



**TUZ STRESİ ALTINDAKİ LAHANA
BİTKİSİNDE DNA METİLASYONU
ÜZERİNE PUTRESİNİN ETKİSİ**

Furkan UZUNDUMLU

**Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı
Doç. Dr. Emine ORHAN**

2018

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TUZ STRESİ ALTINDAKİ LAHANA BİTKİSİNDE DNA
METİLASYONU ÜZERİNE PUTRESİNİN ETKİSİ**

Furkan UZUNDUMLU

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı**

**ERZURUM
2018**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

TUZ STRESİ ALTINDA LAHANA BİTKİSİNDE DNA METİLYASYONU
ÜZERİNE PUTRESİNİN ETKİSİ (CRED-RA)

Doç. Dr. Emine ORHAN danışmanlığında, Furkan UZUNDUMLU tarafından hazırlanan bu çalışma 27/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı – Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ **(3/3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

İmza :

Üye: Doç. Dr. Emine ORHAN

İmza :

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Serkan ÖRTÜCÜ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu **12/07/2018** tarih ve **28/27** nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. MEHMET KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FBA-2017-6219

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TUZ STRESİ ALTINDAKİ LAHANA BİTKİSİNDEDNA METİLYASYONU ÜZERİNE PUTRESİNİN ETKİSİ

Furkan UZUNDUMLU

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

Danışman: Doç. Dr. Emine ORHAN

Lahana tür ve çeşitlerinde abiyotik stres koşullarına tolerans ile ilgili çalışmalar yapılmış olsa da bu çalışmalar genellikle tarla, sera ya da saksı denemeleri şeklinde yürütülmüştür. Bu tür çalışmalarda genellikle morfolojik ölçümler ve değerlendirmeler yapılmış olup fizyolojik ve moleküler tespit çalışmalarında eksiklikler bulunmaktadır.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile NaCl uygulamaları (tuz stresi) ve antagonist olarak düşünülen Putresin uygulamaları sonucunda lahana fidelerinin genomunda DNA metilasyonu yönünden herhangi bir değişiklik meydana gelip gelmeyeceği moleküler düzeyde tespit edilmeye çalışılmıştır. Beyaz baş lahana bitkisine (Yalova-1 çeşidi) farklı NaCl ve Putresin konsantrasyonları uygulanmıştır. Bu uygulamalar çimlenme oranı, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, fide gücü indeksi ve çimlenme zamanının varyasyon katsayısı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kullanılan RAPD primerlerinden monomorfik bant veren 8 primer CRED-RA analizinde kullanılmıştır. Her doz için polimorfizm değerleri hesaplanmış ve ortalamalar alınmıştır. Çalışmada kullanılan MspI enzimin metilasyonun olduğu yerden kesim yapması ve HpaII enziminin ise metilasyonun gerçekleşmediği zaman kesim yapması bilgisine dayanarak alınan sonuçlar değerlendirilmiştir. Tek başına NaCl uygulamasında en düşük dozda 27,4 en yüksek dozda ise 39,6 oranında metilasyon oluşurken; tek başına putresin uygulamasında en düşük dozda %32,4 en yüksek dozda ise %20,9 metilasyon gözlenmiştir. Diğer taraftan, Putresin uygulamasının özellikle 100 mM ve daha yüksek tuz konsantrasyonlarında tuzun çimlenme oranı üzerine olumsuz etkisini azalttığı belirlenmiştir.

2018, 45 sayfa

Anahtar Kelimeler: Lahana, tuz stresi, DNA metilasyonu, CRED-RA

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EFFECT OF PUTRESIN ON DNA METHYLATION IN CABBAGE PLANT UNDER SALT STRESS

Furkan UZUNDUMLU

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emine ORHAN

Although studies on tolerance to abiotic stress conditions in cabbage species and varieties have been carried out, these studies have generally been carried out in field and greenhouse pot experiments. In such studies, morphological measurements and evaluations have been made and there are deficiencies in physiological and molecular detection studies.

In this study, it has been attempted to determine at the molecular level whether or not any change in DNA methylation in the genome of the cabbage seedlings will occur with NaCl applications (salt stress) and with Putresin applications which are thought to be antagonists. Different concentrations of NaCl and Putresin were applied to white head cabbage (Yalova-1 variety). Germination rate, root length, shoot length, seedling index and variation coefficient of germination time of these applications was found statistically significant. Eight primers producing a monomorphic band from RAPD primers were used in the CRED-RA analysis. Polymorphism values were calculated for each dose and averages were taken. The results obtained were based on the knowledge that the MspI enzyme used in the study was cut from the site of methylation and the Hpa II enzyme was cut when the methylation was not taking place. At the lowest dose of NaCl alone 27,4% and at the highest dose 39,6% of methylation occurred. In the case of putresin alone, methylation was observed at the lowest dose of 32,4% and at the highest dose of 20,9%. On the other hand, it has been determined that the application of Putresin reduces the negative effect on salt germination rate, especially at salt concentrations of 100 mM and higher.

2018, 45 pages

Keywords: Cabbage, salt stress, DNA methylation, CRED-RA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitkisel Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Bana yaşamım boyunca güvenip desteklerini bir an bile esirgemeyen maddi manevi her zaman destekçim olan başta babam Mehmet Osman UZUNDUMLU'ya, annem Hülya UZUNDUMLU'ya ve ablam Özge UZUNDUMLU'ya sonsuz teşekkürler.

Yüksek lisans tez çalışmamı hazırlarken değerli yardım ve katkılarından dolayı başta saygıdeğer tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Emine ORHAN olmak üzere hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN'a teşekkür ederim.

Tezimi hazırlarken gece gündüz demeden beni yalnız bırakmayan ve bildiği herşeyi bana hiç çekinmeden öğreten değerli arkadaşım Sayın Dr. Öğr. Esma YİĞİDER'e, değerli dostlarım Sayın Yük. Zir. Müh. Safa Mustafa KILIÇ'a ve Sayın Yük. Lis. Öğr. Sedat KARACA'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmamda yardımlarından dolayı Sayın Araş. Gör. Esra ARSLAN'a teşekkür ederim.

Furkan UZUNDUMLU

Haziran, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Bitki materyali ve denemenin kurulması.....	15
3.1.2. Kullanılacak kimyasalların hazırlanışı	16
3.1.2.a. Kullanılan Putresin (Put) solüsyonunun hazırlanışı	16
3.1.2.b. Kullanılan NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı	16
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Morfolojik değerlendirmeler	17
3.2.2. Moleküler analizler.....	17
3.2.2.a. DNA izolasyonu	17
3.2.2.b. DNA konsantrasyonu ve saflığının belirlenmesi.....	18
3.2.2.c. RAPD-PCR analizi	18
3.2.2.d. CRED-RA analizi.....	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	22
4.1. Çimlenme oranı (%)	22
4.2. Kök Uzunluğu (mm)	24
4.3. Sürgün Uzunluğu (mm).....	26
4.4. Fide Gücü İndeksi (SVI)	28
4.5. Ortalama Çimlenme Zamanının Varyasyon Katsayısı (OÇZVK) (%)	30
4.6. CRED-RA Analizleri ve % Polimorfizm	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	38

KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	46



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
cm	Santimetre
L	Litre
mg	Miligram
Mg/lt	Miligram/Litre
mL	mililitre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar

Kısaltmalar

BSA	Bovin serum albümin
CRED-RA	Coupled restriction enzyme digestion-random amplification (=Çift restriksiyon enzimi kesimi ve rastgele çoğaltım)
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
dSAM	Dekarboksile S-adenosil metionin
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FAO	Food and Agriculture Organisation
MSAP	Methyl-Sensitive Amplification Polymorphism (=Metilasyona duyarlı çoğaltım polimorfizmi)
NaCl	Sodyum klorür
PA	Poliamin
PCR	Polimerase Chain Reaction (=Polimeraz zincir reaksiyonu)

Put	Putresin
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (=Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
RE	Restriksiyon enzim
SAM	S-adenozil-L-metionin
TE	Tris EDTA tamponu



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının Yalova-1 çeşidinin çimlenme oranına etki (%) grafiği.....	23
Şekil 4.2. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının Yalova-1 çeşidinin kök uzunluğuna (mm) etki grafiği.....	26
Şekil 4.3. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının Yalova-1 çeşidinin sürgün uzunluğuna etki (mm) grafiği.....	28
Şekil 4.4. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının fide gücü indeks grafiği.....	30
Şekil 4.5. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının ortalama çimlenme zamanı varyasyon kat sayısı grafiği.....	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Yalova F1 lahanası çeşidinin tohumlarına uygulanan tuz (NaCl) ve putresinin miktar ve kombinasyonları	15
Çizelge 3.2. Putresin çözeltilerinin içeriği	16
Çizelge 3.3. NaCl çözeltilerinin içeriği.....	16
Çizelge 3.4. RAPD primerleri ve baz dizilimleri (5' → 3')	19
Çizelge 3.5. CRED-RA analizlerinde kullanılan RAPD primerleri ve baz dizilimleri.....	21
Çizelge 4.1. Yalova-1 lahanası çeşidinde tuz stresi (NaCl) ve putresin uygulamalarının çimlenme oranı üzerine etkisi (%) ¹	22
Çizelge 4.2. Yalova-1 lahanası çeşidinde tuz stresi (NaCl) ve putresin uygulamalarının kök uzunluğu üzerine etkisi (%) ¹	25
Çizelge 4.3. Yalova-1 lahanası çeşidinde tuz stresi (NaCl) ve putresin uygulamalarının sürgün uzunluğu üzerine etkisi (mm) ¹	27
Çizelge 4.4. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının fide gücü indeksi açısından değerlendirmesi.....	29
Çizelge 4.5. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının ortalama çimlenme zamanı varyasyon kat sayısı	31
Çizelge 4.6. NaCl-Put uygulamaları CRED-RA % Polimorfizm	34

1. GİRİŞ

Tarım, topluma iş imkânı sağlaması, ham madde imkânı sunması, beslenmedeki değeri ve geniş yelpazede ticari değere sahip olması bakımından ülkemizde ve dünyada hiçbir zaman önemini yitirmeyecek bir sektördür. Tarımın iki ana unsurundan biri olan bitkisel üretim; gıda, tekstil, yakacak, yapı malzemesi, kozmetik ve sağlık sektöründe canlı materyal üretmek için kullanılır.

Lahana, dünya çapında yetiştirilen en önemli sebzelerden biridir. Lahana; brokoli, karnabahar ve Brüksel lahanasını içeren *Cruciferae* ailesine aittir. Lahana, serin havada en çok yetişen sığ köklü, geniş yapraklı en yaygın lahana grubu bitkilerinden biridir. Batı Avrupa kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Singh *et al.* 2006). Lahananın anavatanı olarak Baltık denizi ve Kuzey Avrupa ülkeleri kabul edilmektedir. Denize olan mesafesi kısa rutubetli bütün Avrupa kıyılarında oldukça geniş bir alan yayılma olmuştur (Deveci ve Tuğcu 2017).

Beyaz baş lahana (*Brassica oleraceae* L. var. *capitata* sub. var. *alba*), *Brassica* cinsi içerisinde yer alan bir sebze türüdür. *Brassica oleraceae* L. türü içerisinde yer alan ve diğerlerinden daha fazla yetiştiriciliği yapılan beyaz baş lahanaya akraba olan diğer lahana grubu varyete ve alt varyeteler ise şunlardır: yabancı lahana (*Brassica oleraceae* var. *silvestris*), yaprak lahana (*B. oleraceae* L. var. *acephala*), kırmızı baş lahana (*B. oleraceae* L. var. *capitata* sub. var. *rubra*), karnabahar (*B. oleraceae* L. var. *botrytis*), brokoli (*B. oleraceae* L. var. *italica*), brüksel lahanası (*B. oleraceae* L. var. *gemmifera*), alabaş (*B. oleraceae* L. var. *gonglodes*), kıvırcık lahana (*B. oleraceae* L. var. *sabauda*) (Günay,1984).

2016 yılı verilerine göre dünya lahana ekim alanı 2,473 milyon ha üretimi 71,259 milyon ton, verim ise 288,117 hg/ha'dır. Türkiye'de lahananın üretim alanı yaklaşık olarak 27,177 ha üretim 785,971 ton, verim ise 289,204 hg/ha'dır (Anonymous 2018).

Zengin besin değerine sahip olan lahana grubu sebze turleri uzun yıllardan beri insan beslenmesinde kullanılmaktadır (Günay 2005). Özellikle sağlık açısından değerli oldukları ifade edilmekte olan bu sebze grubunda turlere gore değişmekle birlikte her 100 gram miktarlarında 2,0-4,6 g karbonhidrat, 0,2-0,6 g yağ, 1,0-4,6 g protein bulunduğu belirtilmektedir. Mineral maddeler (zellikle 300-400 mg potasyum) ve karotenoidler (44,0-41,700 µg) yonnden de zengin oldukları bilinmekte olup bol miktarda B, C ve E vitaminlerini içerdikleri tespit edilmiştir (McDougall 2012). Diğer taraftan, *Brassica* sebzeleri antioksidan aktiviteye sahip olarak bilinen birçok biyoaktif bileşikleri, özellikle antikarsinojenik aktiviteye sahip bileşikleri içermektedir. Bu sebzelerin antioksidan aktivitelerinin flavonoidler ve antosiyaninler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Singh *et al.*2006).

Tiwari *et al.* (2003), lahana bitkisinin 100 gr yenilebilir kısmında 29 mg Ca, 0,8 mg Fe ve 14,1 mg Na içerdiğini bildirmişlerdir.

Samec *et al.* (2017)'e gore, beyaz lahana dünya genelinde bir besin maddesi olarak ve geleneksel tıpta ilaç yapımında kullanılan bir turpgil sebzedir. Lahana gıda maddesi olmasının yanı sıra baş ağrısı, gut, ishal, peptik ülser ve bünyesinde indol-3-karbinol (I3C), sülforafan ve indollerden yararlı fitokimyasalları bulundurmasından dolayı kanserle mücadele eden antioksidanları ve detoks mekanizmasını harekete geçirerek tıpta da geniş bir kullanım alanına sahiptir (Singh *et al.* 2006).

Serin iklim sebzelerinden biri olan beyaz baş lahana, sonbaharın başlangıcı ile ilkbahar sonu arasındaki serin birperiyodaralığında yetiştirilir. Ülkemizde genellikle kışlık olarak yetiştirilen lahana Avrupa da bütün yıl boyunca yetiştirilir. Yaz döneminde erkenci çeşitler bulunmasına rağmen bu dönemdeki sıcaklıkların yüksek olması kaliteye zarar verdiğinden ve yazlık sebzelerin daha yoğun olduğu için bu dönemde yetiştiricilik yapılmamaktadır. Diğer lahana grubu sebzeleri gibi serin iklimden hoşlanan Beyaz baş lahanalar 15,5-21,5°C arasında sıcaklıklar da daha iyi bir şekilde yetiştirilirler. Beyaz başlar lahana genellikle 24°C altında en iyi şekilde oluşurlar. Uygun baş gelişimi için

gece-gündüz arasındaki sıcaklık farkının 5°C olması arzu edilir. Beyaz baş lahana genelde -10°C'ye kadar düşük sıcaklıklara da toleranslıdır (Kar vd 2017).

Lahanalar, toprak konusunda seçici olmamasına rağmen toprağın su tutabilme kapasitesi iyi olmalıdır. Buna ek olarak iyi kalitede yüksek verim için nemli, besin maddesi yüksek, tınlı-killi toprak, organik maddece zengin ve derin topraklar tercih edilir. Lahanaların çoğu tuza dayanıklıdır. Erkeni yetiştiricilik için hafif topraklar, geçi yetiştiricilik için ise ağır topraklar uygundur. Lahanalar için optimum pH 6-6,5 arasındadır. Sonbahar ve kış yetiştiricilikleri için drenajın iyi yapılması şarttır. Ancak, tuzlu topraklarda yetiştirilen lahanaların yaprakları koyu renkli olur ve yaprak kenarları kurur (Anonim 2017).

Aras (2017), *Brassicacinsine* giren lahana grubu türlerden olan yaprak lahananın diğer sebze türleri ile karşılaştırmalı verilen bir çizelgede tuza yüksek toleranslı olduğunu vurgularken; baş lahana, karnabahar ve brokoli türlerinin ise tuza orta düzeyde bir toleransta olduğunu belirtmiştir.

Abiyotik ve biyotik stres etmenlerinin etkisi altında iken ortaya çıkan değişimler 'stres' adı altında ifade edilmektedir. Bitkilerde stres, önemli metabolik ve fizyolojik değişimlere neden olması suretiyle bitkilerde büyümenin ve gelişimin olumsuz şekilde etkilenmesi üründe nitelik ve niceliğin kaybolmasına, bitkinin ve bitki organlarının ölmesine neden olabilmektedir. En önemli stres etmenlerinden birisi olan tuzlu toprak şartları bitkilerin niteliğini ve niceliğini olumsuz etkiler. Bu düşünce değişik ülkelerde özellikle de kurak bölgelerde görülür. Tuzlu topraklarda genellikle Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ve K^+ katyonları ile Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ve CO_3^{2-} anyonları bulunmaktadır. Fiziksel yapısı iyi olan bu topraklarda pH seyrek olarak 8,0'in üzerine çıkmaktadır (Kaçar vd 2006).

Tuzluluk, artan insan nüfusu ile birlikte dünya genelinde tarımsal yetiştiriciliği tehlikeye atan ve besin ürünü üretimini önemli düzeyde azaltan çevresel etmenlerden biri olarak ifade edilmektedir (Botella et al. 2005). Bitkiler üzerindeki tuz stresinin etkileri; bitkinin

çeşidine bağlı olarak değişmekle birlikte verilen tuz çeşidi ile miktarına ve maruz kaldığı süreye bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dajic (2006), tuzlu ortamlarda bitkilerin genotipik farklılıklara bağlı olarak çok farklı cevaplar verdiklerini ifade etmektedir. Tuzluluğa tepki olarak verilen farklı büyüme cevapları sadece farklı iki bitki türü için değil aynı türün farklı çeşitleri için de geçerlidir (Munns 2002).

Dünya topraklarının önemli sorunlarından birisi de tuzluluktur (Kwiatowsky 1998). Akgül (2003)'ün ifade ettiğine göre; dünyada her yıl 10 milyon ha arazinin tuzluluk etkisiyle elden çıkması, sorunun boyutunu daha iyi göz önüne sermektedir.

'Tuz stresi', osmotik etkisi ile su içeriğini kısıtlayan ve iyonik etkisi ile de iyon içeriğinin toksik etki göstermesine neden olan kompleks bir abiyotik streştir (Çulha ve Çakırlar 2011).

Bitkilerde tuz stresi genellikle iki sebeple ortaya çıkar. Çözünmüş tuzların kök etki alanında fazlalığı sonucu osmotik potansiyelin artması önemli nedenlerden birini oluştururken, toksik etki yapan iyon konsantrasyonlarının yüksekliği de öteki nedeni oluşturur. Kimi bitkiler stres koşullarına karşı mekanizmalar oluştururken kimileri de koşullara adapte olurlar. Ancak tuza duyarlı çoğu kültür bitkisi solma gösterirler. İleri aşamalarda yaşamları sona erer ya da önemli ürün yitmesine uğrarlar (Kaçar vd 2006). Larcler (1995)'a göre; tuz stresi bitkilerde bodur büyümeye ve kök büyümesinde azalmaya neden olur. Tomurcuklanma azalır, toprak üstü gelişim olumsuz etkilenir, yapraklar küçülür. Hücrelerin ölmeleri sonucu köklerde, yaprak kenarlarında, tomurcuklarda ve büyüme uçlarında sarı lekeler (nekrozlar) oluşur. Büyüme mevsimi tamamlanmadan sararan yapraklarda kuruma görülür ve en sonunda bitkinin tamamı kurur. Bu durumdaki bitkilerde sitokinin miktarının azaldığı ve absisik asit ile etilen miktarlarının arttığı saptanmıştır.

Türkiye topraklarının toplam 78 milyon hektar olduğu, bunun %36'sının işlenebilir arazi olduğunu bu alanların %3,2'sinin tuzluluk problemine sahip olduğunu belirtmiştir (Çevik 1986).

Tuzluluktan etkilenen ya da etkilenme ihtimali yüksek olan toprakların iyileştirilmesi uzun sürmesi ve pahalı olduğu için bu alanlarda verimli ve başarılı bir üretim için tuza toleransı yüksek olan tür ve çeşitlerin kullanılması büyük bir önem kazanmaktadır. Bitkilerin tuzluluğa tolerans seviyelerinin tespit edilmesi önemlidir. Bozcuk (1991), çevresel stres etmenlerinin bitkinin değişen vejetatif büyüme dönemlerinde farklı etkiler göstermekte olduğunu ifade ederek en yıkıcı ve zararlı etkinin çimlenme döneminde olduğunu bildirmektedir. Bununla birlikte, tuzlu koşullar altında ki tohum çimlenmesinin tam olarak gerçekleşmemesinin sebebine yönelik fizyolojik cevaplar tam olarak aydınlığa kavuşturulmuş değildir (Eroğlu 2007).

Eroğlu (2007)'de bildirildiğine göre; "Tuza dayanıklılık bakımından bitkiler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Cins ve türler arasındaki farklılıkların yanı sıra, aynı türe ait çeşitlerde bile tuza tolerans yönünden farklılıkların bulunduğu bilinmektedir. Bazı kültür bitkilerinin tuza tolerans durumlarına bakıldığında; arpa, pamuk, darı, buğday, şekerpancarı, hurma, ıspanak ve kırmızı pancarın tuza toleranslı (Ec 5-10 dSm-1); guava, mısır, çeltik, şeker kamışı, soya fasulyesi, yarfıstığı, armut, incir, asma, lahana, patates, domates, ayçiçeği, karnabahar, kabakgiller ve tatlı patatesin orta derecede toleranslı (Ec 3-5 dSm-1); mercimek, bezelye, turunçgiller, susam, turp, elma, kayısı, şeftali, ahududu, çilek, fasulye, kereviz ve havucun tuza duyarlı (Ec 1.5-3 dSm-1) oldukları bildirilmektedir (Knott 1966; MaasandHoffman 1977; Greenwayand Munns 1980)".

Karaçay (2009)'a göre, "genlerin ne kadar süre, ne zaman ve nerede çalışacağını belirleyen, DNA'nın diziliminde ve yapısında bir değişim olmadan DNA'da kodlu olan genetik bilginin ortaya çıkmasında oluşan mekanizmaya epigenetik denilmektedir". Zhang (2007) ve Alyeaet al. (2012)'nin belirttiklerine göre; 'Epigenetik' terimi kalıtsal fenotipik değişimlerin çalışmasını ifade eder. Bu terim, genomik damgalama, paramutasyon gibi bir dizi fenomeni kapsar.

Thiman and Palladino (2013)'ya göre; "Epigenom" terimi kromatin yapısındaki modifikasyonları ifade eder. Epigenetik modifikasyonların bazıları geri dönüşümlü iken

bazıları kalıcıdır. Bazı epigenetik modifikasyonlar kalıtsal, bazıları nesilden nesile değişir. Epigenetik modifikasyonlar hem DNA'yı hem de histon proteinleri etkiler. Örneğin, "metilasyon" adı ile bilinen ve genellikle sitozin bazında görülen metil (-CH₃) gruplarının DNA'ya eklenmesi bir epigenetik modifikasyon olduğu gibi histon proteinlerine de metil gruplarının eklenmesi ile bir epigenetik değişim meydana gelebilmektedir. Epigenom gen ekspresyonunu düzenlediği için pek çok biyoteknoloji şirketi bu kavram üzerinde çalışmalarını planlamaktadır.

DNA metillenmesi, adenin veya sitozin bazının yapısına bir metil grubu eklenmesi ile meydana gelir. Metillenme sonucunda 6-metiladenin (6mA) ve 5-metilsitozin (5mC) meydana gelmektedir. Bir organizmanın 5mC içeriğinin türe ve dokuya özgü olduğu ve diğer taraftan hormonlar tarafından düzenlendiği ifade edilmektedir (Vanyushin and Kirnos 1988). Stres koşullarının da metillenme düzeylerini değiştirebildiği ve bazı durumlarda metillenme değişimleri ile gen anlatımının etkilendiği bildirilmiştir (Pavet *et al.* 2006). Diğer taraftan, "Metillenme" ökaryotik canlılarda genomun transpozonlardan korunmasını sağlayan bir gen sessizleşme mekanizması olarak da ifade edilmektedir (Martienssen and Colot 2001).

Temel (2011)'de verilen bilgiye göre; İlk kez 1963 yılında varlığı belirlenen DNA metiltransferaz enzimi, verici S-adenozil-L-metionin (SAM) molekülünden aldığı metil grubunu yeni replike olmuş DNA molekülündeki adenin veya sitozin bazlarına aktarır. Sitozin metillenmesi, transkripsiyonda iş gören proteinlerin DNA'ya bağlanmasını engelleyerek ve metillenmiş DNA'ya bağlanan proteinlerin bağlanmasını sağlayarak, gen anlatımının baskılanmasına ve kapalı kromatin yapısının oluşumuna neden olur. Ökaryotlarda sitozin metillenmesi; dokuya özgü gen anlatımı, X kromozomunun inaktivasyonu, kanser, yaşlanma, gelişim ve genomun stabilitesinin korunması gibi pek çok işlevde etki gösterir (Gold and Hurwitz 1964; Bird 2002).

Metillenmedeki artışın kromozom kırıklarına da neden olabileceği ileri sürülmüştür. Heterokromatin, hemen hemen tüm bitki dokularında metillenmiş durumda bulunmaktadır (Bennetzen *et al.* 1994). Phillips *et al.* (1994) tarafından metillenmede ki

artışın DNA replikasyonunu geciktirebileceğini ve bu durumun kromozom kırıkları gibi anomalilere yol açabileceği düşünülmüştür. Johnson *et al.*(1987)'nin mısır ve yulaf doku kültürlerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda kromozom kırıklarının genellikle heterokromatinde gerçekleştiği bildirilmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu poliaminlerin biyotik ve abiyotik stres mekanizmasında önemli fonksiyonlarının olduğu tespit edilmiştir. Alcazar *et al.*(2010)'ın vurgusuna göre; yapılan çalışmalar farklı bitki gruplarına çeşitli abiyotik streslerin (kuraklık, tuzluluk, sıcaklık, soğuk, ağır metal, ozon, radyasyon, herbisit) uygulanması, poliamin seviyesinin yükselmesine sebep olduğunu göstermiştir. Ancak bu artışın, stres sonrası bitkinin zarar görmesiyle mi arttığı yoksa bitkinin kendini koruma içgüdüleriyle strese cevap niteliğinde mi bu hormonu arttırdığı hususunda net bir bilgiye ulaşılamamıştır. Noceda (2009)'nın bildirdiklerine göre ise; poliaminlerin moleküler düzeyde bitkileri nasıl etkilediğine dair yapılan çalışmalarda, poliaminlerin DNA metilasyonu üzerine de etkili oldukları saptanmıştır. Bu etkileşimin her ikisinin de dSAM (S-adenosilmetiyonindekarboksilaz) ürününün olduğu metabolik yolu kullanmaları ile olabileceği öne sürülmüştür. Nitekim yapılan araştırmalar bu kanıyı doğrulamıştır. *Pinusradiata*'da yaşlanmaya bağlı olarak dSAM seviyesinde bir düşüş görülürken DNA metiltransferaz aktivitesinde ise artış gözlenmiştir. dSAM, DNA metiltransferaz'ın yarışmalı inhibitörüdür. Dolayısıyla dSAM seviyesinin azalmasıyla DNA metiltransferaz'ın aktivitesi artmış ve metilasyon oranı da buna paralel olarak yükselmiştir. Bu sonuca dayanarak dSAM seviyesinin poliamin miktarıyla ve DNA metilasyonu ile ilişkili olduğu kanısına varılmıştır (Arslan2012).

Bir aminoasit türevi olan poliaminler; Spermin, Kadaverin, Spermidin ve Putresin olmak üzere dört tipi mevcuttur. Bunlardan Kadaverin ve Putresin bir diamin olup Spermidin bir triamin ve Spermin ise bir tetraamin'dir (Liu *et al.* 2000). Poliaminlerin hücre içerisindeki seviyelerindeki artış özellikle susuzluk, tuzluluk, asit stresi, potasyum eksikliği, oksijen yokluğu ve çevresel streslere karşı yanıt olarak ortaya çıkmaktadır (Flores and Galston 1989).

Yıldız vd (2017)'de belirtildiği üzere; Poliaminlerin harici uygulaması stres koşullarında bitki büyüme ve gelişmesini önemli ölçüde iyileştirmiştir(Roychoudhury *et al.* 2011; Xu *et al.*2011; Shi *et al.* 2013). Dışarıdan poliamin uygulamaları, abiyotik strese karşı cevaplarını kapsayan genlerin bir elisitörü olarak etki etmektedir (Gilland and Tuteja 2010).Ali (2000), harici Putresin uygulamasının tuz stresine maruz kalan *Atropabelladonna*'nın organlarında Na⁺ ve Cl⁻iyonlarının birikimini azalttığını bildirmiştir. Putresin (Put), çimlenme ve erken fide büyümesi sırasında NaCl'nin olumsuz etkisini azaltmış ve *A. belladonna*'nın içsel Putresini kadar alkaloidlerini de arttırmıştır. Lutts *et al.* (1996), Putresinin *Oryzasativa*'nın tuzluluk uygulanmış tüm çeşitlerinde yaprak canlılığını ve büyümeyi arttırdığını bildirmiştir.

Bu çalışmada, tuz stresi altındaki lahana bitkisinde DNA metilasyonu üzerine putresinin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, tuz stresi için NaCl uygulamaları ve antagonist olarak düşünülen Putresin uygulamaları sonucunda lahana genomunda DNA metilasyonu olup olmadığı moleküler düzeyde tespit edilmeye çalışılmıştır. Böylece, morfolojik ölçüm sonuçlarına daha kesinlik ve güvenilirlik kazandırılması hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya genelinde, ekonomik değeri yüksek olan domates, biber, fasulye, mısır, buğday, yonca, pamuk gibi birçok tarımsal üründe tuz stresine toleranslılık ile ilgili gerek morfolojik ve fizyolojik gerekse sitolojik ve moleküler düzeyde çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Örneğin; Al-Lawati *et al.* (2016)'nın yaptıkları bir çalışmada Yonca bitkisi kullanılmış olup tuza dayanıklı bir çeşit ile birlikte 11 yerel çeşit 0-8-12-20 dS/m değerlerinde tuz çözeltilerine maruz bırakılmıştır. Yapılmış olan DNA analizi ve metilasyona duyarlı çoğaltım polimorfizmine yönelik MSAP analizleri sonucunda artan tuz konsantrasyonu ile birlikte bitki DNA'sında metilasyon derecesinin arttığı tespit edilmiş olmakla birlikte bitkinin gelişimi ile morfolojik özellikleri üzerinde olumsuz etkiler bıraktığı da tespit edilmiştir.

Wang *et al.* (2016), pamuk bitkisinde tuzluluk etkisini araştırdıkları bir çalışmada, hibrit çeşit (CCRI29) ile birlikte her iki ebeveynine 100 mL NaCl solüsyonu uygulaması yapmışlardır. Metilasyon seviyesi değişimini tespit etmek amaçlı gerçekleştirdikleri çalışmada MSAP analizi sonucunda tuzluluk şartlarındaki hibrit çeşitte ebeveynlere göre belirgin seviyede bir metilasyon artışı olduğu tespit edilmiştir.

Farklı bitki türlerinde (ıspanak, marul, kavun, biber, brokoli, pancar ve domates) tuzluluğun etkilerini tespit etmek amacıyla çimlenme oranı, fide büyümesi, etilen üretimi solunum oranı ve poliamin seviyesi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Kontrol uygulaması (1 mM NaCl) ve 100 ya da 150 mM NaCl uygulamaları altında tohum çimlendirmesi yapılmıştır. Ispanak haricindeki türlerde fide ağırlığı ve çimlenme yüzdesi tuzlulukla azalma göstermiştir. Çimlenme oranı üzerine tuzluluğun en düşük etkisi marulda tespit edilmiştir. Ispanak hariç tüm türlerde tuzluluk artışıyla birlikte solunum oranının artış gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan, etilen üretiminde ise bazı türlerde artış gözlenirken diğerlerinde azalış tespit edilmiştir (Zapata *et al.* 2004).

Yine, Zapata *et al.* (2007)'ın yaptıkları bir çalışmada, farklı bitki türlerinin vejetatif gelişmesinin erken evrelerinde etilen metabolizması üzerine tuz uygulamasının (100 mM) etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, biber (*Capsicum annum* L. cv Pairal), domates (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Malpica), Brokkoli (*Brassica oleraceae* L. var. Italica Plenck cv Marathon F1), marul (*Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam cv Inverna), kavun (*Cucumis melo* L. cv Ruano F1, Rochetype), fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. cv Gator Green 15), ıspanak (*Spinacia oleraceae* L. cv Boeing) ve pancar (*Beta vulgaris* L. var. *crassa* cv Detroit) türlerini kullanmışlardır. Tuz uygulaması sonrasında etilen üretimi biber sürgünlerinde 4,2 kat artış göstermiş olup önemli artışlar domates, brokoli ve fasulyede de tespit edilmiştir. Ayrıca, tuzluluk ile kavun, ıspanak ve pancar türlerinde sürgün etilen üretiminde azalış olduğu da belirlenmiştir. Köklerde ise, tuzluluğun genel etkisi, özellikle brokoli ve fasulyede etilen üretiminde azalış şeklinde tespit edilmiştir. Domates köklerinde etilen üretimi keskin bir artış göstermiştir. Gerçekleştirilen bu çalışma ile çalışılan türlerin çoğunda tuz uygulaması sonucunda; genellikle etilen biyosentezinde önemli olan toplam ACC konsantrasyonunun hem sürgün hem de köklerde arttığı tespit edilmiştir. Örneğin, biber sürgünleri tuz uygulamasına çok duyarlı bulunmuş olup sürgün büyümesinde azalışın yanında ACC konsantrasyonu en yüksek (8,5 kat) tür olarak kaydedilmiştir. Pancar ise tuzluluktan en az etkilenen tür olarak belirlenmiş ve tuz uygulaması sonrası ACC oranının etkilenmediği belirlenmiştir.

Lahana grubu sebze türlerinde de tuzluluğa toleranslılık ve hassasiyet konusunda çok sayıda morfolojik değerlendirme ile birlikte fizyolojik düzeyde çalışmalar yapılmıştır. Giuffrida *et al.* (2017)'ın yapmış olduğu bir çalışma ile karnabaharın (*Brassica oleraceae* var. *botrytis*) büyüme ve gelişmesi ile ilişkili olarak düşük kalitede su ile yapılan sulamanın en uygun olduğu büyüme döneminin tespiti amaçlanmıştır. Büyüme dönemi olarak, fide dikiminden çiçeklenmeye kadar olan büyüme dönemi ile çiçeklenmeden baş hasadına kadar olan büyüme dönemi esas alınmış ve bu iki büyüme döneminde tuzlu su ile sulama yapılmıştır. Tuzluluk, özellikle ilk büyüme dönemi için etkili olup büyümede azalışa neden olmuştur. Tuz içermeyen su ile sulama sonucunda

ise, her iki büyüme döneminde de tuzluluğun oluşturduğu hem toksik etki hem de osmotik etkide azalış tespit edilmiştir.

Lahana grubu bitki türlerinden birisi olarak tanınan Şalgam bitkisinde (*Brassica rapa*), Jan et al. (2016)'ın yapmış oldukları bir çalışmada, 0-50-100-150 mmol konsantrasyonlarında NaCl'ün sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, prolin, klorofil a, klorofil b ve klorofil (a+b) üzerine etkileri çalışılmıştır. Çalışma sonucunda, artan tuz konsantrasyonunun sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve klorofil a, b, a+b miktarı üzerine azaltıcı etkisi belirlenirken; prolin miktarı üzerine ise arttırıcı etki yaptığı tespit edilmiştir.

Sun et al. (2016), turp bitkisini 48 saat boyunca 0-100-200 mM NaCl konsantrasyonlarında tutmuşlardır. Bitkide metabolik, biyosentez ve sinyal iletiminde meydana gelen değişiklikleri miRNA düzeyinde araştırmışlar ve sonuç olarak 200 mM NaCl seviyesinin bitki üzerine sınırlayıcı bir etkide bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Reich et al. (2017)'in Şalgam (*Brassica rapa*) bitkisinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada, şalgam fidelerinde farklı tuzların anyonlarının toksisite etkisi araştırılmıştır. Şalgam fidelerine NaCl, Na₂SO₄, KCl ve KSO₄ uygulanmıştır. Tuzların neden olduğu farklı iyonik ve osmotik stresi belirlemek için biomass üretimi, stomatal direnç ve Fv/fm değerleri ölçülmüştür. Mineral besin kompozisyonu ICP-AES ile anyon içeriği HPLC ile, sülfat taşıyıcıları ve sülfür asimilasyon enzimlerinin gen ekspresyonu RealTime-PCR ile analiz edilmiştir. Na₂SO₄, büyümede NaCl'ye göre daha fazla geciktirici etki yapmıştır. KSO₄, NaCl'ye göre büyümede daha fazla miktarda azalışa neden olmuştur. Bitki dokularındaki mineral besin maddesi içeriği ile tuzluluk toksisitesi arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Sürgünlerin Ca, Mg, P içeriği Na₂SO₄ uygulaması ile kuvvetli bir azalış göstermiştir. Sülfat taşıma ve sülfür asimilasyonundan sorumlu proteinleri kodlayan genlerin ifade seviyesi farklı tuz uygulamalarında farklı etkide tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, *Brassica rapa*'da Na₂SO₄'ün toksisite etkisi NaCl'den daha yüksek oranda tespit edilirken benzer şekilde KSO₄'ün toksisite etkisinde KCl'den daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

Kolza (*Brassica napus* ssp. *oleifera* L.), yağ şalgamı (*Brassica campestris* L.) ve lahana (*Brassica oleracea* L.) türlerine ait tohumların çimlenmesi ve sürgün çıkışı üzerine NaCl'ün etkilerini belirlemek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Capitol, Bristol ve Orkan kolza çeşitleri ile Agat, Mammut ve Harmoni yağ şalgamı, Mohrenkopf, Bayraklı ve Yalova-1 lahana çeşitlerinde farklı tuz yoğunlukları (0, 5, 10 ve 20 dS/m NaCl) kullanılmıştır. Sonuç olarak, tür ve çeşitlerin NaCl yoğunluklarına farklı tepkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Türler içerisinde yağ şalgamı NaCl yoğunluklarından en az etkilenen tür olmuştur. 10 dS/m'ye kadar hem çimlenmede hem de fide gelişiminde ciddi azalmalar olmadığı saptanmıştır. Bu ilaveten NaCl seviyeleri çimlenmeden çok fide gelişimini olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır. 20 dS/m NaCl uygulamasında çalışmadaki tüm tür ve çeşitlerde belirgin bir etkilenme tespit edilmiştir. Örneğin, Yalova-1 lahana çeşidinde kontrol uygulamasında çimlenme yüzdesi ve çıkış değerleri kontrolde sırasıyla %89,3 ve %93,3 iken 20 dS/m NaCl uygulamasında sırasıyla %80,0 ve %70,7 olarak tespit edilmiştir. Fide gelişimi değerlendirmelerinden olan kök uzunluğu, sürgün uzunluğu ve bitki yaş ağırlığı değerleri kontrol grubunda sırasıyla 5,4 cm, 5,63 cm ve 57,4 mg/bitki olarak kaydedilirken; 20 dS/m NaCl uygulamasında bu değerler 3,57 cm, 2,83 cm ve 38,9 mg/bitki olarak belirlenmiştir (Kaya vd 2005).

Gu *et al.* (2016)'nın yaptığı bir çalışmada, Lahana (*Brassic aoleracea* L.) fidelerine litrede 0-4-5-6 gram deniz tuzu solüsyonu uygulanmış ve bitkinin büyümesi ile kök, sap ve yapraklarda ki iyon taşınması ve dağılımındaki değişim belirlenmeye çalışılmıştır. Deniz tuzunun, lahana fidelerinin sap ve yapraklarında Mg^{2+} konsantrasyonunu artırıcı etkisi tespit edilmiştir. Kök, gövde ve yapraklarda ki Na^+ ve Cl^- konsantrasyonunda da artış belirlenmiştir.

Sanoubar *et al.* (2016), White (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.) ve Savoy (*Brassica oleracea* var. *Sabauda* L.) isimli iki kıvırcık lahana varyetesinde bir çalışmayapmışlardır. Bu çalışmada, tuz stresine yanıt ile ilgili olarak morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal elementlerin fonksiyonları gibi değerlendirmeler esas alınmıştır. İki deney kurulmuş olup birinci deneyde 13 farklı tuz konsantrasyonu (0-300

mmol/L NaCl aralığında) denenmiştir. İkinci deneyde ise 0, 100 ve 200 mmol/L NaCl olmak üzere 3 konsantrasyon esas alınmıştır. Çalışma sonucunda birinci deney ile 100 mmol/L NaCl ve 200 mmol/L NaCl olmak üzere iki tuz konsantrasyonu eşik değeri belirlenmiştir. İkinci deneyde ise, 100 mmol/L NaCl uygulamasının Savoy varyetesinin verimi üzerine White varyetesine göre daha düşük oranda bir etki yaptığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, yine 100 mmol/L NaCl uygulaması ile antioksidatif enzim aktivite değerleri bakımından Savoy varyetesinde daha yüksek değerler tespiti olmuştur. Tuz stresi altında doku osmotik düzenleyicilikte iyon birikiminin anahtar belirleyici olduğu (özellikle Savoy varyetesinde) ifade edilmiştir.

Tuğcu (2016) tarafından yaprak lahanası (karalahana) yerli çeşidinin (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Yerli) kullanıldığı bir çalışmada, değişik vejetasyon zamanlarına kadar uygulanan farklı tuz yoğunluklarının morfolojik, fizyolojik ve kimyasal değişikliklere karşı olan etkileri tespit edilmiştir. Deneme de 0, 50, 100 ve 200 mM NaCl uygulaması, iki farklı uygulama zamanı için (8 gerçek yapraklı ve hasat dönemine kadar) test edilmiştir. Çalışma sonucunda, ele alınan farklı vejetatif dönemlerden hasat dönemine kadar tuz uygulaması ile yaprak hücrelerinde membran zararlanması, yaprak sıcaklığı ve hasar indeksi kriterlerinde en yüksek ortalamalara ulaşılmıştır. Farklı tuz yoğunlukları sonucunda ele alınan verilerden yaprak hücrelerinde membran zararlanması, yaprak sıcaklığı ve hasar indeksi miktarlarının tuz stresi arttıkça arttığı belirlenmiştir. Diğer tüm kriterlerde, tuzun 0 mM'dan 200 mM'edöğru artmasıyla ortalamaların azaldığı tespit edilmiştir. Yaprak su potansiyeli açısından tuz konsantrasyonu arttıkça gün ortası yaprak su potansiyelinin (Ψ_{go}) düştüğü yani yaprakların su stresinin arttığı sonucuna varılmıştır.

Deveci ve Tuğcu (2017), yaprak lahanası bitkisinin yerli çeşidinde yaptıkları bir araştırmada NaCl uygulamasını bitkinin 4-5 yapraklı döneminde uygulamaya başlayarak 8 yapraklı hasat dönemine kadar sürdürmüşlerdir. Uyguladıkları 0, 50, 100, 150, 200 mM NaCl konsantrasyonlarına göre yaprak ağırlığı (gr), yaprak nisbi su içeriği (%), yaprak sayısı (adet), hasar indeksi, yaprak kalınlığı (mm), yaprak alanı (cm²) değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda NaCl konsantrasyonları ile

hasar indeksi arasında doğru orantılı bir şekilde arttığı, diğer kriterlerin ise tuzluluğun 0 mM'dan 100 mM'ye artması ile azaldığını tespit etmişlerdir.

Çin lahanasında molibdenin tuz stresi altında uygulanması, taze ağırlığı önemli ölçüde artırmış; süperoksitdismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini önemli ölçüde iyileştirmiş; glutasyon (GSH), karotenoid (CAR) ve askorbik asit (ASA) gibi enzimatik olmayan antioksidanların içeriklerini önemli ölçüde artmıştır. Çözünür şeker, çözünebilir protein ve prolin gibi düşük moleküllü osmotik ayar ürünlerinde de önemli bir artış olduğu dahası, molibden potasyum iyonu (K^+) içeriğini ve azalan sodyum iyonu (Na^+) içeriğini önemli ölçüde arttırmış, bu da sonunda K^+/Na^+ oranlarını iyileştirmiştir. Bu çalışma, molibden uygulamasının, aktif oksijeni ve osmotik ayarlama yeteneğini ortadan kaldırma kapasitesini artırarak Çin lahanasında tuz stres toleransını arttırdığını göstermiştir (Zhang *et al.* 2012).

Jamil *et al.* (2007), lahana (*Brassica oleracea acapitata*), karnabahar (*Brassica oleracea botrytis*) ve kanola (*Brassica napus*) gibi *Brassica* türleri için çimlenme ve erken fide büyümesi sırasında tuzluluk toleransını araştırmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Özellikle $14.1 \text{ dS m}^{-1} NaCl$ 'de, tüm türlerin kök ve sürgün uzunluğu önemli ölçüde azalmıştır. Üç bitki türünün büyüme hızı, tüm tuzluluk seviyelerinde kök büyümesine kıyasla daha fazla etkilenmiştir. Kök ağırlığı, yaprak alanı ve yaprak sayısı da tüm tuzluluk işlemlerinde ciddi şekilde etkilenmiştir.

Salmon *et al.* (2008)'un yapmış oldukları bir çalışmada, *Brassica oleraceae* türlerinde DNA metilasyonu üzerine MSAP tekniği ile yapmış oldukları tespitlerde yüksek oranda metilasyondan bahsetmişlerdir. Çşitlere göre değişmekle birlikte DNA metilasyonunu MspI enzimi kullanımında %52-60 oranında ve HpaII enzimi kullanımıyla % 17-27 oranında ifade etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali ve denemenin kurulması

Bitki materyali olarak Yalova-F1 adlı beyaz baş lahana çeşidinin ticari olarak piyasada bulunan tohumlarından faydalanılmıştır. Çalışmada farklı konsantrasyonlarda tuzluluk şartı (0, 50, 100, 150, 200 mg/L NaCl) oluşturulmuştur. Bu ortamlara farklı konsantrasyonlarda putresin ilave edilerek farklı kombinasyonlar denenmiştir. Böylece farklı tuzluluk seviyelerinin tohum çimlenmesi ve oluşacak olan fideler üzerine olan etkileri ile birlikte putresinin tuzlu koşullardaki etkisinin ne olacağı tespit edilmeye çalışılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Yalova F1 lahana çeşidinin tohumlarına uygulanan tuz (NaCl) ve putresinin miktar ve kombinasyonları

NaCl (mM)	Putresin (mM)
0	0,00
50	
100	
150	
200	
0	0,01
50	
100	
150	
200	
0	0,10
50	
100	
150	
200	
0	1,00
50	
100	
150	
200	

3.1.2. Çözeltilerin hazırlanması

Araştırmada kullanılan çözeltilerin kimyasal içerikleri aşağıda verilmiştir.

3.1.2.a. Putresin (Put) çözeltisinin hazırlanışı

Putresinin 0-0,01-0,1-1,0 mM'lık çözeltilerinin içerikleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Putresin çözeltilerinin içeriği

Putresin doz	Putresin (mg)
0 mM	1000 ml saf su
1 mM	88,15 mg Put
0,1 mM	8,815 mg Put
0,01 mM	0,8815 mg Put

3.1.2.b. Kullanılan NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı

Tuz stresi oluşturmak için 1 M NaCl (1 litrede 58,4 g NaCl) stok solüsyonu hazırlanmış olup Çizelge 3.3'de farklı konsantrasyonlarda ki NaCl içerikleri verilmiştir.

Çizelge 3.3. NaCl çözeltilerinin içeriği

Konsantrasyon (mM)	1 M NaCl (mg/l)
0	0
50	50
100	100
150	150
200	200

3.2. Yöntem

3.2.1. Morfolojik değerlendirmeler

Başlatılan deneme, günlük olarak takip edilerek düzenli kayıtlar alınmıştır. Günlük olarak çimlenen tohum sayısı her bir uygulama için kaydedilmiştir. Deneme sonunda çimlenme gösteren tohumlardan elde edilmiş olan fidelerde kök uzunluğu, sürgün uzunluğu ve kök sayımı gibi morfolojik ölçüm ve değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir. Morfolojik ölçümlerde 0.05 mm duyarlı milimetrik dijital kumpas (Mitutoyo, Absolute, CD-15CPX) kullanılmıştır.

3.2.2. Moleküler analizler

3.2.2.a. DNA izolasyonu

Farklı tuzluluk şartları ve putresin uygulamalarının kombinasyonlarını temsil edecek bitki örnekleri sıvı azot ile parçalandıktan sonra bu örneklerde Li and Quiros (2001)'in DNA izolasyon protokolü aşağıdaki adımlarda gerçekleştirilmiştir.

- Çalışma anında hazırlanmış DNA ekstraksiyon tamponu önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda bekletilir. Bitki materyaline ilave edilmeden önce ekstraksiyon tamponuna %0,2 (v/v) oranında β -merkaptoetanol ilave edilir.
- Daha sonra sıvı azotta parçalanıp 2ml'lik tüplere alınan 0,3 g bitki materyali üzerine 1000 μ l DNA ekstraksiyon tamponu eklenir ve alt üst ederek karıştırılır. Önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda her 10 dk'da alt üst edilip karıştırılarak 60 dk. bekletilir.
- Su banyosu aşamasından sonra 10 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılır ve bu süre sonunda her örneğe 750 μ l kloroform izoamil alkol eklenerek tüm örnekler 15 dk. yavaşça alt üst etme işlemi ile karıştırılır.

- 14000 g ve 24°C’de 20 dk. santrifüjleme yapılır ve üst faz yeni bir tüpe aktarılır. Alınan oranda kloroform izoamil eklenir.
- 14000 g ve 4°C’de 20 dk. santrifüjleme yapılır ve üst faz dikkatli bir şekilde yeni bir tüpe aktarılır.
- Üst faza 2,5 µl RNaz ve 8 µl proteinaz K eklenir ve 45 dk. 37°C’de bekletilir.
- DNA’yı çöktürmek için her tüpe 100 µl amonyum asetat, 100 µl sodyum asetat (3M), ve hacmin iki buçuk katı kadar -20°C’de muhafaza edilen izopropanol eklenir. Yavaşça alt üst etme işlemi yapılır ve bu esnada DNA gözlenir.
- 14000 g ve 4°C’de 20 dk. santrifüjleme yapılır ve üst faz atılır. Tekrar 1 dk. santrifüj yapılarak kağıtta ters çevrilerek kurutulur.
- 37°C’de 15 dk. kurutulur ve üzerine 100 µl 1× TE eklenir.
- 24 saat +4°C’de dinlendirildikten sonra kullanılıncaya kadar -20°C’de saklanır.

3.2.2.b. DNA konsantrasyonu ve saflığının belirlenmesi

İzolasyon sonrasında izole olan DNA’ların miktarı ve kalitesi optik dansite (OD) ile kontrol edilmiştir. Bunun için 260 (OD₂₆₀) ve 280 (OD₂₈₀) nanometre optik dansitede ki spektrofotometre nanodrop okumaları yapılmıştır. Çalışmadaki örneklerin DNA miktar ve saflıkları belirlenmiştir.

3.2.2.c. RAPD-PCR analizi

Çalışmada, toplam 32 RAPD primeri denemiştir (Çizelge 3.4). Bunun için aşağıda açıklanan RAPD-PCR adımları gerçekleştirilmiştir.

0,2 ml’lik PCR tüplerinin her birine, 3 ml 10X PCR tamponu, 1,8 ml BSA (10 mg/ml), 1,2 ml dNTP (10 mM), 1,2 ml MgCl₂ (25 mM), 3 ml DNA (100 ng/ml), 1,2 ml primer (5 µM), 0,4 ml 5 Unit/ml Taq DNA polimeraz ve 17,4 ml saf su ilave edilerek hacim 30 ml’ye tamamlanmıştır. Buharlaşma olmaması için her reaksiyon tüpüne mineral yağ damlatılmıştır. Bu işlemlerin ardından örnekler PCR Thermal Cycler cihazına

yerleştirilmiştir. PCR döngüsü: 2 dakika 95°C; 4 döngü olacak şekilde sırasıyla 30 saniye 95°C, 1 dakika 37°C, 2 dakika 72°C’de tutma; 41 döngü olacak şekilde sırasıyla 30 saniye 94°C, 1 dakika 35°C, 2 dakika 72°C’de işlem; son olarak 5 dakika 72°C’de tutma ile sürecin tamamlanması şeklinde olmuştur. PCR örnekleri 4°C’de muhafaza edilerek çalışılmıştır.

Çizelge 3.4. RAPD primerleri ve baz dizilimleri (5’ → 3’)

Primer	Baz sırası (5’ → 3’)	Primer	Baz sırası (5’ → 3’)
OPW01	CTCAGTGTCC	OPA13	CAGCACCCAC
OPW04	CAGAAGCGGA	OPH14	ACCAGGTTGG
OPW05	GGCGGATAAG	OPH16	TCTCAGCTGG
OPW06	AGGCCCGATG	OPH17	CACTCTCCTC
OPW07	CTGGACGTCA	OPH18	GAATCGGCCA
OPW08	GACTGCCTCT	OPH19	CTGACCAGCC
OPW11	CTGATGCGTG	OPY01	GTGGCATCTC
OPW13	CACAGCGACA	OPY06	AAGGCTCACC
OPW17	GTCCTGGGTT	OPY07	AGAGCCGTCA
OPW18	TTCAGGGCAC	OPY08	AGGCAGAGCA
OPW20	TGTGGCAGCA	OPY11	AGACGATGGG
OPA01	CAGGCCCTTC	OPY13	GGGTCTCGGT
OPA02	TGCCGAGCTG	OPY15	AGTCGCCCTT
OPA04	AATCGGGCTG	OPY16	GGGCCAATGT
OPA06	GGTCCCTGAC	OPB08	GTCCACACGG
OPA12	TCGGCGATAG	OPB10	CTGCTGGGAC

PCR işleminden sonra örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür ve oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Jel içerisinde %1,5 konsantrasyon olacak şekilde agaroz tartılıp 0,5X Tris-Borate EDTA (TBE) tamponu içerisinde mikrodalga fırında hazırlanmış ve içerisine 0,5 mg/ml olacak miktarda Ethidium bromid eklenmiştir. Hazırlanan jel, örneklerin yükleneceği

kuyucuklar için tarak yerleştirilerek hazırlanan elektroforez tankına dökülmüş ve jel donduktan sonra her bir kuyucuğa ayrı bir örnek (3 ml bromfenol mavisi + 7 ml PCR ürünü) yüklemesi yapılmıştır. Jelin ilk kuyucuğuna elektroforez işlemi sonucunda oluşacak bantların doğru şekilde yorumlanmasını sağlayacak olan 1 kb DNA markör (Ladder, 0,5-10 kb) yüklenmiştir. Elektrik akımı verilerek 70 Volt değerinde 150 dakika süre ile DNA'lar elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez tankından çıkarılan jel, görüntüleme cihazında UV ışık altında incelenerek fotoğrafı çekimleri yapılmıştır.

3.2.2.d. CRED-RA analizi

DNA'ların restriksiyon enzimleri ile kesilmesi

Genomda metilasyon özelliklerinin gözlenmesi için; MspI (Promega) ve HpaII (Promega) enzimleri kullanılmıştır. Bu işlem için 0,5ml'lik tüpe son hacmi 20µl olacak şekilde 16,3µl sterile su, 2µl RE 10XBuffer, 0,2µl BSA (10µg/µl), 1µl DNA (1µg/µl), 0,5µl Restriksiyon enzimi ilave edilmiştir. Enzim kesimi için tüpler 37°C'de ki etüvde 4 saat inkübe edilmiştir. Enzim aktivitesini durdurmak için etüvde 65°C'de 15 dakika bir bekletme işlemi yapılmıştır. Elde edilen ürünleri kontrol etmek amacıyla 4µl alınarak 1µl 6X yükleme tamponuyla karıştırıldıktan sonra %1'lik agaroz jelde 70V'da yürütme yapılmış ve görüntüleme sistemiyle görüntüler değerlendirilmiştir.

CRED-RA primerleri

Enzimlerle kesim işlemi sonrasında RAPD primerler kullanılarak metilasyon tespiti üzerinde durulmuştur. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri Çizelge 3.4'de verilen primerlerden ön çalışmalarla denenerak belirlenmiş olup özellikle monomorfik bant veren primerler kullanılmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5.CRED-RA analizlerinde kullanılan RAPD primerleri ve baz dizimleri

Primer Adı	Baz dizilimi (5'→ 3')
OPB-8	GTCCACACGG
OPB-10	CTGCTGGGAC
OPW-4	CAGAAGCGGA
OPW-8	GACTGCCTCT
OPW-17	GTCCTGGGTT
OPW-18	TTCAGGGCAC
OPY-8	AGGCAGAGCA
OPY-16	GGGCCAATGT



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Çimlenme oranı (%)

Lahana tohumlarının çimlenme oranı üzerine tuz stresinin ve putresin uygulamasının ana etkileri ve bunların interaksiyonlarının etkisinin çok önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

Tuz stresi altında en yüksek çimlenme oranında NaCl konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalma meydana gelmiştir. Stresiz şartlarda çimlenme oranı %99,1 olarak belirlenmiş, bu oran 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl uygulamalarında sırasıyla %96,9, %82,7, %59,9 ve %5,1 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Diğer taraftan, putresin uygulaması çimlenme oranını pozitif yönde etkilemiştir. En yüksek çimlenme oranı %71,8 ile 0,1 mM putresin (Put) uygulamasında elde edilirken bunu sırasıyla %70,9 ile 1 mM Put, %66,9 ile 0,01 Put ve %65,4 ile 0,0 mM Put uygulamaları takip etmiştir.

Çizelge 4.1. Yalova-1 lahana çeşidinde tuz stresi (NaCl) ve putresin uygulamalarının çimlenme oranı üzerine etkisi (%)¹

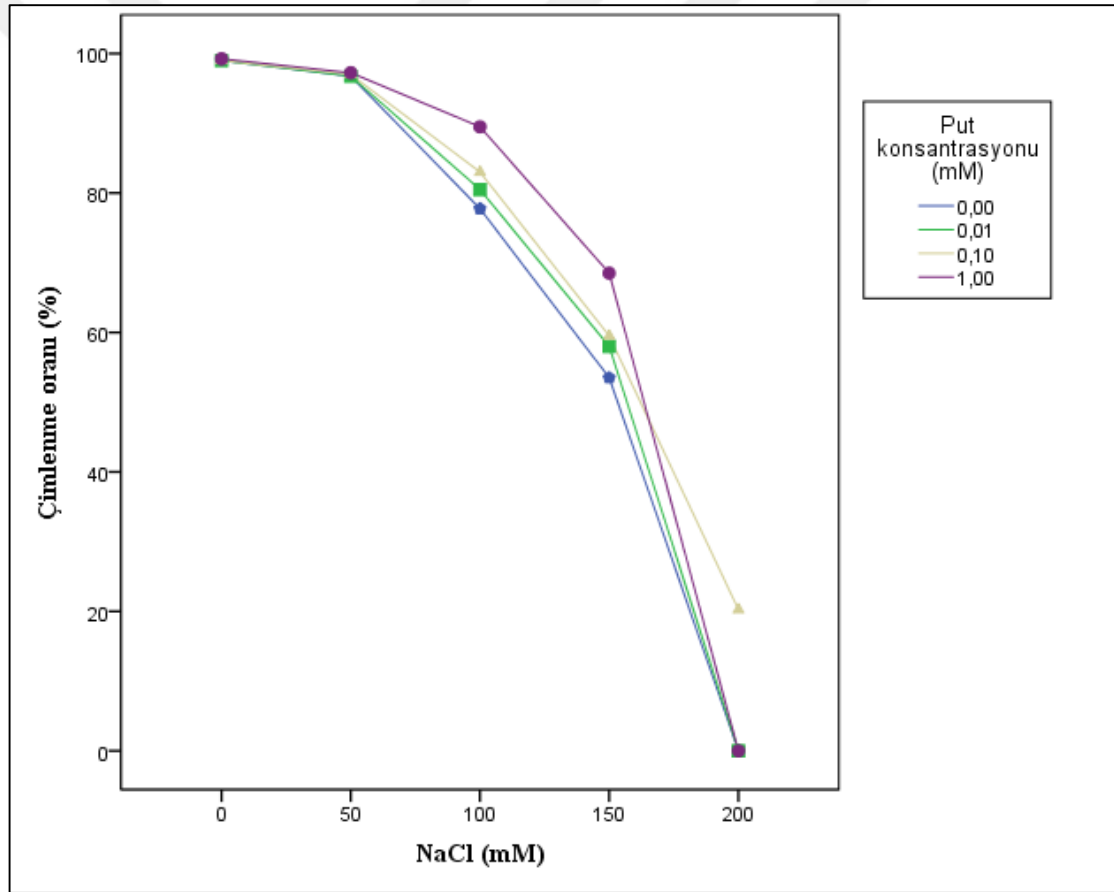
Putresin (mM)	NaCl (mM)					Ortalama
	0	50	100	150	200	
0,00	99,0	96,8	77,8 ^d	53,5 ^c	0,0 ^b	65,4 ^d
0,01	99,0	96,8	80,5 ^c	58,0 ^b	0,0 ^b	66,9 ^c
0,10	99,0	97,0	83,0 ^b	59,5 ^b	20,3 ^a	71,8 ^a
1,00	99,3	97,3	89,5 ^a	68,5 ^a	0,0 ^b	70,9 ^b
Ortalama	99,1^A	96,9^B	82,7^C	59,9^D	5,1^E	
F Değeri (Putresin) (P)	1,0 ^{öd}	0,333 ^{öd}	64,573**	111,706**	6561,00**	250,132**
F Değeri (NaCl) (N)	-	-	-	-	-	31872,511**
F Değeri (PXN)	-	-	-	-	-	158,181**
Varyasyon Katsayısı (%)	0,8	0,9	1,5	1,78	15,5	1,3

¹: Aynı sütundaki farklı küçük harfle ve aynı satırdaki farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ihtimal seviyesinde önemlidir.

** : Çok önemli ($p<0,01$)

öd: Önemsiz ($p>0,05$)

Çimlenme oranı üzerine tuz stresinin etkisi Put uygulamasına göre değişiklik göstermiştir (Şekil 4.1). Put uygulamasının 0 ve 50 mM NaCl önemli etki göstermezken; 100, 150 ve 200mM NaCl uygulamalarındaki etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur. 0, 50, 100 ve 150 mM NaCl uygulamalarında en yüksek çimlenme oranı 1,0 mM Put uygulamasında elde edilirken, 200 mM NaCl uygulamasında ise 0,1 mM Put uygulamasında elde edilmiştir. Putresin uygulamasının özellikle 100 mM ve daha yüksek tuz konsantrasyonlarında tuzun çimlenme oranı üzerine olumsuz etkisini azalttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının Yalova-1 çeşidinin çimlenme oranına etki (%) grafiği

4.2. Kök Uzunluğu (mm)

Çizelge 4.2 incelendiğinde kök uzunluğu (mm) üzerine tuz stresinin ve putresin uygulamasının ana etkileri ve bunların interaksiyonlarının etkisinin çok önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir.

Tuz stresi altında çimlenen bitkilerin kök uzunlukları değişen tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Stressiz şartlarda (0 mM) 51,56 mm olan kök uzunluğu, 50 mM NaCl uygulamasında 64,50 mm olarak belirlenmiş ve bu dozda kök uzunluğunda artış gözlenmiştir. Buna karşın 0 ve 50 mM NaCl uygulamalarına göre 100, 150, 200 NaCl uygulamalarında kök uzunluğunda azalma belirlenmiş ve bu dozlarda kök uzunluğu sırasıyla 51,62mm, 50,15mm, 0,15mm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Putresin uygulamasının ana etkisi incelendiğinde ise Put uygulamasının kök uzamasını teşvik ettiği; en yüksek kök uzunluğunun 1mM Put konsantrasyonunda (47,45 mm) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). Bu değer 0,1mM Put uygulamasında 42,78 mm, 0,01mM Put uygulamasında 43,23 mm ve 0,0 Put uygulamasında ise 40,92 mm olarak tespit edilmiştir.

Kök uzunluğu üzerine tuz stresinin etkisi Put uygulamasına göre değişiklik göstermiştir (Şekil 4.2). Kök uzunluğu üzerine putresin uygulamasının 50 ve 200 mM NaCl'deki etkisi istatistiksel olarak önemsiz olurken ($p>0,05$), 0, 100 ve 150mM NaCl uygulamalarındaki etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur. 0, 100 ve 150 mM NaCl uygulamalarında en yüksek kök uzunluğu 1 mM Put uygulamasında elde edilirken, 50 mM NaCl uygulamasında 0,01 mM Put uygulamasında, 200 mM NaCl uygulamasında ise 0,1 mM Put uygulamasında elde edilmiştir (Şekil 4.2). Özellikle putresin uygulamasının 100 ve 150 mM tuz konsantrasyonlarında tuzun kök uzunluğu üzerine olumsuz etkisini azalttığı belirlenmiştir.

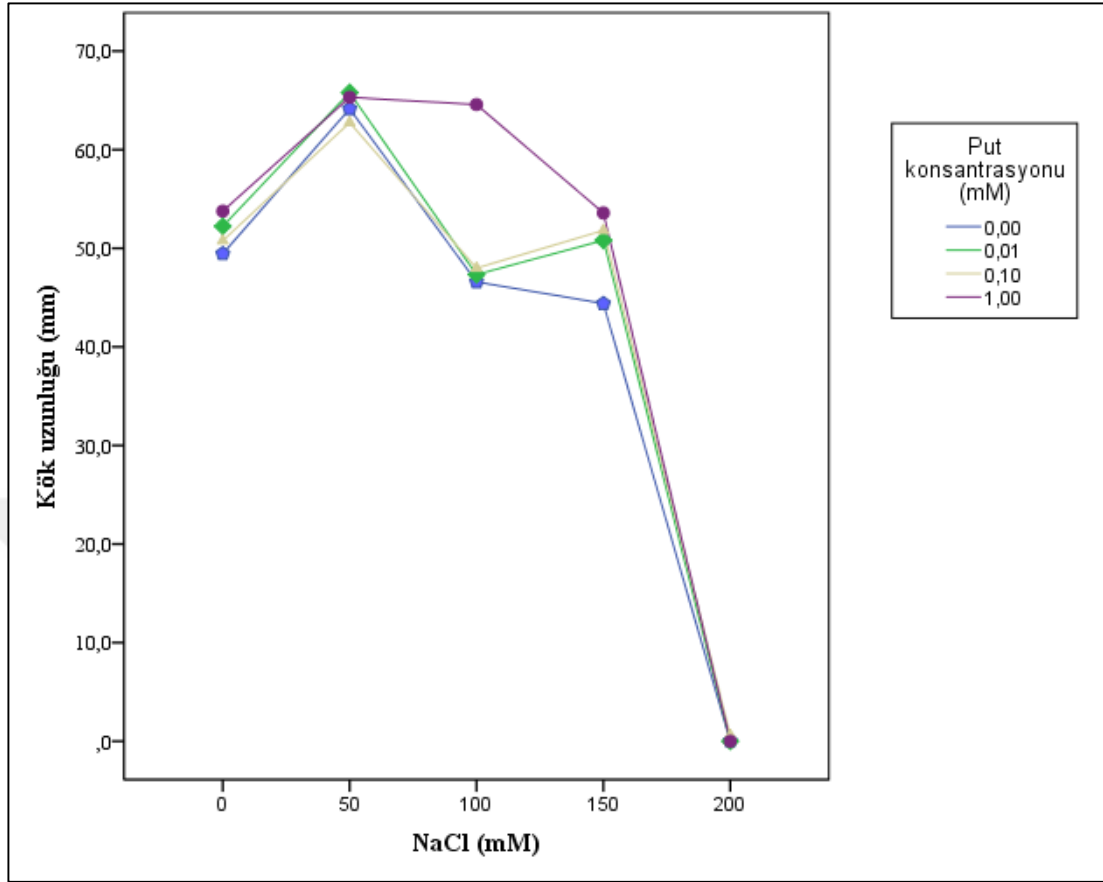
Çizelge 4.2. Yalova-1 lahanası çeşidinde tuz stresi (NaCl) ve putresin uygulamalarının kök uzunluğu üzerine etkisi (%)¹

Putresin (mM)	NaCl (mM)					Ortalama
	0	50	100	150	200	
0,00	49,45 ^c	64,14	46,60 ^b	44,39 ^b	0,00	40,92^c
0,01	52,24 ^{ab}	65,79	47,33 ^b	50,81 ^a	0,00	43,23^b
0,10	50,77 ^{bc}	62,75	47,98 ^b	51,82 ^a	0,60	42,78^b
1,00	53,77 ^a	65,31	64,58 ^a	53,58 ^a	0,00	47,45^a
Ortalama	51,56^B	64,50^A	51,62^B	50,15^C	0,15^D	
F Değeri (Putresin) (P)	7,435**	1,438 ^{öd}	66,029**	14,158**	0,0 ^{öd}	47,317**
F Değeri (NaCl) (N)	-	-	-	-	-	3104,705**
F Değeri (PXN)	-	-	-	-	-	18,152**
Varyasyon Katsayısı (%)	2,65	3,50	4,12	4,24	0,1	4,10

¹: Aynı sütundaki farklı küçük harfle ve aynı satırdaki farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ihtimal seviyesinde önemlidir.

** : Çok önemli (p<0,01)

öd: Önemsiz (p>0,05)



Şekil 4.2. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının Yalova-1 çeşidinin kök uzunluğuna (mm) etki grafiği

4.3. Sürgün Uzunluğu (mm)

Sürgün uzunluğu (mm) üzerine tuz stresinin ve putresin uygulamasının ana etkileri çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

Tuz stresi altında çimlenen bitkilerin sürgün uzunlukları değişen tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Stressiz şartlarda sürgün uzunluğu 35,22 mm iken 50 mM NaCl konsantrasyonunda 38,70 mm'ye çıkmıştır. 100, 150, 200 NaCl konsantrasyonlarında ise sürgün uzunluğu konsantrasyon artışına zıt bir tepki göstererek bu dozlardaki sürgün uzunluğu sırası ile 32,88 mm, 28,61 mm ve 0,29 mm olarak belirlenmiştir. Putresin miktarlarındaki değişiklik sürgün uzunluğunda da değişikliklere sebep olmuştur. 0,0mM Put uygulamasında 23,88mm olan sürgün

uzunluğu Put uygulamasıyla artmıştır. Sürgün uzunluğu 1 ve 0,01 mM Put uygulamalarında 28,94mm olarak belirlenirken, 0,1mm Put uygulamasında ise 26,80 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Yalova-1 lahanada çeşidinde tuz stresi (NaCl) ve putresin uygulamalarının sürgün uzunluğu üzerine etkisi (mm)¹

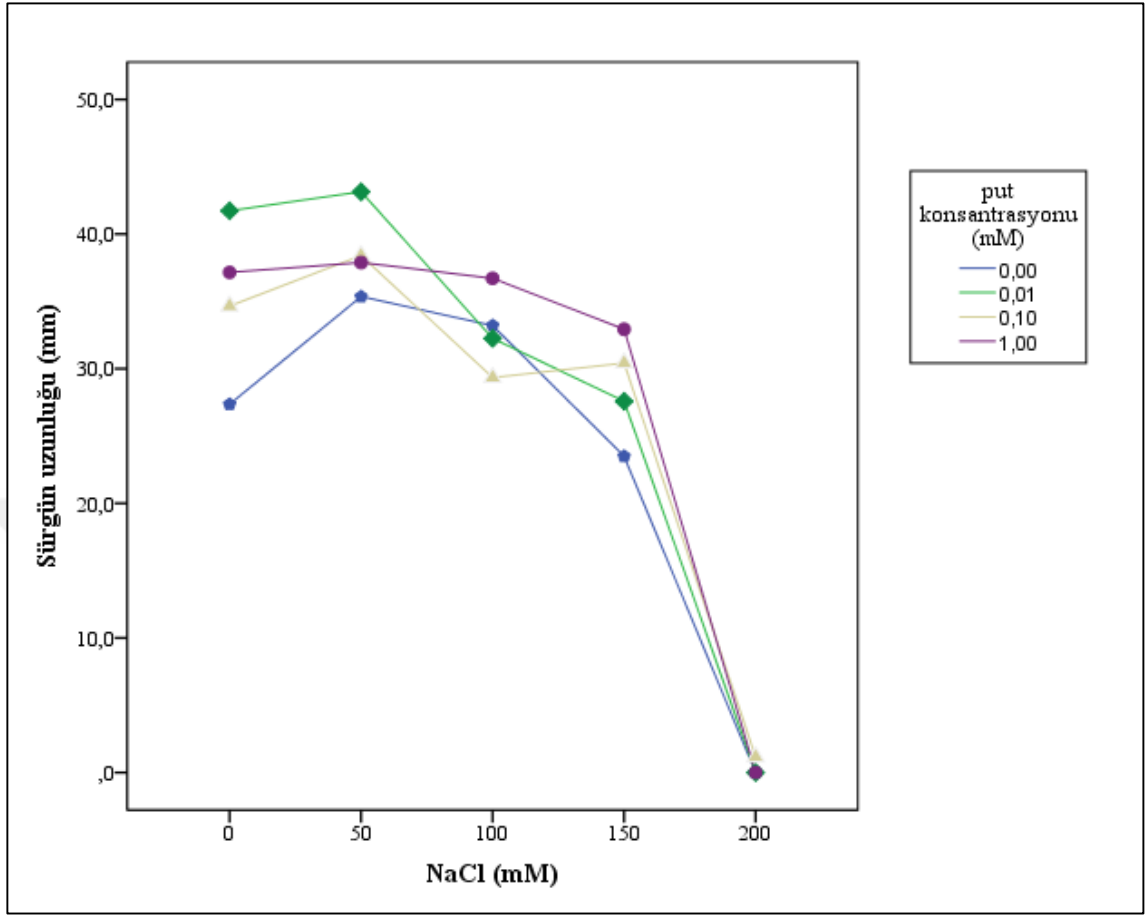
Putresin (mM)	NaCl (mM)					Ortalama
	0	50	100	150	200	
0,00	27,36 ^c	35,36 ^c	33,21 ^b	23,50 ^c	0,00 ^b	23,88 ^c
0,01	41,73 ^a	43,14 ^a	32,25 ^b	27,58 ^b	0,00 ^b	28,94 ^a
0,10	34,65 ^b	38,40 ^b	29,35 ^c	30,42 ^a	1,16 ^a	26,80 ^b
1,00	37,15 ^b	37,88 ^b	36,71 ^a	32,93 ^a	0,00 ^b	28,94 ^a
Ortalama	35,22^B	38,70^A	32,88^C	28,61^D	0,29^E	
F Değeri (Putresin) (P)	20,810**	26,161**	31,688**	20,752**	5592,23**	44,520**
F Değeri (NaCl) (N)	-	-	-	-	-	1483,381**
F Değeri (PXN)	-	-	-	-	-	17,062**
Varyasyon Katsayısı (%)	7,47	4,17	3,54	11,04	0,1	5,9

¹: Aynı sütundaki farklı küçük harfle ve aynı satırdaki farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ihtimal seviyesinde önemlidir.

** : Çok önemli (p<0,01)

öd: Önemsiz (p>0,05)

Sürgün uzunluğu üzerine tuz stresinin etkisi Put uygulamasına göre değişiklik göstermesi PxN interaksiyonunun etkisinin çok önemli çıkmasına neden olmuştur (Çizelge 4.3) (Şekil 4.3). Putresin uygulamasının 0, 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl uygulamalarındaki etkisi çok önemli (p<0,01) olmuştur. 0 ve 50 mMNaCl uygulamalarında en yüksek sürgün uzunluğu 0,01 Put uygulamasında elde edilirken, 100 ve 150 mM NaCl uygulamasında 1 mM Put uygulamasında elde edilmiştir. Diğer taraftan 200 mM NaCl uygulamasında ise sadece çimlenmenin gerçekteştiği 0,1 mM Put uygulamasında elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının Yalova-1 çeşidinin sürgün uzunluğuna etki (mm) grafiği

4.4. Fide Gücü İndeksi (SVI)

En yüksek SVI için putresin tedavisinin farklı seviyelerinde karşılaştırma yapıldığında 1mM putresin diğerlerine oranla daha iyi sonuç vermiştir. NaCl konsantrasyonu yönünden bakıldığında ise 50mM NaCl değerinde en yüksek sonuç elde edilmiştir. NaClxPut eşleşmesinde en yüksek SVI değeri 50mM NaCl X 0,01mM putresin uygulamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Putresin uygulaması 0, 50, 100, 150, 200 mM NaCl için çok önemli ($p < 0,01$) etki göstermiştir.

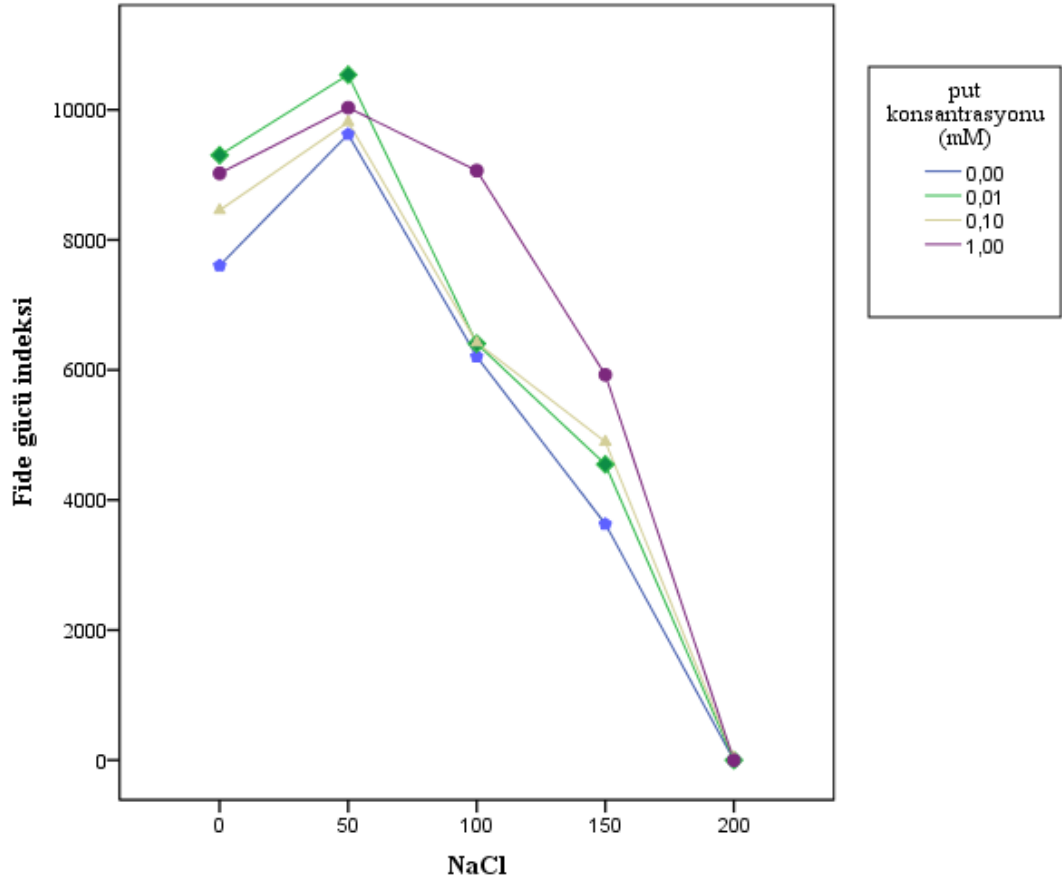
Çizelge 4.4. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının fide gücü indeksi açısından değerlendirilmesi

Putresin (mM)	NaCl (mM)					Ortalama
	0	50	100	150	200	
0,00	7604,2c	9624,7c	6205,5b	3629,9c	0,0b	5412,9d
0,01	9302,5a	10539,2a	6404,8b	4548,1b	0,0b	6158,9b
0,10	8456,6b	9811,9bc	6419,2b	4894,4b	35,6a	5923,5c
1,00	9023,8a	10033,0b	9065,0a	5924,6a	0,0b	6809,3a
Ortalama	8596,8B	10002,2A	7023,6C	4749,3D	8,9E	6076,2
F Değeri (Putresin) (P)	24,462**	11,265**	133,979**	70,018**	6898,582**	132,145**
F Değeri (NaCl) (N)						4818,607**
F Değeri (PXN)						35,391**
Varyasyon Katsayısı (%)	3,52	2,35	3,33	4,77	4,81	3,71

¹: Aynı sütundaki farklı küçük harfle ve aynı satırdaki farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ihtimal seviyesinde önemlidir.

** : Çok önemli (p<0,01)

öd: Önemsiz (p>0,05)



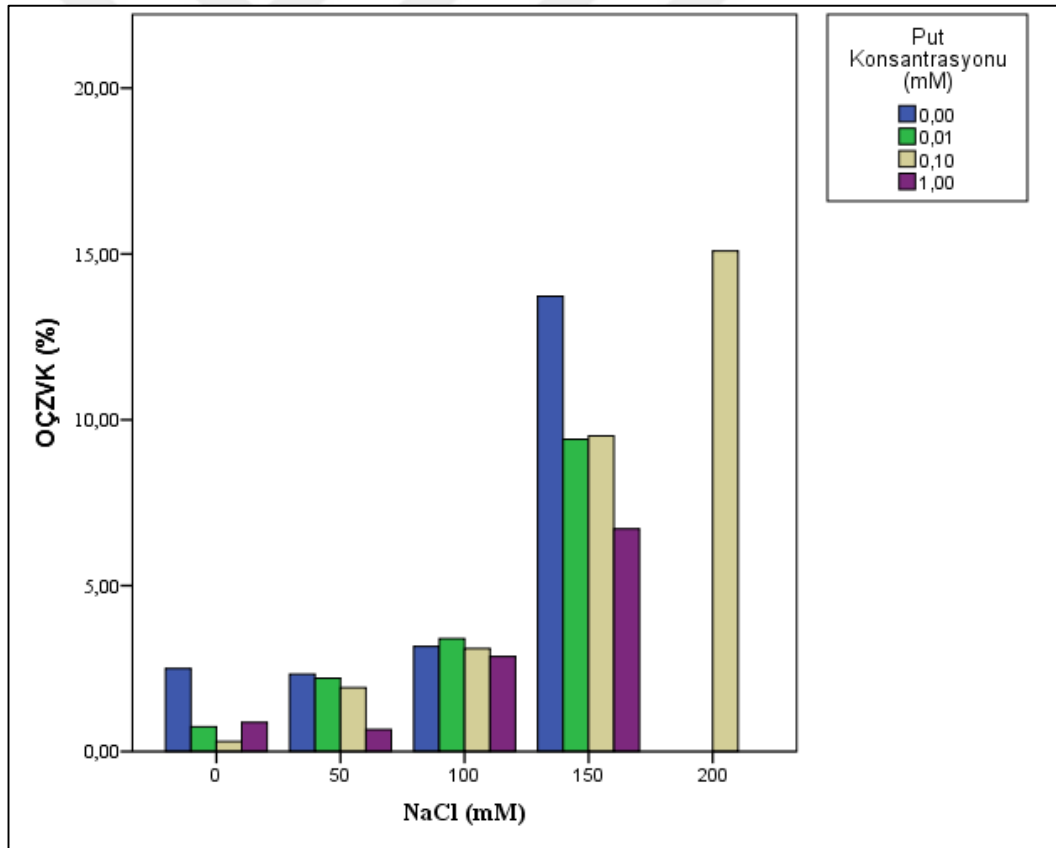
Şekil 4.4. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının fide gücü indeks grafiği

4.5. Ortalama Çimlenme Zamanının Varyasyon Katsayısı (OÇZVK) (%)

Ortalama çimlenme zamanı varyasyon kat sayısı putresin konsantrasyonu ile ters orantılı olarak azalmaktadır. Ancak NaCl konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Varyasyon katsayısındaki azalmanın anlamı çimlenmenin birbirini takip eden günlerde daha sık ve yüksek oranda olduğunu gösterir. Çizelge 4.5'e göre en iyi çimlenme durumu 0 NaCl X 0,10 Put eşleşmesinde gözlenmiştir.

Çizelge 4.5. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının ortalama çimlenme zamanı varyasyon kat sayısı

Putresin (mM)	NaCl (mM)				
	0	50	100	150	200
0,00	2,50	2,33	3,17	13,73	-
0,01	0,74	2,21	3,40	9,42	-
0,10	0,30	1,92	3,11	9,51	15,09
1,00	0,88	0,66	2,86	6,71	-



Şekil 4.5. Tuz stresinin (NaCl) ve putresin uygulamasının ortalama çimlenme zamanı varyasyonu kat sayısı grafiği

4.6. CRED-RA Analizleri ve % Polimorfizm

Putresin ve NaCl konsantrasyonları, beyaz baş lahanada bitkisinin Yalova-1 çeşidine uygulanarak genomu üzerine epigenetiksel değişiklikleri test etmek amacıyla önce 32 sonra bunlardan 16 adet primer denenmiş ve bunların içinden 8 tanesi monomorfik bant vermesi sonucu CRED-RA analizinde kullanılmıştır. Her doz için polimorfizm değerleri hesaplanmış ve ortalamaları alınmıştır. % polimorfizm değerini hesaplamak için; $100 \cdot a/n$ formülü kullanılmıştır. DNA metilasyonunun olduğu gözlenmiştir. Msp I enzimin metilasyonun olduğu yerden kesim yapması ve Hpa II enziminin ise metilasyonun gerçekleşmediği zaman kesim yapması bilgisine dayanarak alınan sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

Tek başına NaCl uygulaması en düşük dozda %27,4 en yüksek dozda ise %39,6 oranında metilasyon oluştururken (Çizelge 4.6), tek başına put uygulaması en düşük dozda %32,4 en yüksek dozda ise %20,9 oranda metilasyon tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

En düşük NaCl dozu olan 50 mM NaCl ile birlikte verilen 0,01mM, 0,1mM, 1mM put dozlarında oluşan polimorfizm yüzdesi sırasıyla %29,9, %28,8, %27,0'dır. Bu değerler bize stresin oluşturduğu metilasyon oranını artıran putresinin azalttığı göstermektedir (Çizelge 4.6).

100 NaCl dozunda ise putresin uygulamalarının gösterdiği polimorfizm değerleri ise sırasıyla %33,1, %30,9, %29,1 oranları ile azalış göstermiştir (Çizelge 4.6).

En yüksek NaCl dozu olan 150 NaCl ile birlikte uygulanan 0,01 mM, 0,1 mM, 1 mM putresin dozlarında ise oluşan polimorfizm yüzdesi sırasıyla %35,2, %31,6, %30,6 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Fakat yapılan analiz de en yüksek NaCl ve en yüksek put kombinasyonunda ki metilasyonun (%30,6) tek başına 150 NaCl'nin oluşturduğu orandan (%39,6) bile düşük olduğu tespit edilmiştir.



Çizelge 4.6. NaCl-Put uygulamaları CRED-RA % Polimorfizm

Primerler (5'→3')	Toplam bant sayıları		+/-	Polimorfik Bantlar											
	Kontrol			0 mM PUT 50 mM NaCl		0 mM PUT 100 mM NaCl		0 mM PUT 150 mM NaCl		0,01 mM PUT 0 mM NaCl		0,1 mM PUT 0 mM NaCl		1 mM PUT 0 mM NaCl	
	MspI	HpaII		MspI	HpaII	MspI	HpaII	MspI	HpaII	MspI	HpaII	MspI	HpaII	MspI	HpaII
OPB-8	7	7	+	1306	2667	2667	2612	2612	2667	2612	-	-	-	2769	-
	Class III		-	1547	2437	2376	2437 1376	2376	2437	2376	324	2376	935	3046	-
OPB-10	2	2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Class IV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OPW-4	7	7	+	5173	525	7086 3197	-	6234 5000 1673	6785 3000 1635	1772 474	7086 2815	320 384	-	282	
	Class III		-	5370	2101	7701 2644	2101	7701 2644	2101	848	6499 5086	7701 6499	7701	-	
OPW-8	5	5	+	2790	-	-	-	-	959 716	2790 662	-	1649 2892	1799	-	
	Class I		-	3113	-	-	-	-	1446 905	3113 905	-	3113 1690	3113	-	
OPW-17	4	4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Class I		-	-	-	-	-	-	-	-	-	1000 507	1085	806	-

Çizelge 4.6. (devam)

Primers (5'→3')	Toplam Bant Sayısı		Polimorfik Bantlar												
	Kontrol		+/-	0 mM PUT 50 mM NaCl		0 mM PUT 100 mM NaCl		0 mM PUT 150 mM NaCl		0,01 mM PUT 0 mM NaCl		0,1 mM PUT 0 mM NaCl		1 mM PUT 0 mM NaCl	
	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>		<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>MspI</i>	<i>MspI</i>	<i>MspI</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>
<i>OPW-18</i>	5	5	+	2000	-	-	3640	547	4540	4000	1281	-	287	340	-
			-	1736	1707	1248 1000 692	-	1248 1000	1707	1000	1707	1736	1707	1756	862
	<i>Class III</i>			<i>Class II</i>		<i>Class II</i>		<i>Class II</i>		<i>Class I</i>		<i>Class III</i>		<i>Class II</i>	
<i>OPY-8</i>	5	5	+	1594 1438	1879 1617 1418	2456;2222 1571;1418	2163;1865 1617;1428	2456;2222 2051;1626 1418	2789;2456 2163;1556	2767 2434	2567 2284 1602	1564	1617	2369	2456
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1357	1357	-
	<i>Class IV</i>			<i>Class IV</i>		<i>Class I</i>		<i>Class II</i>		<i>Class III</i>		<i>Class I</i>		<i>Class I</i>	
<i>OPY-16</i>	7	7	+	1478 1318 1000	1521 1318 1000	1521 1341 1062	1563 1411 1084	1563 1388 1000	1563 1341	1607 1411	1607 1411	1563 1223	1563 1246	-	-
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Class III</i>			<i>Class I</i>		<i>Class I</i>		<i>Class II</i>		<i>Class I</i>		<i>Class I</i>		<i>Class I</i>	
Polimorfizm (%)				27,4	22,4	33,5	24,9	39,6	39,2	32,4	24,9	27,6	27	20,9	6,7

Çizelge 4.6. (devam)

Primers (5'→3')	Toplam Bant Sayısı		Polimorfik Bantlar																			
	Kontrol		0,01 mM PUT 50 mM NaCl		0,1 mM PUT 50 mM NaCl		1 mM PUT 50 mM NaCl		0,01 mM PUT 100 mM NaCl		0,1 mM PUT 100 mM NaCl		1 mM PUT 100 mM NaCl		0,01 mM PUT 150 mM NaCl		0,1 mM PUT 150 mM NaCl		1 mM PUT 150 mM NaCl			
	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	<i>HpaII</i>		
OPB-8	7	7	+/-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			-	2376 305	2437 324	864 305	1000 324	305	324	2376 305	2437 324	305	935	305	935	2376	2437	2376	2437	3046	2437 2376	
	Class III		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class II			
OPB-10	2	2	+/-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Class IV		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I			
OPW-4	7	7	+/-		2101	10000	-	320	256	256	474	6499	-	-	-	-	-	-	-	2101	256	
			-	7701	6499	7701	-	-	-	7701	2487	525	-	525	517	848	-	-	-	848	-	
	Class III		Class I		Class I		Class I		Class I		Class II		Class IV		Class II		Class I		Class II			
OPW-8	5	5	+/-		2361	-	1649	2892	1833	3354	2603	716	1883	3609	1799	3113	2694	702	1740	3232	1833	3113
			-	3113	-	3113	1690	3113	1690	3113	1446	3113	1690	3113	1690	3113	1690	3113	905	3113	1690	3113
	Class I		Class II		Class I		Class I		Class II		Class I		Class II		Class I		Class I		Class I		Class II	
OPW-17	4	4	+/-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			-	-	-	871	1085	806	1074	-	-	1000	1085	1000	1085	1000	1085	1000	1074	-	-	
	Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I			

Çizelge 4.6. (devam)

Toplam Bant Sayısı		Polimorfik Bantlar																					
		Kontrol		0,01 mM PUT 50 mM NaCl		0,1 mM PUT 50 mM NaCl		1 mM PUT 50 mM NaCl		0,01 mM PUT 100 mM NaCl		0,1 mM PUT 100 mM NaCl		1 mM PUT 100 mM NaCl		0,01 mM PUT 150 mM NaCl		0,1 mM PUT 150 mM NaCl		1 mM PUT 150 mM NaCl			
Primers (5'→3')		Kontrol		0,01 mM PUT 50 mM NaCl		0,1 mM PUT 50 mM NaCl		1 mM PUT 50 mM NaCl		0,01 mM PUT 100 mM NaCl		0,1 mM PUT 100 mM NaCl		1 mM PUT 100 mM NaCl		0,01 mM PUT 150 mM NaCl		0,1 mM PUT 150 mM NaCl		1 mM PUT 150 mM NaCl			
		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII		MspI HpaII			
OPW-18	5	5	+		234	1315 234	297	340	340	319	265 234	287	351 234	382	361 234	382	276 234	-	276	-	786	372	
			-		1000	1707	1736	1707	1736	1707	1736	1169	1736	1707 1169	1736	1707 1169	1736	1707 1169	1736 1000 692	1707;1169 1000;652 106	1736 1000 692	1707 1000	1736
	Class III		Class III		Class I		Class I		Class I		Class I		Class III		Class III		Class I		Class I		Class II		
OPY-8	5	5	+		2478	2656 2243 1428	2105	1814 1428	2396	2456 1586	2854 2522 1428	2478 2202	2391	2434 1626	2456	1609 1428	2369	-	2500 2105 1428	2369	2500 2434	2369	
			-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	1234	2678 1255	1234	-	-	-	1983-	-	1983	1234
	Class IV		Class I		Class II		Class I		Class II		Class III		Class II		Class II		Class II		Class II		Class II		
OPY-16	7	7	+		1607	1607 1411 1129	1456	1478 1223 960	1521	1521 1270 906	1584 1411	1584 1411	1500	1456	-	1563	1630 1584	1607 1584	1478	1456	1563 1478	1584	
			-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	--	--	--	--
	Class III		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class I		Class III		Class I		Class I		Class II		
Polimorfizm(%)			29,9	27,5	28,8	26,3	27,0	26,9	33,1	28,1	30,9	29,1	29,1	23,4	35,2	25,9	31,6	34,1	30,6	17,8			

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Stres etmenlerinden en önemlisi olan topraktaki tuz yoğunluğunun bitkilerde büyüme ve gelişmeyi, ürünün niteliğini ve niceliğini olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Bu durum çeşitli ülkelerde özellikle de yarı kurak ve kurak bölgelerde yetiştirilen kültür bitkilerinde görülmektedir (Kalaji and Pietkiewicz 1993). “Tuz stresi” farklı tuzların toprak veya suda bitkinin gelişmesini engelleyebilecek konsantrasyonlarda olması olarak tanımlanır ve çok geniş alanların tarım yapılamaz hale gelmesine neden olur. Bu tuzlar genel olarak sülfatlar, klorürler, boratlar, karbonatlar ve bikarbonatlardır. Ancak doğada en sık rastlanılanı sodyum klorürdür (Deveci ve Tuğcu 2017).

Tuz stresinin süresi ile tuzluluk miktar ve yoğunluğuna bağlı olarak bitkilerde çimlenme, fotosentez, büyüme-gelişme ve hücre bölünmesi gibi pek çok metabolik ve fizyolojik olayın etkilendiği saptanmıştır (Yılmaz vd 2011). Tuz baskısına maruz kalan bitkilerde ilk olarak osmotik basınç artmakta ve buna bağlı olarak toprak suyu potansiyeli azalmaktadır. Ayrıca Na ve/veya Cl iyonlarının yüksek konsantrasyonuna karşılık K ve Ca iyonları eksik göstermektedir. Na iyonlarının aşırı birikimi K iyonlarının alımını; Cl ise NO₃ alımı engelleyerek bitkideki iyon dengesine olumsuz etki yapabilmektedir (Erdal vd 2000).

1800’lü yıllarda keşfedilen poliaminler; spermidin, spermin, kadaverin ve putresin hormon gruplarından oluşmaktadır. Bu hormon grupları organogenesis, embriyogenesis, hücre bölünmesi ve çiçek oluşumu gibi pek çok olayda görev aldığı bilinmektedir. Poliaminler serbest radikallerin uzaklaştırılmasında, membran stabilitesinin korunmasında, protein ve nükleik asit sentezinde, RNaz, proteaz gibi enzimlerin ve fitokrom, etilen gibi çeşitli hormonların biyosentezin de önemli görev aldığı ortaya çıkmıştır (Arslan 2012). Poliaminlerle ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda biyotik ve abiyotik stres mekanizmalarında önemli göreve sahip oldukları tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda farklı bitki gruplarına abiyotik streslerin (tuzluluk, sıcaklık, ağır metal, radyasyon) uygulanması poliamin seviyelerinde yükselmelere neden olduğunu göstermiştir. Fakat poliamin seviyesinde ki bu artışın stres sonrası bitkinin zarar

görmesinden mi yoksa bitkinin strese karşı kendini korumaya almayı istemesi sonucu cevap niteliğinde olup olmadığı konusunda net bir kanıya ulaşılamamıştır. Ancak bitkilerin abiyotik strese cevabında poliaminlerin koruyucu rolü olduğu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Alcazar *et al.* 2010).

DNA metilasyonu erişkin somatik dokularda CG dinükleotit dizilerinde gerçekleşir. Metilasyonda; DNA metiltransferaz enzimi ve S-Adenozil Metiyonin (SAM) görev alarak DNA'nın sitozin bazının 5 numaralı karbonuna metil grubu eklenerek gerçekleşir ve DNA'yı inaktive ederek protein ekspresyonunu engellen bir sistemdir (İzmirli 2013).

Yüksek oranda DNA metillendiğinde gen aktivitesinin azaldığı, metilasyondaki bir azalmanın gen aktivitesini arttırdığını bildirilmiştir. Ayrıca değişken olan metilasyon durumunun bitkiyi strese sokarak veya şok geçirmesine sebep olarak hücre fizyolojisini etkilemesinin genetik varyasyona sebep olduğu ifade edilmiştir (Korkmaz ve Çölgeçen 2013).

Oldukça fazla tür ve çeşit zenginliğine sahip olan lahana grubu sebzeler, dünyada olduğu kadar ülkemizde de geniş alanlarda yetiştirilmekte ve büyük ekonomik öneme sahip türler arasında yer almaktadır. Lahana tür ve çeşitlerinde abiyotik stres koşullarına tolerans ile ilgili çalışmalar yapılmış olsa da bu çalışmalar genellikle tarla, sera yada saksı denemeleri şeklinde yürütülmüştür. Lahana grubu sebze türlerinde tuzluluğa toleranslılık ve hassasiyet konusunda birçok morfolojik değerlendirme ve fizyolojik düzeyde çalışmalar yapılmıştır. Ancak, moleküler düzeyde DNA esaslı genetik ve epigenetik değişimlerin tespiti konusunda çok az bir çalışmaya rastlanılmıştır. Örneğin; Salmon *et al.* (2008)'un yapmış oldukları bir çalışmada, *Brassica oleraceae* türlerinde DNA metilasyonu üzerine MSAP tekniği ile yapmış oldukları tespitlerde yüksek oranda metilasyondan bahsetmişlerdir. Çeşitlere göre değişmekle birlikte DNA metilasyonunu MspI enzimi kullanımında %52-60 oranında ve HpaII enzimi kullanımıyla % 17-27 oranında ifade etmişlerdir.

Yapmış olduğumuz bu tez çalışması ile beyaz baş lahana türünün Yalova-1 isimli ticari değeri olan bir çeşidinde moleküler düzeyde bir tespit yapılmış olup literatürde ki eksikliğe katkı sağlayacak bilgiler elde edilmiştir. Çalışmamızda, sadece metilasyon meydana gelip gelmediğinin tespitine ilave olarak putresin uygulamalarının epigenetik değişim üzerine olumlu bir katkıda bulunup bulunmaması durumu da tespit edilmeye çalışılmıştır.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile NaCl uygulamaları (tuz stresi) ve antagonist olarak düşünülen Putresin uygulamaları sonucunda lahana fidelerinin genomunda DNA metilasyonu yönünden herhangi bir değişiklik meydana gelip gelmeyeceği moleküler düzeyde tespit edilmeye çalışılmıştır. Beyaz baş lahana bitkisine (Yalova-1 çeşidi) farklı NaCl ve Putresin konsantrasyonları uygulanmıştır. Kullanılan RAPD primerlerinden monomorfik bant veren 8 primer CRED-RA analizinde kullanılmıştır. Her doz için polimorfizm değerleri hesaplanmış ve ortalamalar alınmıştır. Çalışmada kullanılan MspI enzimin metilasyonun olduğu yerden kesim yapması ve HpaII enziminin ise metilasyonun gerçekleşmediği zaman kesim yapması bilgisine dayanarak alınan sonuçlar değerlendirilmiştir. Tek başına NaCl uygulamasında en düşük dozda 27,4 en yüksek dozda ise 39,6 oranında metilasyon oluşurken; tek başına putresin uygulamasında en düşük dozda %32,4 en yüksek dozda ise %20,9 metilasyon gözlenmiştir. Diğer taraftan, Putresin uygulamasının özellikle 100 mM ve daha yüksek tuz konsantrasyonlarında tuzun çimlenme oranı üzerine olumsuz etkisini azalttığı belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akgül, H., 2003. Tuzluluk. Ziraat Mühendisliği Dergisi. Sayı 340. Ankara. Erişim: <http://arastirma.tarim.gov.tr/marem/Belgeler/Makaleler/2003/tuzluluk.pdf> (11.05.2017)
- Alcazar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Konez, C., Carrasco, P., Tiburcio, A.F., 2010. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231, 1237-1249.
- Ali, R.M., 2000. Role of putrescine in salt tolerance of *Atropa belladonna* plant. *Plant Science*, 152, 173– 179.
- Al-Lawati, A., Al-Bahry, S., Victor, R., Al-Lawati, A.H., Yaish, M.W., 2016. Salt stress alters DNA methylation levels in alfalfa (*Medicago* spp). *Genet Mol Res*. Feb 26;15(1):15018299.
- Alyea, RA., Moore, NP., LeBaron, MJ., Gollapudi BB., Rasoulpour RJ. 2012. Is the current product safety assessment paradigm protective for epigenetic mechanisms? *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 66: 207-214.
- Anonymous 2018. FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en#data/QC> . Erişim Tarihi: 14.05.2018
- Aras, V., 2017. Sebzeçilik. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü. Erişim: http://www.msmeturkey.com/fileadmin/msme/upload/pdf/3_Alata_SebzeçilikVA.pdf (09.05.2017)
- Arslan E., 2012. Kuraklık Stresine Maruz Kalan Buğdayda (*Triticum aestivum*) Genetik ve Epigenetik Değişiklikler Üzerine Putresinin Etkisinin Moleküler Yöntemler İle Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi)
- Bennetzen, J.L., Schrick, K., Springer, P.S., Brown, W.E., San-Miguel, P., 1994, Active maize genes are unmodified and flanked by diverse classes of modified, highly repetitive DNA, *Genome*, 37: 565-576.
- Bird, A., 2002, DNA methylation patterns and epigenetic memory, *Genes Dev.*, 16: 6-21.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. ve Hasegawa, P.M., 2005. Plant Adaptive Responses to Salinity Stress, *Plant Abiotic Stress*, Blackwell Publishing Ltd., 270p
- Bozcuk, S., 1991. Bazı Kültür Bitkilerinde Tuzluluğun Çimlenme Üzerine Etkisi ve Tuz Tolerans Sınırlarının Saptanması. *Doğa-Biyoloji Dergisi*, 15:144-151.
- Çevik, B., 1986. Toprak Su Koruma Mühendisliği. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 108, Adana
- Çulha Ş., Çakırlar, H., 2011. Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11:021002 (11-34)
- Dajic, Z., 2006. Salt Stress, Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants, ISBN-13 978-14020-4224-9, Dordrecht, The Netherlands, 345p.
- Deveci, M., & Tuğcu, D. (2017). Değişik vejetasyon dönemlerine kadar uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının yaprak lahanası (*Brassica oleracea* var. *acephala*)’da

- meydana getirdiği bazı fizyolojik ve morfolojik değişikliklerin belirlenmesi. Akademik Ziraat Dergisi, 6, 81-88.
- Erdal, İ., Türkmen, Ö., & Yıldız, M. (2000). Tuz stresi altında yetiştirilen hıyar (*Cucumis sativus* L.) fidelerinin gelişimi ve kimi besin maddeleri içeriğindeki değişimler üzerine potasyumlu gübrelemenin etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 10(1), 25-29.
- Eroğlu, İ., 2007. Tuz Stresinin Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Kültür Çeşitlerinde Tohum Çimlenmesi Ve Fide Gelişimi Üzerine Etkileri. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi), İzmir.
- Flores, H.E., Galston, A.W., 1989. Osmotic stress induced polyamine accumulation in cereal leaves. *Plant Physiol.*, 75, 102-109.
- Gill, S.S. and Tuteja, N., 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 51, 26–33.
- Giuffrida, F., Cassaniti, C., Malvuccio, A., Leonardi, C., 2017. Effects of salt stress imposed during two growth phases on cauliflower production and quality. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 97(5):1552–1560
- Gold, M., Hurwitz, J., 1964, The enzymatic methylation of ribonucleic and deoxyribonucleic acid: 5. Purification and properties of the deoxyribonucleic acid-methylating activity of *Escherichia coli*, *J. Biol. Chem.*, 239: 3858-3865.
- Greenway, H. and Munns, R., 1980, Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31: 149-190.
- Gu, M.F., Li, N., Shao, T.Y., Long, X.H., Brestič, M., Shao, H.B., Li, J.B., Mbarki S., 2016. Accumulation capacity of ions in cabbage (*Brassica oleracea* L.) supplied with seawater. *Plant Soil Environ.* 62(7):314–320
- Günay, A., 1984. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Cilt 3. Çağ Matbaası, Ankara.
- Günay, A., 2005. Sebze Yetiştiriciliği (Cilt I), Meta yayınevi, İzmir, 531s.
- İzmirli, M. (2013). Epigenetik Mekanizmalar ve Kanser Tedavisinde Epigenetik Yaklaşımlar. *Van Tıp Dergisi*, 20(1), 48-51.
- Jamil, M., Rehman, S., & Rha, E. S. (2007). Salinity effect on plant growth, PSII photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). *Pak. J. Bot.*, 39(3), 753-760.
- Jan, S.A., Shinwari, Z. K. Rabbani, M.A., 2016. Agro-Morphological And Physiological Responses Of *Brassica rapa* Ecotypes to Salt Stress. *Pak. J. Bot.*, 48(4):1379-1384
- Johnson, S.S., Phillips, R.L., Rines, H.W., 1987, Possible role of heterochromatin in chromosome breakage induced by tissue culture in oats (*Avena sativa* L.), *Genome*, 29: 439-446.
- Kacar, B., Katkat, V., Öztürk, Ş., 2006. Bitki Fizyolojisi (2.Baskı), Nobel Yayın No: 848, Ankara
- Kalaji, M. H., & Pietkiewicz, S. (1993). Salinity effects on plant growth and other physiological processes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 15(2).
- Kar, H., Karaağaç, O., Kibar, B., 2017. Beyaz Baş Lahana Tarımı. Erişim: <http://arastirma.tarim.gov.tr/ktae/Belgeler/brosurler/Beyaz%20Ba%C5%9F%20Lahana%20Tar%C4%B1m%C4%B1.pdf> (09.05.2017)
- Karaçay, B. 2009. Kalıtımın yeni boyutu: Epigenetik. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 505: 32-37.

- Kaya, M. D., Kaya, G., Kolsarıcı, Ö., 2005. Bazı *Brassica* Türlerinin Çimlenme ve Çıkışı Üzerine NaCl Konsantrasyonlarının Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11 (4).
- Knott, J.E, 1966, Handbook for vegetable growers. Hon Willey, New York, London, Sydney 44
- Korkmaz¹, Y., & Çölgeçen., 2013. H. Bitki Doku Kültürü Çalışmalarında Somaklonal Varyasyon.
- Kwiatowsky, J., 1998. Salinity Classification, Mapping and Management in Alberta. Food and Rual Development and Agriculture and Agrifood. Canada
- Larcler, W., 1995. Physiological Plant Ecology. 3rd Ed. pp.1-506. Springer-Verlag, Newyork.
- Li, G., & Quiros, C. F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical and applied genetics*, 103(2-3), 455-461.
- Liu, K., Fu, H., Bei, Q., Luan, S., 2000. Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements. *Plant Physiology*, 124, 1315-1325.
- Lutts, S., Kinet, J.-M. and Bouharmont, J., 1996. Ethylene production in relation to salinity by leaves of rice (*Oryza sativa* L.) tolerance and exogenous putrescine application. *Plant Science*, 116, 15-25.
- Maas, E.V. and Hoffman, G.J., 1977, Crop salt tolerance-current assesment. *J. Irrig. Drain. Div. Am. Soc. Civ. Eng.*, 103: 115-134
- Martienssen, R.A., Colot, V., 2001. DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi. *Science*, 293:1070-1074.
- Munns, R., 2002. Comparative Physiology of Salt and Water Stress, *Plant Cell and Environment*, 25, 239250.
- Noceda, C., Salaj, T., Perez, M., Viejo, M., Canal, M.J., Salaj, J., Rodriguez, R., 2009. DNA demethylation and decrease on free polyamines is associated with the embryogenic capacity of *Pinus nigra* Arn. cell culture. *Trees*, 23 (6), 1285-1293.
- Pavet, V., Quintero, C., Cecchini, N. M., Rosa, A. L., & Alvarez, M. E. (2006). Arabidopsis displays centromeric DNA hypomethylation and cytological alterations of heterochromatin upon attack by *Pseudomonas syringae*. *Molecular plant-microbe interactions*, 19(6), 577-587.
- Phillips, R.L., Kaeppler, S.M., Olhoft, P., 1994, Genetic instability of plant tissue cultures: Breakdown of normal controls, *P. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91: 5222-5226
- Reich, M., Aghajanzadeh, T., J. Helm, Parmar, S., Hawkesford, M. J., De Kok, L. J., 2017. Chloride and sulfate salinity differently affect biomass, mineral nutrient composition and expression of sulfate transport and assimilation genes in *Brassica rapa*. *Plant Soil*, 411:319-332.
- Roychoudhury, A., Basu, S. and Sengupta, D.N., 2011. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of Indica rice differing in their level of salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 168, 317-328.

- Salmon, A., Clotault, J., Jenczewski, E., Chable, V., Manzaneres-Dauleux M. J., 2008. Brassica oleracea displays a high level of DNA methylation polymorphism. *Plant Science*, 174(1); 61-70
- Šamec, D., Pavlović, I., & Salopek-Sondi, B. (2017). White cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata f. alba): botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 16(1), 117-135.
- Sanoubar, R., Cellini, A., Veroni, A. M., Spinelli, F., Masia, A., Antisari, L.V., Orsini, F., Gianquinto G., 2016. Salinity thresholds and genotypic variability of cabbage (*Brassica oleracea* L.) grown under saline stress. *J.Sci.Food Agric.*,96(1):319–330
- Shi, H., Ye, T. and Chan, Z., 2013. Comparative proteomic and physiological analyses reveal the protective effect of exogenous polyamines in the bermuda grass (*Cynodon dactylon*) response to salt and drought stresses. *Journal of Proteome Research*, 12, 4807–4829.
- Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.P., Rai, M., 2006, Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata), *Scientia Horticulturae*, 108 (3) , 233–237.
- Singh, J., Upadhyay, AK, Bahadur, A., Singh, B., Singh, KP ve Rai, M. (2006). Lahanada antioksidan fitokimyasallar (*Brassica oleracea* L. var. Capitata). *Scientia Horticulturae* , 108 (3), 233-237.
- Stewart, D., McDougalla, G., 2012. The Brassicas-An Undervalued Nutritional and Health Beneficial Plant Family, Food&Health Innovation Service (FHIS). Erişim: <http://www.foodhealthinnovation.co.uk> (12.08.2015).
- Sun, X., Xu, L., Wang, Y., Zhu, X.L.X., Kinuthi, K. B., Nie, S., Feng, H., C., Li, L., Liu, 2016. Transcriptome-based gene expression profiling identifies differentially expressed genes critical or salt stress response in radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Cell Rep.* Feb;35(2):329-46.
- Temel A., 2011. Arpa Doku Kültürlerinde Genetik ve Epigenetik Varyasyonlar. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 90s.
- Thiman W.J., Palladino, M.A., 2013. Biyoteknolojiye Giriş, Genler ve Genomlara Giriş (Bölüm 2), (3.Baskıdan Çeviri)(Çeviri Ed. Mücella Tekeoğlu), Palme Yayın No: 776
- Tiwari, K. N., Singh, A., & Mal, P. K. (2003). Effect of drip irrigation on yield of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata) under mulch and non-mulch conditions. *Agricultural Water Management*, 58(1), 19-28.
- Tuğcu, D., 2016. Değişik vejetasyon dönemlerine kadar uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının yaprak lahanada meydana getirdiği fizyolojik, morfolojik ve kimyasal değişikliklerin belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi.
- Vanyushin, B.F., Kirnos M.D., 1988, DNA methylation in plants, *Gene*, 74: 117-121.
- Wang, B.H.,Zhang, M., Fu, R., Qian, X.W., Rong, P., Zhang, Y., Jiang, P., Wang, J.J.,Lu, X.K., Wang, D.L.,Ye, W., Zhu, X., 2016. Epigenetic mechanisms of salt tolerance and heterosisin Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) revealed by methylation-sensitive amplified polymorphism analysis. *Euphytica*. 208:477–491

- Xu, X., Shi, G., Ding, C. and Xu, Y., 2011. Regulation of exogenous spermidine on the reactive oxygen species level and polyamine metabolism in *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb under copper stress. *Plant Growth Regulation*, 63, 251–258.
- Yıldız, M., Terzi, H., Akçalı N., 2017. Bitki Tuz Stresi Toleransında Salisilik Asit ve Poliaminler. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. Erişim: <http://acikerisim.aku.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/11630/2388/722.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (14.05.2017).
- Yılmaz, E., Tuna, A. L., & Bürün, B., 2011. Bitkilerin Tuz Stresi Etkilerine Karşı Gelistirdikleri Tolerans Stratejileri-Tolerance Strategies Developed By Plants To The Effects Of Salt Stress. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 47-66.
- Zapata, P.J., Botella M. Á., Pretel, M.T., Serrano, M., 2007. Responses of ethylene biosynthesis to saline stress in seedlings of eight plant species. *Plant Growth Regul.*, 53:97–106.
- Zapata, P.J., Serrano, M., Pretel, M.T., Amorós, A., Botella M. Á., 2004. Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. *Plant Science* 167: 781–788.
- Zhang, M. 2007. Mechanisms of epigenetic inheritance. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19: 266-272.
- Zhang, M., Hu, C., Zhao, X., Tan, Q., Sun, X., Cao, A., Cui, M& Zhang, Y. (2012). Molybdenum improves antioxidant and osmotic-adjustment ability against salt stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*). *Plant and soil*, 355(1-2), 375-383.

ÖZGEÇMİŞ

24.11.1990 tarihinde ERZURUM/Yakutiye ilçesinde doğdu. İlkokula Kültür kurumu ilköğretim okulunda başlayıp Sabancı ilk ve orta okulunda devam etti. Lise öğrenimini Erzurum Lisesinde tamamladıktan sonra 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Meslek Yüksek Okulu Makine bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümünde lisans eğitimine başladı. 2014 yılında 3,17 agno ile bu bölümden mezun olarak aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Bitkisel Biyoteknoloji bilim dalında yüksek lisansa başladı ve halen aynı bilim dalında eğitimine devam etmektedir.