. Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis?. *Journal of experimental Botany*, 49(328), 1775-1788.
- Al-Oudat, M., Baydoun, S. A. and Mohammad, A., 1998. Effects of enhanced UV-B on growth and yield of two Syrian crops wheat (*Triticum durum* var. Horani) and broad beans (*Vicia faba*) under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 40(1), 11-16.
- Amudha, P., Jayakumar, M. and Kulandaivelu, G., 2005. Impacts of ambient solar UV (280-400 nm) radiation on three tropical legumes. *Journal of Plant Biology*, 48(3), 284-291.
- An, L., Feng, H., Tang, X. and Wang, X., 2000. Changes of microsomal membrane properties in spring wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 57(1), 60-65.
- Anten, N. P., Casado-Garcia, R. and Nagashima, H., 2005. Effects of mechanical stress and plant density on mechanical characteristics, growth, and lifetime reproduction of tobacco plants. *The American Naturalist*, 166(6), 650-660.
- Antognoni, F., Zheng, S., Pagnucco, C., Baraldi, R., Poli, F. and Biondi, S., 2007. Induction of flavonoid production by UV-B radiation in *Passiflora quadrangularis* callus cultures. *Fitoterapia*, 78(5), 345-352.
- Atak, M., 2017. Buğday ve Türkiye Buğday Köy Çeşitleri. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 71-88.
- Atar, B., 2017. Gıdamız Buğdayın, Geçmişten Geleceğe Yolculuğu. *Yalvaç Akademi Dergisi*, 2(1), 1-12.

- Aydin, M., 2010. Bazı ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin olgun embriyo kültürüne tepkilerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Aydin, M., Pour, A. H., Haliloğlu, K. and Tosun, M., 2016. Effect of polyamines on somatic embryogenesis via mature embryo in wheat. *Turkish Journal of Biology*, 40(6), 1178-1184.
- Aydin, M., Tosun, M. and Haliloglu, K., 2011. Plant regeneration in wheat mature embryo culture. *African Journal of Biotechnology*, 10(70), 15749-15755.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M. and Akbudak, M., 2001. Doku kültürü: Temel laboratuvar teknikleri (Plant tissue culture: Basic laboratory techniques). *Bitki Biyoteknolojisi: Doku kültürü ve uygulamaları (Biotechnology of Plant: Plant tissue culture and application)*. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları-Konya-pp, 1-35.
- Bajaj, S. and Rajam, M. V., 1996. Polyamine accumulation and near loss of morphogenesis in long-term callus cultures of rice (restoration of plant regeneration by manipulation of cellular polyamine levels). *Plant Physiology*, 112(3), 1343-1348.
- Ballaré, C. L., Barnes, P. W. and Flint, S. D., 1995. Inhibition of hypocotyl elongation by ultraviolet-B radiation in de-etiolating tomato seedlings. I. The photoreceptor. *Physiologia Plantarum*, 93(4), 584-592.
- Bandurska, H., Pietrowska-Borek, M. and Cieślak, M., 2012. Response of barley seedlings to water deficit and enhanced UV-B irradiation acting alone and in combination. *Acta physiologiae plantarum*, 34(1), 161-171.
- Barnes, P. W., Flint, S. D. and Caldwell, M. M., 1990. Morphological responses of crop and weed species of different growth forms to ultraviolet-B radiation. *American Journal of Botany*, 77(10), 1354-1360.
- Baskin, S.I. and Salem, H., 1997. Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis, pp 79-120.
- Baumbusch, L. O., Eiblmeier, M., Schnitzler, J. P., Heller, W., Sandermann, Jr, H. and Polle, A., 1998. Interactive effects of ozone and low UV-B radiation on antioxidants in spruce (*Picea abies*) and pine (*Pinus sylvestris*) needles. *Physiologia Plantarum*, 104(2), 248-254.
- Baysal, A., 1990. Beslenme, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 481 s., Ankara.
- Bender, K., Blattner, C., Knebel, A., Iordanov, M., Herrlich, P. and Rahmsdorf, H. J., 1997. UV-induced signal transduction. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 37(1-2), 1-17.
- Bowler, C. and Fluhr, R., 2000. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. *Trends in plant science*, 5(6), 241-246.
- Breiman, A. and Graur, D., 1995. Wheat evolution. *Israel Journal of Plant Sciences* 43 (2), 85-98.
- Brodführer, U., 1955. Der Einfluss einer abgestuften Dosierung von ultravioletter Sonnenstrahlung auf das Wachstum der Pflanzen. *Planta*, 45(1), 1-56.
- Brown, B. A., Cloix, C., Jiang, G. H., Kaiserli, E., Herzyk, P., Kliebenstein, D. J. and Jenkins, G. I. (2005). A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 18225-18230.

- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S. ve Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2).
- Caldwell, M. M., Bornman, J. F., Ballaré, C. L., Flint, S. D. and Kulandaivelu, G., 2007. Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6(3), 252-266.
- Carletti, P., Masi, A., Wonisch, A., Grill, D., Tausz, M. and Ferretti, M., 2003. Changes in antioxidant and pigment pool dimensions in UV-B irradiated maize seedlings. *Environmental and experimental botany*, 50(2), 149-157.
- Chameides, W. L., Kasibhatla, P. S., Yienger, J. and Levy, H., 1994. Growth of continental-scale metroagro-plexes, regional ozone pollution, and world food production. *Science*, 264(5155), 74-77.
- Chi, G. L., Lin, W. S., Lee, J. E. and Pua, E. C., 1994. Role of polyamines on de novo shoot morphogenesis from cotyledons of *Brassica campestris* ssp. *pekinensis* (Lour) Olsson in vitro. *Plant Cell Reports*, 13(6), 323-329.
- Conner, J. K. and Neumeier, R., 2002. The effects of ultraviolet-B radiation and intraspecific competition on growth, pollination success, and lifetime female fitness in *Phacelia campanularia* and *P. purshii* (Hydrophyllaceae). *American journal of botany*, 89(1), 103-110.
- Correia, C. M., Torres-Pereira, M. S. and Torres-Pereira, J. M. G., 1999. Growth, photosynthesis and UV-B absorbing compounds of Portuguese Barbel wheat exposed to ultraviolet-B radiation. *Environmental Pollution*, 104(3), 383-388.
- Czene, M. and Harms-Ringdahl, M., 1995. Detection of single-strand breaks and formamidopyrimidine-DNA glycosylase-sensitive sites in DNA of cultured human fibroblasts. *Mutation Research/DNA Repair*, 336(3), 235-242.
- Çakırlar, H., Çiçek, N., Fedina, I., Georgieva, K., Doğru, A. and Velitchkova, M., 2008. NaCl induced cross-acclimation to UV-B radiation in four Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(4), 561-567.
- Dahlback, A., 2002. Recent changes in surface ultraviolet solar radiation and stratospheric ozone at a high Arctic site. In *UV radiation and Arctic ecosystems* (pp. 3-22). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Das, K. and Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., Medeiros, J. V. R. and Gomes-Filho, E., 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 162(10), 1114-1122.
- de Lima-Bessa, K. M., Armelini, M. G., Chiganças, V., Jacysyn, J. F., Amarante-Mendes, G. P., Sarasin, A. and Menck, C. F. M., 2008. CPDs and 6-4PPs play different roles in UV-induced cell death in normal and NER-deficient human cells. *DNA repair*, 7(2), 303-312.
- DeLong, J. M. and Steffen, K. L., 1998. Lipid peroxidation and α -tocopherol content in α -tocopherol-supplemented thylakoid membranes during UV-B exposure. *Environmental and experimental botany*, 39(2), 177-185.

- DeMorrow, J. M. and Henry, E. W., 1978. Substrate comparability vs. polyphenol oxidase activity in Ethrel and ultraviolet-treated «Little Marvel» dwarf Pea (*Pisum sativum*) tissue. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 86(4), 353-361.
- Desikan, R., Hancock, J. and Neill, S., 2005. Reactive oxygen species as signalling molecules. *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*, 169-196.
- El Bassiouny, H. M., Gobarah, M. E. and Ramadan, A. A., 2005. Effect of antioxidants on growth, yield and favism causative agents in seeds of *Vicia faba* L. plants grown under reclaimed sandy soil. *Journal of Agronomy*.
- Eliášová, K., Vondráková, Z., Gemperlová, L., Neděla, V., Runštuk, J., Fischerová, L. and Vágner, M., 2018. The response of *Picea abies* somatic embryos to UV-B radiation depends on the phase of maturation. *Frontiers in plant science*, 9, 1736.
- Engin, K. N., 2009. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Molecular vision*, 15, 855.
- Evans, J., Kodali, D. and Addis, P., 2002. Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(1), 47-51.
- Eyring, V., Waugh, D. W., Bodeker, G. E., Cordero, E., Akiyoshi, H., Austin, J., and Butchart, N., 2007. Multimodel projections of stratospheric ozone in the 21st century. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 112(D16).
- Falk, J. and Munne-Bosch, S., 2010. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond. *Journal of Experimental Botany*, 61(6), 1549-1566.
- FAO, 2018. <http://www.fao.org/> (03.05.2019)
- Fedina, I., Georgieva, K., Velitchkova, M. and Grigorova, I., 2006. Effect of pretreatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. *Environmental and experimental botany*, 56(3), 225-230.
- Flint, S. D., Searles, P. S. and Caldwell, M. M., 2004. Field Testing of Biological Spectral Weighting Functions for Induction of UV-absorbing Compounds in Higher Plants. *Photochemistry and photobiology*, 79(5), 399-403.
- Foyer, C. H. and Noctor, G., 2009. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & redox signaling*, 11(4), 861-905.
- Foyer, C. H., Trebst, A. and Noctor, G., 2005. Protective and signalling functions of ascorbate, glutathione and tocopherol in chloroplasts. *Advances in photosynthesis and respiration: photoprotection, photoinhibition, gene regulation, and environment*, 19, 241-268.
- Frohnmeier, H. and Staiger, D., 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant physiology*, 133(4), 1420-1428.
- Furness, N. H. and Upadhyaya, M. K., 2002. Differential susceptibility of agricultural weeds to ultraviolet-B radiation. *Canadian Journal of Plant Science*, 82(4), 789-796.
- Gey, K.F., Paska, P., Jordan, P. and Moser, U.K., 1991. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *The American journal of clinical nutrition*, 53(1), 326-334.
- Gonzalez, R., Mepsted, R., Wellburn, A. R. and Paul, N. D., 1998. Non-photosynthetic mechanisms of growth reduction in pea (*Pisum sativum* L.) exposed to UV-B radiation. *Plant, Cell & Environment*, 21(1), 23-32.

- Gregianini, T. S., da Silveira, V. C., Porto, D. D., Kerber, V. A., Henriques, A. T. and Fett-Neto, A. G., 2003. The Alkaloid Brachycerine is Induced by Ultraviolet Radiation and is a Singlet Oxygen Quencher. *Photochemistry and photobiology*, 78(5), 470-474.
- Haliloglu, K. and Baenziger, P. S., 2005. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from immature embryo cultures. *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, 14(2), 155-160.
- Havaux, M., Eymery, F., Porfirova, S., Rey, P. and Dörmann, P., 2005. Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 17(12), 3451-3469.
- Hectors, K., Prinsen, E., De Coen, W., Jansen, M. A. and Guisez, Y., 2007. *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low dose rates of ultraviolet B radiation show specific changes in morphology and gene expression in the absence of stress symptoms. *New Phytologist*, 175(2), 255-270.
- Hectors, K., Van Oevelen, S., Geuns, J., Guisez, Y., Jansen, M. A. and Prinsen, E., 2014. Dynamic changes in plant secondary metabolites during UV acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia plantarum*, 152(2), 219-230.
- Hectors, K., van Oevelen, S., Guisez, Y., Prinsen, E. and Jansen, M. A., 2012. The phytohormone auxin is a component of the regulatory system that controls UV-mediated accumulation of flavonoids and UV-induced morphogenesis. *Physiologia plantarum*, 145(4), 594-603.
- Hightower, K. R., McCreedy, J. P. and Borchman, D., 1994. Membrane Damage In UV-Irradiated Lenses. *Photochemistry and photobiology*, 59(4), 485-490.
- Hofmann, R. W., Campbell, B. D., Bloor, S. J., Swinny, E. E., Markham, K. R., Ryan, K. G. and Fountain, D. W., 2003. Responses to UV-B radiation in *Trifolium repens* L.—physiological links to plant productivity and water availability. *Plant, Cell & Environment*, 26(4), 603-612.
- Hopkins, L., Bond, M. A. and Tobin, A. K., 2002. Ultraviolet-B radiation reduces the rates of cell division and elongation in the primary leaf of wheat (*Triticum aestivum* L. cv Maris Huntsman). *Plant, Cell & Environment*, 25(5), 617-624.
- Jain, K., Kataria, S. and Guruprasad, K. N., 2004. Effect of UV-B radiation on antioxidant enzymes and its modulation by benzoquinone and α -tocopherol in cucumber cotyledons. *Current Science*, 87-90.
- Jain, S. M., 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica*, 118(2), 153-166.
- Jansen, M. A., 2002. Ultraviolet-B radiation effects on plants: induction of morphogenic responses. *Physiologia Plantarum*, 116(3), 423-429.
- Jansen, M. A., Gaba, V. and Greenberg, B. M., 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in plant science*, 3(4), 131-135.
- Jordan, B. R., James, P. E., Strid, Å. and Anthony, R. G., 1994. The effect of ultraviolet-B radiation on gene expression and pigment composition in etiolated and green pea leaf tissue: UV-B-induced changes are gene-specific and dependent upon the developmental stage. *Plant, Cell & Environment*, 17(1), 45-54

- Kakani, V. G., Reddy, K. R., Zhao, D. and Mohammed, A. R., 2003. Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany*, 91(7), 817-826.
- Kamal-Eldin, A. and Appelqvist, L.A., 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31(7), 671-701.
- Kapoor, D., Sharma, R., Handa, N., Kaur, H., Rattan, A., Yadav, P. and Bhardwaj, R., 2015. Redox homeostasis in plants under abiotic stress: role of electron carriers, energy metabolism mediators and proteinaceous thiols. *Frontiers in Environmental Science*, 3, 13.
- Kaya, A., 2006. Çukurova'nın taban ve kıraç koşullarında bazı ekmeklik buğday genotiplerinin morfolojik ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kevers, C., Le Gal, N., Monteiro, M., Dommès, J. and Gaspar, T., 2000. Somatic embryogenesis of *Panax ginseng* in liquid cultures: a role for polyamines and their metabolic pathways. *Plant growth regulation*, 31(3), 209-214.
- Kızılaslan, H., 2004. Dünya'da ve Türkiye'de buğday üretimi ve uygulanan politikaların karşılaştırılması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2004(2).
- Korkmaz, H. and Durmaz, A., 2017. Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Karşı Geliştirilen Cevaplar. Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(2), 192-207.
- Koti, S., Reddy, K. R., Kakani, V. G., Zhao, D. and Reddy, V. R., 2004. Soybean (*Glycine max*) pollen germination characteristics, flower and pollen morphology in response to enhanced ultraviolet-B radiation. *Annals of botany*, 94(6), 855-864.
- Laakso, K., Sullivan, J. H. and Huttunen, S., 2000. The effects of UV-B radiation on epidermal anatomy in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant, Cell & Environment*, 23(5), 461-472.
- Láposi, R., Veres, S., Lakatos, G., Olah, V., Fieldsend, A. and Mészáros, I., 2009. Responses of leaf traits of European beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings to supplemental UV-B radiation and UV-B exclusion. *agricultural and forest meteorology*, 149(5), 745-755.
- Lepeduš, H., Gača, V., Viljevac, M., Kovač, S., Fulgosi, H., Šimić, D. and Cesar, V., 2011. Changes in photosynthetic performance and antioxidative strategies during maturation of Norway maple (*Acer platanoides* L.) leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(4), 368-376.
- Levitt, Jacob., 1981. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press, Londra.
- Li, F. R., Peng, S. L., Chen, B. M. and Hou, Y. P., 2010. A meta-analysis of the responses of woody and herbaceous plants to elevated ultraviolet-B radiation. *Acta Oecologica*, 36(1), 1-9.
- Liebler, D.C., 1993. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Critical Reviews in Toxicology*, 23(2), 147-169.
- Liu, Y., Schieving, F., Stuefer, J. F. and Anten, N. P., 2006. The effects of mechanical stress and spectral shading on the growth and allocation of ten genotypes of a stoloniferous plant. *Annals of Botany*, 99(1), 121-130.

- Lo, H. L., Nakajima, S., Ma, L., Walter, B., Yasui, A., Ethell, D. W. and Owen, L. B., 2005. Differential biologic effects of CPD and 6-4PP UV-induced DNA damage on the induction of apoptosis and cell-cycle arrest. *BMC cancer*, 5(1), 135.
- Mackerness, S. A. H. and Jordan, B. R., 1999. Changes in gene expression in response to ultraviolet B-induced stress. *Handbook of plant and crop stress*, ed, 2, 749-768.
- Mackerness, S. A. H., Butt, P. J., Jordan, B. R. and Thomas, B., 1996. Amelioration of Ultraviolet-B-Induced Down-Regulation of mRNA Levels for Chloroplast Proteins, by High Irradiance, is Mediated by Photosynthesis. *Journal of Plant Physiology*, 148(1-2), 100-106.
- Mackerness, S. A. H., John, C. F., Jordan, B. and Thomas, B., 2001. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct roles for different reactive oxygen species and nitric oxide. *Febs Letters*, 489(2-3), 237-242.
- Mackerness, S. H., Jordan, B. R. and Thomas, B., 1999. Reactive oxygen species in the regulation of photosynthetic genes by ultraviolet-B radiation (UV-B: 280–320 nm) in green and etiolated buds of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 48(2-3), 180-188.
- Malá, J., Cvikrová, M., Máchová, P. and Martincová, O., 2009. Polyamines during somatic embryo development in Norway spruce (*Picea abies* [L.]). *Journal of Forest Science*, 55(2), 75-80.
- Manaf, H. H., Rabie, K. A. and El-Aal, M. S. A., 2016. Impact of UV-B radiation on some biochemical changes and growth parameters in *Echinacea purpurea* callus and suspension culture. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 207-216.
- Matsuoka, Y., 2011. Evolution of polyploid Triticum wheats under cultivation: the role of domestication, natural hybridization and allopolyploid speciation in their diversification. *Plant and cell physiology*, 52(5), 750-764.
- McNeil, J.J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M.I., Mc Carty, C.A. and Taylor, H.R., 2004. Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial. *Phthalmology.*, 111(1), 75-84.
- Mendoza, M. G. and Kaeppler, H. F., 2002. Auxin and sugar effects on callus induction and plant regeneration frequencies from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 38(1), 39-45.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. and Mittler, R., 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Mittler, R., 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 11(1), 15-19.
- Munne-Bosch, S., 2005. The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 162, 743-748.
- Munne-Bosch, S., Schwarz, K. and Alegre, L., 1999. Enhanced formation of α tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. *Department de Biologia Vegetal, Universitat da Barcelona. Plant Physiology*, (121), 1047-1057.
- Munné-Bosch, S. and Alegre, L., 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(1), 31-57.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.

- Nahed, G.A., Lobna, T. and Soad, M.I., 2009. Some studies on effect of putresine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nurbaria. *Ocean Journal of Applied Science*, 2(2), 169-179.
- Namli, S., Toker, Z., Isikalan, C. and Özen, H. C., 2009. Effect of UV-C on production of hypericin in *Hypericum triquetrifolium* Turra grown under in-vitro conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, 18(1), 123-128.
- Noga, G. and Schmitz, M., 1998. Antioxidants in higher plants: Biosynthesis, characteristics, actions and specific functions in stress defence. Shaker Verlag, Aachen. ISBN 3-8265-4418-8.
- Ormrod, D. P. and Hale, B. A., 1995. Physiological responses of plants and crops to ultraviolet-B radiation stress. M. Pessarakli (Ed.), 761-770.
- Patnaik, D. and Khurana, P., 2003. Genetic transformation of Indian bread (*T. aestivum*) and pasta (*T. durum*) wheat by particle bombardment of mature embryo-derived calli. *BMC Plant Biology*, 3(1), 5.
- Peer, W. A. and Murphy, A. S., 2007. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators?. *Trends in plant science*, 12(12), 556-563.
- Peer, W. A., Bandyopadhyay, A., Blakeslee, J. J., Makam, S. N., Chen, R. J., Masson, P. H. and Murphy, A. S., 2004. Variation in expression and protein localization of the PIN family of auxin efflux facilitator proteins in flavonoid mutants with altered auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 16(7), 1898-1911.
- Petkov, B. H., Vitale, V., Tomasi, C., Siani, A. M., Seckmeyer, G., Webb, A. R. and Mazzola, M., 2014. Response of the ozone column over Europe to the 2011 Arctic ozone depletion event according to ground-based observations and assessment of the consequent variations in surface UV irradiance. *Atmospheric environment*, 85, 169-178.
- Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P. and Dhawan, A. K., 2011. Developing stress tolerant plants through in vitro selection—an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 89-98.
- Reda, F., Abdel Rahim, E. A., El Baroty, G. S. A. and Ayad, H. S., 2005. Response of essential oils, phenolic components and polyphenol oxidase activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) to some bioregulators and vitamins. *J Agr Biol*, 7, 735-739.
- Ringli, C., Bigler, L., Kuhn, B. M., Leiber, R. M., Diet, A., Santelia, D. and Klein, M., 2008. The modified flavonol glycosylation profile in the *Arabidopsis* roll mutants results in alterations in plant growth and cell shape formation. *The Plant Cell*, 20(6), 1470-1481.
- Riquelme, A., Wellmann, E. and Pinto, M., 2007. Effects of ultraviolet-B radiation on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown under nitrogen deficiency. *Environmental and experimental botany*, 60(3), 360-367.
- Saccà, S. C. and Izzotti, A., 2014. Focus on molecular events in the anterior chamber leading to glaucoma. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(12), 2197-2218.
- Sakhanokho, H. F. and Kelley, R. Y., 2009. Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in *Hibiscus acetosella* and *Hibiscus moscheutos* (cv 'Luna Red'). *African Journal of Biotechnology*, 8(8).

- Santanen, A. and Simola, L. K., 1992. Changes in polyamine metabolism during somatic embryogenesis in *Picea abies*. *Journal of plant physiology*, 140(4), 475-480.
- Sattler, S.E., Gilliland, L.U., Magallanes-Lundback, M., Pollard, M. and Penna, D.D., 2004. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. *The Plant Cell*, 16(6), 1419-1432.
- Sattler, S.E., Mene-Saffrane, L., Farmer, E.E., Krischke, M., Muller, M.J. and DellaPenna, D., 2006. Non-enzymatic lipid peroxidation reprograms gene expression and activates defense markers in *Arabidopsis* tocopherol-deficient mutants. *The Plant Cell* 18(12), 3706–3720.
- Saygılı F., Kaya A. A., Çalışkan T. E. ve Kozal Ö. E., 2018. Türk Tarımının Global Entegrasyonu ve Tarım 4.0. İzmir Ticaret Borsası.
- Searles, P. S., Kropp, B. R., Flint, S. D. and Caldwell, M. M., 2001. Influence of solar UV-B radiation on peatland microbial communities of southern Argentina. *New Phytologist*, 152(2), 213-221.
- Shahidi, F., 1997. *Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications*, Champaign, III ,AOCS Press.
- Siddique, A.B., Ara, I., Islam, S.S. and Tuteja, N., 2014. Effect of air desiccation and salt stress factors on in vitro regeneration of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Signaling and Behavior*, 9(12), e977209.
- Silva, E. N., Ferreira-Silva, S. L., de Vasconcelos Fontenele, A., Ribeiro, R. V., Viégas, R. A. and Silveira, J. A. G., 2010. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. *Journal of Plant Physiology*, 167(14), 1157-1164.
- Singh, J., Gautam, S. and Bhushan, A. P., 2012. Effect of UV-B radiation on UV absorbing compounds and pigments of moss and lichen of Schirmacher oasis region, East Antarctica. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 58(1), 80-84.
- Singh, S., Sarkar, A., Agrawal, S. B. and Agrawal, M., 2014. Impact of ambient and supplemental ultraviolet-B stress on kidney bean plants: an insight into oxidative stress management. *Protoplasma*, 251(6), 1395-1405.
- Smith, J., Burrit, D. and Bannister, P., 2001. Ultraviolet-B radiation leads to a reduction in free polyamines in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Growth Regul.* 35 289–294. 10.1023/A:1014459232710
- Soheila, A. H., 2000. Plant responses to ultraviolet-B (UV-B: 280–320 nm) stress: What are the key regulators?. *Plant Growth Regulation*, 32(1), 27-39.
- Soltani, Y., Saffari, V. R., Moud, A. A. M. and Mehrabani, M., 2012. Effect of foliar application of α -tocopherol and pyridoxine on vegetative growth, flowering, and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. plants. *African Journal of Biotechnology*, 11(56), 11931-11935.
- Staxén, I. and Bornman, J. F., 1994. A morphological and cytological study of *Petunia hybrida* exposed to UV-B radiation. *Physiologia Plantarum*, 91(4), 735-740.
- Steinmetz, V. and Wellmann, E., 1986. The role of solar UV-B in growth regulation of cress (*Lepidium sativum* L.) seedlings. *Photochemistry and photobiology*, 43(2), 189-193.

- Süzer, S. ve Demir, L., 2012. Sırtta ekim sisteminde buğdayda (*Triticum aestivum* L.) en uygun ekim normunun belirlenmesi. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 8(4), 387-392.
- Szarka, A., Balint, T. and Gabor, B., 2012. The ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in abiotic stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(4), 4458-4483.
- Taylor, R. M., Nikaido, O., Jordan, B. R., Rosamond, J., Bray, C. M. and Tobin, A. K., 1996. Ultraviolet-B-induced DNA lesions and their removal in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Plant, Cell & Environment*, 19(2), 171-181.
- Tevini, M., 1994. UV-B effects on terrestrial plants and aquatic organisms. In *Progress in botany* (pp. 174-190). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Torabinejad, J., Caldwell, M. M., Flint, S. D. and Durham, S., 1998. Susceptibility of pollen to UV-B radiation: an assay of 34 taxa. *American Journal of Botany*, 85(3), 360-369.
- TÜİK, 2018. <http://www.tuik.gov.tr> (02.05.2019).
- Wacksman, J.T., 1997. DNA methylation and the association between genetic and epigenetic changes: relation to carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 375(1), 1-8.
- Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.
- Wargent, J. J., Elfadly, E. M., Moore, J. P. and Paul, N. D., 2011. Increased exposure to UV-B radiation during early development leads to enhanced photoprotection and improved long-term performance in *Lactuca sativa*. *Plant, cell & environment*, 34(8), 1401-1413.
- WMO, 2010. <https://www.wmo.int>, Rapor No:52 (14.07.2019).
- Xu, N., Coulter, K. M. and Bewley, J. D., 1990. Abscisic acid and osmoticum prevent germination of developing alfalfa embryos, but only osmoticum maintains the synthesis of developmental proteins. *Planta*, 182(3), 382-390.
- Yurkova, G. N., Levenko, B. A. and Novozhilov, O. V., 1982. Plant regeneration in wheat tissue culture. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 177(4-5), 337-344.
- Zavala, J. A., Scopel, A. L. and Ballaré, C. L., 2001 Effects of ambient UV-B radiation on soybean crops: impact on leaf herbivory by *Anticarsia gemmatilis*. *Plant Ecology*, 156(2), 121-130.
- Zlatev, Z. S., Lidon, F. J. and Kaimakanova, M., 2012. Plant physiological responses to UV-B radiation. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 481-501.
- Zu, Y. G., Pang, H. H., Yu, J. H., Li, D. W., Wei, X. X., Gao, Y. X. and Tong, L., 2010. Responses in the morphology, physiology and biochemistry of *Taxus chinensis* var. *mairei* grown under supplementary UV-B radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 98(2), 152-158.

ÖZGEÇMİŞ

16.09.1991 tarihinde KONYA/Ereğli ilçesinde doğdu. Liseyi Ereğli Anadolu Lisesi'nde bitirdi. Lisans eğitimini 2015 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümünde tamamladı. 2016 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen aynı bilim dalında eğitimine devam etmektedir.

